

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392438 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.10.26

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.03.01

(54) КОМБИНАЦИЯ МАСКИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ К СТЛА4 И PD1/PDL1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 63/155,168

(72) Изобретатель:

(32) 2021.03.01

О'Нил Дженнифер, Эскиосак Угур
(US)

(33) US

(86) PCT/US2022/018378

(74) Представитель:

(87) WO 2022/187272 2022.09.09

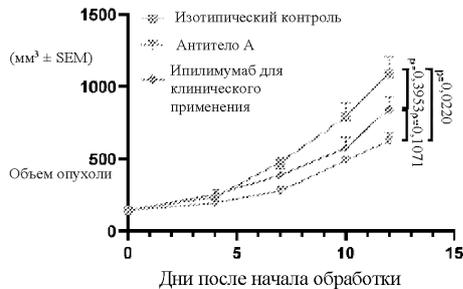
Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

КСИЛИО ДИВЕЛОПМЕНТ, ИНК.
(US)

(57) В настоящем изобретении предусмотрены активируемые маскированные связывающие белки к СТЛА4 (например, антитела, биспецифические антитела и химерные рецепторы) в комбинации со средствами регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибиторами PD-1 или ингибиторами PD-L1) для применения в лечении рака, а также композиции и наборы, содержащие активируемые маскированные связывающие белки к СТЛА4 и средства регуляции сигнального пути PD-1.

Доза, составляющая 0,3 мг/кг



202392438

A1

A1

202392438

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579025EA/081

КОМБИНАЦИЯ МАСКИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ К СТЛА4 И PD1/PDL1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет и преимущество предварительной заявки на патент США № 63/155168, поданной 1 марта 2021 г., содержание которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к активируемым маскированным связывающим белкам к ассоциированному с цитотоксическими Т-лимфоцитами белку 4 (CTLA4) (например, антителам к CTLA4) и способам, связанным с их применением в комбинации со средствами регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибиторами PD-1 или ингибиторами PD-L1).

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Рак представляет собой вторую ведущую причину смерти в Соединенных Штатах Америки, на него приходится больше смертей, чем на следующие пять ведущих причин: хроническое респираторное заболевание, инсульт, несчастные случаи, болезнь Альцгеймера и диабет. Несмотря на то, что удалось достигнуть значительных успехов, особенно в случае видов направленной терапии, в данной области техники сохраняется большой объем работы, которую еще предстоит выполнить. В иммунотерапии и в отрасли данной области, иммуноонкологии, создаются эффективные и перспективные терапевтические возможности для лечения злокачественных новообразований. В частности, в настоящее время признано, что одной из характерных особенностей рака является уклонение от распознавания иммунной системой, и ценой значительных усилий были идентифицированы мишени и разработаны виды терапии, направленные на данные мишени, обеспечивающие возобновление активности иммунной системы для распознавания и лечения рака. Антитело к ассоциированному с цитотоксическими Т-лимфоцитами белку 4 (CTLA4), ипилимумаб, привело к долгосрочной выживаемости пациентов, страдающих злокачественной меланомой III/IV стадии. Ипилимумаб является антагонистом контрольных точек иммунного ответа, который прерывает подавление Т-клеток, блокируя CTLA4, и может привести к истощению Т-регуляторных клеток (Treg). [Korman, A., et al., 2005. Tumor immunotherapy: preclinical and clinical activity of anti-CTLA4 antibodies. *Current Opinion in Investigational Drugs* 6:582-591; Quezada et al., *J. Exp. Med.*, 206(8):1717-1725, 2009; Selby et al. *Cancer Immunol Res.*, 1(1):32-42, 2013]. К сожалению, ипилимумаб вызывает генерализованную (не опухолеспецифическую) активацию зависимых от Т-клеток иммунных ответов, что приводит к иммунозависимым неблагоприятным эффектам, которые могут быть опасными для жизни и часто ограничивающими дозу и продолжительность лечения (Weber, J.S., et al., 2008. Phase I/II study of ipilimumab for patients with metastatic melanoma. *Journal of Clinical Oncology*

26:5950-5956). К ним относятся энтероколит, дерматит, гипофизит, увеит, гепатит, нефрит и смерть. Энтероколит является наиболее часто встречающимся серьезным токсическим явлением (поражает примерно 20% пациентов). Серьезные риски безопасности, связанные с иммуноопосредованными нежелательными реакциями, побудили FDA одобрить ипилимумаб с Программой по оценке и снижению рисков (REMS). Недавно было показано, что совместное введение ипилимумаба и второго модулятора контрольных точек иммунного ответа, нацеливающегося на PD1 (например, ниволумаба), значительно повышает эффективность иммунотерапии меланомы по сравнению с монотерапией ипилимумабом. Это улучшение, однако, было ассоциировано с увеличением частоты неблагоприятных эффектов 3/4 степени, которые возникали у более 50% пациентов, получавших комбинированное лечение (Wolchok, J.D., et al. 2013. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. N Engl J Med).

Данные наблюдения иллюстрируют потребность в разработке терапевтических средств на основе белка к CTLA4, которые будут эффективно нацеливаться на опухоли, без побочных эффектов, ассоциированных с активацией иммунной системы. В данном документе предусмотрены связывающие белки к CTLA, композиции на их основе и способы их применения для удовлетворения данной потребности.

Все ссылки, цитируемые в данном документе, включая заявки на патент, патентные публикации и научную литературу, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, как если бы каждая отдельная ссылка была конкретно и отдельно указана для включения посредством ссылки.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном документе предусмотрены способы применения активируемых маскированных связывающих белков к ассоциированному с цитотоксическими Т-лимфоцитами белком 4 (CTLA4) в комбинации со средствами регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибиторами PD-1 или PD-L1) и композиции, содержащие их.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективной дозы: (а) маскированного антитела к CTLA4, содержащего маскирующий пептид, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, и расщепляемый пептидный линкер, и (b) ингибитора PD-1 или PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит расщепляемый пептидный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508.

В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептидный линкер содержит спейсер, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, соединенный с аминоконцом расщепляемого пептидного линкера, и спейсер, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, соединенный с карбоксиконцом расщепляемого пептидного линкера.

В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 454-462.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231 и 444-453.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 представляет собой гуманизированное антитело, химерное антитело, человеческое антитело или их антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (vH), содержащую NYFMN, CDR2 vH, содержащую RVDPEQGRADYAEKFKK, CDR3 vH, содержащую RAMDNYGFAY; CDR1 вариабельной области легкой цепи (vL), содержащую SANSALSYMY, CDR2 vL, содержащую GTSNLAS, CDR3 vL, содержащую HHWSNTQWT.

В некоторых вариантах осуществления эффективная доза маскированного антитела к CTLA4 составляет от приблизительно 0,1 до 10 мг/кг, 0,1-15 мг/кг, 0,1-20 мг/кг, 0,3-10 мг/кг, 0,3-15 мг/кг, 0,3-20 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления эффективная доза маскированного антитела к CTLA4 выбрана из 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг и 20 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления эффективная доза маскированного антитела к CTLA4 составляет 1-100 мг, 10-100 мг, 20-100 мг, 30-100, 50-100, 4-100 мг, 4-200 мг, 4-300 мг, 4-400 мг, 4-500 мг, 4-600 мг, 4-700 мг, 4-800 мг, 4-900 мг, 10-100 мг, 10-200 мг, 10-300 мг, 10-400 мг, 10-500 мг, 10-600 мг, 10-700 мг, 10-800 мг, 10-900 мг, 10-1000 мг, 100-300 мг, 300-500 мг, 500-700 мг, 700-900 мг или 800-1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 вводится в низкой дозе. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 вводится в дозе, составляющей 0,01-1 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 вводится в дозе, оставляющей 0,01-3 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 вводится в дозе, выбранной из 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,05 мг/кг, 0,06 мг/кг, 0,07 мг/кг, 0,08 мг/кг, 0,09 мг/кг, 0,1 мг/кг, 0,2 мг/кг, 0,3 мг/кг, 0,4 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,6 мг/кг, 0,7 мг/кг, 0,8 мг/кг, 0,9 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотные замены S239D или I332E, или и то, и другое, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит vH, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности под SEQ ID NO: 324.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 содержит vL, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности под SEQ ID NO: 322.

В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 является афукозилированным или фукозодефицитным.

В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы со средством. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, средство, повреждающее ДНК, или ингибитор синтеза ДНК. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой майтанзиноид, ауристин, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 или PD-L1 представляет собой антитело.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 представляет собой антитело к PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 выбрано из ниволумаба, пембролизумаба, цемиплимаба, достарлимаба.

В некоторых вариантах осуществления эффективная доза антитела к PD-1 составляет 1-10 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления эффективная доза антитела к PD-1 составляет 10 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 вводится в эффективной дозе, составляющей 4-400 мг, 4-500 мг, 4-600 мг, 4-700 мг, 4-800 мг, 4-900 мг или 4-1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 вводится в эффективной дозе, составляющей 200 мг.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 вводится в эффективной дозе, составляющей 1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 вводится еженедельно, один раз в две недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель или ежемесячно.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 вводится один раз в 3 недели.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1/PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 выбрано из атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 вводится в эффективной дозе, составляющей от 200 до 2000 мг.

В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-L1 вводится еженедельно, один раз в две недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель или ежемесячно.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены для внутривенного введения.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены совместно.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены по-отдельности.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD1 или PD-L1 вводят одновременно с маскированным антителом к CTLA4.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, миелому, рак молочной железы, нейробластому, рак легкого, рак яичника, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак кожи, рак яичка или плоскоклеточную карциному кожи (CSCC).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мелкоклеточную карциному легкого (SCLC) или немелкоклеточную карциному легкого (NSCLC).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мезотелиому плевры, рак почки, рак печени или колоректальный рак.

В данном документе предусмотрено маскированное антитело, содержащее антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь, и маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом или карбоксиконцом первой цепи или второй цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой легкую цепь, и вторая цепь представляет собой тяжелую цепь.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат две первые цепи и две вторые цепи. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой или содержит вариабельный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой или содержит вариабельный домен тяжелой цепи. В некоторых из таких вариантов осуществления антигенсвязывающий фрагмент представляет собой фрагмент dAb, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv или (Fab')₂. В некоторых из таких вариантов осуществления аминоконец или карбоксиконец маскирующего пептида соединен с линкером, содержащим расщепляемый пептид. В некоторых из таких вариантов осуществления линкер содержит расщепляемый пептид, содержащий спейсерный линкер и расщепляемый пептид. В некоторых из таких вариантов

осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA).

В некоторых из таких вариантов осуществления маскированное антитело содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий пептид; б) расщепляемый пептид и с) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают CTLA4. В некоторых из таких вариантов осуществления маскированное антитело содержит спейсерный линкер между маскирующим пептидом и расщепляемым пептидом, и маскированное антитело содержит спейсерный линкер между расщепляемым пептидом и антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которые связываются с CTLA4.

В некоторых из таких вариантов осуществления антитело представляет собой мышиное антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело, химерное антитело или человеческое антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых из таких вариантов осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S298A, E333A и K334A; S239D и I332E; S239D, A330L и I332E; P247I и A339D или A339Q; D280H, K290S с S298D или S298V или без них; F243L, R292P и Y300L; F243L, R292P, Y300L и P396L; F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L; G236A, S239D и I332E; K326A и E333A; K326W и E333S, или K290E или K290N, S298G, T299A и/или K326E; где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat.

В некоторых из таких вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402 или 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403 или 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404 или 410, и/или где переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405 или 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406 или 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407 или 413. В некоторых из таких вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий

В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид представляет собой субстрат для протеазы, который локализуется вместе с ней в области клетки или ткани, в которых экспрессируется CTLA4. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP1, PAPP2, PCSK1, NAPS1, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1, и TPSG1.

В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPS1, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3. В некоторых из таких вариантов осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы со средством. В некоторых из таких вариантов осуществления средство представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, средство, повреждающее ДНК, или ингибитор синтеза ДНК. В некоторых из таких вариантов осуществления средство представляет собой майтанзиноид, ауристин, димер пирролобензодиазепаина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепаина или производное экзатекана Dxd.

В некоторых из таких вариантов осуществления маскированное антитело, предусмотренное в данном документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, составляющий от приблизительно 20 до приблизительно 10000. В дополнительном варианте осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 20 до приблизительно 1000. В дополнительном варианте

осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 80 до приблизительно 100.

В некоторых из таких вариантов осуществления маскированное антитело содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421, и содержит аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431.

В данном документе также предусмотрено маскированное биспецифическое антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь первой пары, которая специфически связывается с CTLA4, легкую цепь и тяжелую цепь второй пары, которая специфически связывается с антигеном, и маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен посредством линкера, содержащего расщепляемый пептид, с аминоконцом или карбоксиконцом легкой цепи или тяжелой цепи первой пары. В некоторых вариантах осуществления аминоконец или карбоксиконец маскирующего пептида соединен с линкером, содержащим расщепляемый пептид. В некоторых из таких вариантов осуществления линкер содержит расщепляемый пептид, содержащий спейсерный линкер и расщепляемый пептид.

В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA).

В некоторых из таких вариантов осуществления легкая цепь или тяжелая цепь первой пары содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий пептид; б) расщепляемый пептид и в) легкую цепь или тяжелую цепь. В некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит спейсерный линкер между маскирующим пептидом и расщепляемым пептидом, и первая пара содержит спейсерный линкер между расщепляемым пептидом и легкой цепью или тяжелой цепью.

В некоторых из таких вариантов осуществления биспецифическое антитело представляет собой мышинное антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления биспецифическое антитело представляет собой гуманизированное антитело, химерное антитело или человеческое антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления биспецифическое антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых из таких вариантов осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены, такие как S298A, E333A и K334A; S239D и I332E; S239D, A330L и I332E; P247I и A339D или

A339Q; D280H, K290S с S298D или S298V или без них; F243L, R292P и Y300L; F243L, R292P, Y300L и P396L; F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L; G236A, S239D и I332E; K326A и E333A; K326W и E333S, или K290E или K290N, S298G, T299A и/или K326E; где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat.

В некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402 или 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403 или 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404 или 410, и/или где переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405 или 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406 или 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407 или 413.

В некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404, и/или где переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407. В некоторых вариантах осуществления первая пара содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404, и переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407.

В некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 432, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 433, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 444, и/или где переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 435, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 436,

некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 380. В некоторых из таких вариантов осуществления первая пара содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид представляет собой субстрат для протеазы, который локализуется вместе с ней в области клетки или ткани, в которых экспрессируется CTLA4. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSB, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPSA, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3. В некоторых из таких вариантов осуществления биспецифическое антитело конъюгировано со средством. В некоторых из таких вариантов осуществления средство представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, средство, повреждающее ДНК, или ингибитор синтеза ДНК. В некоторых из таких вариантов осуществления средство представляет собой майтанзиноид, ауристати́н, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

В некоторых из таких вариантов осуществления каждая из первой пары и второй пары маскированного биспецифического антитела, предусмотренного в данном документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, который может быть одинаковым или отличаться друг от друга. В некоторых вариантах осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 20 до приблизительно 10000. В дополнительном варианте осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 20 до приблизительно 1000. В дополнительном варианте осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 80 до приблизительно 100.

В данном документе также предусмотрен маскированный химерный рецептор, содержащий лиганд-связывающий домен, содержащий первую цепь и вторую цепь, который связывается с CTLA4; маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальный домен, где маскирующий пептид соединен посредством линкера, содержащего расщепляемый пептид, с аминоконцом или карбоксиконцом первой цепи или второй цепи лиганд-связывающего домена.

В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления аминоконец или карбоксиконец маскирующего пептида соединен с линкером, содержащим расщепляемый пептид. В некоторых из таких вариантов осуществления линкер содержит расщепляемый пептид, содержащий спейсерный линкер и расщепляемый пептид. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь или вторая цепь лиганд-связывающего домена содержит в направлении от N- к C-концу или от C- к N-концу: а) маскирующий пептид; б) расщепляемый пептид и с) первую цепь или вторую цепь. В некоторых из таких вариантов осуществления лиганд-связывающий домен содержит спейсерный линкер между маскирующим пептидом и расщепляемым пептидом, и лиганд-связывающий домен содержит спейсерный линкер между расщепляемым пептидом и первой цепью или второй цепью.

содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 410, и/или вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 413. В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 410, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 413.

В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и/или вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443. В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443.

В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 321, и вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 323. В некоторых из таких вариантов осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид представляет собой субстрат для протеазы, который локализуется вместе с ней в области клетки или ткани, в которых экспрессируется CTLA4.

В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRI, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPS, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1 и TPSG1. В некоторых из таких вариантов осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPS, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3.

В некоторых из таких вариантов осуществления маскированный химерный рецептор, предусмотренный в данном документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, составляющий от приблизительно 20 до приблизительно 10000. В дополнительном варианте осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 20 до приблизительно 1000. В дополнительном варианте осуществления оптимальный коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 80 до приблизительно 100.

Предусматривается также нуклеиновая кислота, кодирующая маскированные антитела, маскированные биспецифические антитела или маскированный химерный рецептор в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления. Предусматривается также вектор, содержащий нуклеиновую кислоту в соответствии с вышеупомянутыми вариантами осуществления. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор экспрессии. Предусматривается также клетка-хозяин, содержащая вышеупомянутые варианты осуществления нуклеиновой кислоты.

Предусматривается также способ получения маскированного антитела, маскированного биспецифического антитела или маскированного химерного рецептора, включающий культивирование вышеупомянутых клеток-хозяев в условиях, в которых продуцируется маскированное антитело, маскированное биспецифическое антитело или маскированный химерный рецептор. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин характеризуется наличием нокаута гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы (Fut8). В некоторых вариантах осуществления, где клетка-хозяин характеризуется сверхэкспрессией β -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnT-III). В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин дополнительно характеризуется сверхэкспрессией μ -маннозидазы II (ManII) в комплексе Гольджи. Некоторые из таких вариантов осуществления дополнительно включают извлечение маскированного антитела, маскированного биспецифического антитела или маскированного химерного рецептора, продуцируемого клеткой-хозяином. В некоторых вариантах осуществления маскированное биспецифическое антитело или маскированный химерный рецептор получены вышеупомянутыми способами.

Предусматривается также композиция, содержащая маскированное антитело, маскированное биспецифическое антитело или маскированный химерный рецептор в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления. Некоторые варианты осуществления охватывают композицию, содержащую маскированное антитело, маскированное биспецифическое антитело или маскированный химерный рецептор в соответствии с вышеупомянутыми вариантами осуществления. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

Предусматривается также набор, содержащий маскированное антитело, маскированное биспецифическое антитело, маскированный химерный рецептор или композицию в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления.

Предусматривается также способ лечения или профилактики неопластического заболевания у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества маскированного антитела, маскированного биспецифического антитела, маскированного химерного рецептора или композиции в соответствии с любым из вышеупомянутых вариантов осуществления. В одном варианте осуществления неопластическое заболевание представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, рак молочной железы, нейробластому, рак легкого, рак яичника, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак кожи или рак яичка.

Следует понимать, что одно, некоторые или все свойства различных вариантов осуществления, описанных в данном документе, могут быть объединены для формирования других вариантов осуществления настоящего изобретения. Эти и другие аспекты настоящего изобретения станут очевидными специалисту в данной области

техники. Эти и другие варианты осуществления настоящего изобретения дополнительно описаны в следующем подробном описании.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **фиг. 1А и 1В** показаны иллюстративные результаты изменения объема опухоли у мышей после введения каждого из изотипического контроля, антитела А и ипилимумаба в дозе, составляющей 0,3 мг/кг (фиг. 1А) и 1 мг/кг (фиг. 1В).

На **фиг. 2А и 2В** показаны иллюстративные результаты изменения объема опухоли (фиг. 2А) и изменения процента веса тела (фиг. 2В) у мышей после введения изотипического контроля, 0,3 мг/кг антитела А по отдельности, 10 мг/кг антитела к PD-1 по отдельности и 0,3 мг/кг антитела А в комбинации с 10 мг/кг антитела к PD-1.

На **фиг. 3А и 3В** показаны иллюстративные результаты изменения объема опухоли (фиг. 3А) и изменения процента веса тела (фиг. 3В) у мышей после введения изотипического контроля, 1 мг/кг антитела А по отдельности, 10 мг/кг антитела к PD-1 по отдельности и 1 мг/кг антитела А в комбинации с 10 мг/кг антитела к PD-1.

На **фиг. 4А - 4D** показаны иллюстративные результаты процентной выживаемости у мышей после введения антитела А, ипилимумаба и антитела А в комбинации с антителом к PD-1. Каждый из изотипического контроля, антитела А и ипилимумаба в дозе, составляющей 0,3 мг/кг (фиг. 4А) или 1 мг/кг (фиг. 4В); изотипический контроль, 0,3 мг/кг антитела А по отдельности, 10 мг/кг антитела к PD-1 по отдельности и 0,3 мг/кг антитела А в комбинации с 10 мг/кг антитела к PD-1 (фиг. 4С); изотипический контроль, 1 мг/кг антитела А по отдельности, 10 мг/кг антитела к PD-1 по отдельности и 1 мг/кг антитела А в комбинации с 10 мг/кг антитела к PD-1 (фиг. 4D).

На **фиг. 5А - 5С** показаны иллюстративные результаты активации иммунной системы после введения изотипического контроля, 1 мг/кг антитела А по отдельности, 10 мг/кг антитела к PD-1 по отдельности и 1 мг/кг антитела А в комбинации с 10 мг/кг антитела к PD-1. Измеряли соотношение CD8/Treg в опухоли (фиг. 5А), CD4+ICOS+ в дренирующих опухоль лимфатических узлах (TDLN) (фиг. 5В) и CD4+Ki-67+ в периферической крови (фиг. 5С).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Терапевтические средства, такие как ингибиторы контрольных точек, демонстрируют беспрецедентный ответ при раке, но их применение ограничено иммуноопосредованными неблагоприятными явлениями (irAE) и другими видами токсичности (например, гипофизитом). В данном документе предусмотрены терапевтические средства на основе белка, которые специфически связывают CTLA4 после активации протеазой в целевом сайте, например, в микроокружении опухоли, для обеспечения повышенных показателей устойчивого ответа и значительно улучшенных профилей безопасности. Предусмотренные в данном документе терапевтические средства на основе белка сконструированы так, что они точно нацеливают фармакологическую активность к микроокружению опухоли посредством использования одной из характерных особенностей рака, высоких локальных концентраций активной протеазы.

Данное свойство микроокружения опухоли применяется для превращения системно инертной молекулы в локально активное лекарственное средство. Активация лекарственного средства в микроокружении опухоли значительно снижает системные виды токсичности, которые могут быть ассоциированы с лекарственными средствами, которые вводятся субъекту в активной форме.

Определения.

Перед подробным описанием настоящего изобретения следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными композициями или биологическими системами, которые, безусловно, могут варьировать. Также следует понимать, что терминология, применяемая в данном документе, предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не подразумевается как ограничивающая. Применяемые в данном описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают соответствующие формы множественного числа, если в содержании четко не указано иное. Таким образом, например, упоминание «антитела» необязательно включает комбинацию двух или более таких антител и т. п.

Применяемый в данном документе термин «приблизительно» относится к обычному диапазону погрешностей для соответствующего значения, хорошо известного специалисту в данной области техники. Ссылка на «приблизительно» по отношению к значению или параметру в данном документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены непосредственно на данное значение или параметр.

Понятно, что аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в данном документе, включают аспекты и варианты осуществления, в которых используются выражения «содержащие», «состоящие из» и «по сути состоящие из».

Термин «антитело» включает поликлональные антитела, моноклональные антитела (включая полноразмерные антитела, которые содержат Fc-область иммуноглобулина), композиции на основе антител с полиэпитопной специфичностью, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела, диатела и одноцепочечные молекулы, а также фрагменты антител (например, Fab, F(ab')₂ и Fv). Термин «иммуноглобулин» (Ig) применяется взаимозаменяемо с термином «антитело» в данном документе.

Основной 4-цепочечный блок антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Антитело IgM состоит из 5 основных гетеротетрамерных блоков наряду с дополнительным полипептидом, называемым J-цепью, и содержит 10 антигенсвязывающих сайтов, тогда как антитела IgA содержат от 2 до 5 основных 4-цепочечных блоков, которые могут полимеризоваться с образованием поливалентных агрегатов, в комбинации с J-цепью. В случае IgG молекулярная масса 4-цепочечного блока обычно составляет приблизительно 150000 дальтон. Каждая L-цепь соединена с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи соединены друг с другом одной или более дисульфидными связями в зависимости от изотипа H-цепи. Каждая H- и L-цепь также содержит равномерно расположенные внутрицепочечные

дисульфидные мостики. Каждая H-цепь содержит на N-конце переменный домен (VH), за которым следуют три константных домена (CH) для каждой из α - и γ -цепей и четыре CH-домена для изотипов μ и ϵ . Каждая L-цепь содержит на N-конце переменный домен (VL), за которым следует константный домен на его другом конце. VL выравнивается с VH, и CL выравнивается с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Полагают, что конкретные аминокислотные остатки образуют область стыка между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Парное соединение VH и VL приводит к образованию одного антигенсвязывающего сайта. Структуру и свойства разных классов антител см., например, в *Basic and Clinical Immunology*, 8-е издание, Daniel P. Sties, Abba I. Terr и Tristram G. Parslow (ред.), Appleton & Lange, Норуолк, Коннектикут, 1994, стр. 71 и глава 6.

L-цепь от любого вида позвоночных может относиться к одному из двух четко различающихся типов, называемых каппа и лямбда, на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH) иммуноглобулины могут относиться к разным классам или изотипам. Существуют пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, содержащие тяжелые цепи, обозначенные как α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Классы γ и α дополнительно подразделяются на подклассы на основании относительно незначительных различий в последовательности CH и функции, например, у людей экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Антитела IgG1 могут существовать в виде множества полиморфных вариантов, называемых аллотипами (обзор в Jefferis and Lefranc 2009. *mAbs Vol 1 Issue 4 1-7*), любые из которых являются подходящими для применения в настоящем изобретении. Часто встречающиеся аллотипические варианты в человеческих популяциях представляют собой таковые,

«Выделенное» антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано, отделено и/или извлечено из компонента среды его продуцирования (например, естественным путем или с применением рекомбинации). В некоторых вариантах осуществления выделенный полипептид не находится в ассоциации со всеми другими компонентами из среды его продуцирования. Примесные компоненты среды его продуцирования, например, таковые, которые образуются из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, создают помехи при научно-исследовательских, диагностических или терапевтических вариантах применения антитела и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В некоторых вариантах осуществления полипептид подвергают очистке (1) до более чем 95% по весу антитела, что определяют, например, с помощью метода Лоури, и в некоторых вариантах осуществления до более чем 99% по весу; (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности посредством применения секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности посредством

SDS-PAGE в невосстанавливающих или восстанавливающих условиях с применением окраски кумасси синим или серебром. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, так как по меньшей мере один компонент естественной среды антитела не будет присутствовать. Однако, как правило, выделенный полипептид или антитело получают посредством по меньшей мере одной стадии очистки.

Применяемый в данном документе термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризаций, амидирований), которые могут присутствовать в незначительных количествах. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела характеризуются С-концевым отщеплением в тяжелой цепи и/или легкой цепи. Например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных остатков отщепляются на С-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления отщепление С-конца обеспечивает удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела характеризуются N-концевым отщеплением в тяжелой цепи и/или легкой цепи. Например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных остатков отщепляются на N-конце тяжелой цепи и/или легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления усеченные формы моноклональных антител можно получать посредством методик на основе рекомбинации. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела являются высокоспецифичными, будучи направленными на один антигенный сайт. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела являются высокоспецифичными, будучи направленными на несколько антигенных сайтов (такие как биспецифическое антитело или полиспецифическое антитело). Определение «моноклональный» указывает на характеристику антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует толковать как требующее получения антитела посредством какого-либо конкретного способа. Например, моноклональные антитела, подлежащие применению в соответствии с настоящим изобретением, можно получать посредством ряда методик, включающих, например, гибридомный способ, способы на основе рекомбинантной ДНК, технологии фагового дисплея и технологии получения антител человека или антител, подобных им, у животных, которые содержат части или все локусы иммуноглобулина человека или гены, кодирующие последовательности иммуноглобулина человека.

Термин «голое антитело» относится к антителу, которое не конъюгировано с цитотоксической функциональной единицей или радиоактивной меткой.

Термин «исходное антитело» относится к антителу перед модификацией, такой как маскирование антитела с помощью маскирующего пептида.

Термин «маскированное антитело» относится к антителу, которое было модифицировано таким образом, чтобы оно содержало маскирующий пептид и, в

некоторых вариантах осуществления, другие компоненты, которые обеспечивают активацию или удаление маскирующего пептида в предпочтительной среде.

«Конъюгат антитело-лекарственное средство» или «ADC» относится к антителу, конъюгированному с одной или более гетерологичными молекулами, включая без ограничения цитотоксическое средство.

Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» или «целое антитело» применяются взаимозаменяемо и относятся к антителу в его по существу интактной форме в отличие от фрагмента антитела. В частности, целые антитела включают таковые с тяжелой и легкой цепями, включающими Fc-область. Константные домены могут представлять собой константные домены с нативной последовательностью (например, константные домены человека с нативной последовательностью) или варианты их аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может иметь одну или более эффекторных функций.

«Фрагмент антитела» содержит часть интактного антитела, антигенсвязывающую и/или переменную область интактного антитела. Примеры антигенсвязывающих фрагментов антител включают доменные антитела (dAb), 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 одноцепочечных антител и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. Антитела с одной тяжелой цепью или антитела с одной легкой цепью могут быть сконструированы или, в случае тяжелой цепи, могут быть выделены от представителей семейства верблюдовых, акулы, из библиотек или от мышей, сконструированных для продуцирования молекул с одной тяжелой цепью.

Расщепление антител папаином обеспечивало получение двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых «Fab-фрагментами», и остаточного «Fc-фрагмента», где обозначение отражает способность легко кристаллизоваться. Фрагмент Fab состоит из всей L-цепи наряду с доменом переменной области H-цепи (VH) и первого константного домена одной тяжелой цепи (CH1). Каждый фрагмент Fab является моновалентным с точки зрения связывания антигена, т. е. он содержит один антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином приводит к получению одного крупного фрагмента F(ab')₂, который грубо соответствует двум фрагментам Fab, соединенным дисульфидными связями, характеризующимся разной антигенсвязывающей активностью, и еще способен к поперечной сшивке с антигеном. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab наличием нескольких дополнительных остатков на карбоксиконце домена CH1, включающих один или более остатков цистеина из шарнирной области антитела. В данном документе Fab'-SH представляет собой обозначение для Fab', где остаток(остатки) цистеина константных доменов несут свободную тиольную группу. Изначально фрагменты F(ab')₂ антител получали в виде пар фрагментов Fab', которые содержат остатки цистеина шарнирной области между ними. Также известны другие химические сочетания фрагментов антител.

Fc-фрагмент содержит карбоксиконцевые части обеих H-цепей, скрепленные вместе посредством дисульфидных связей. Эффекторные функции антител определяются последовательностями и гликаном в Fc-области, области, которая также распознается Fc-рецепторами (FcR), встречающимися на определенных типах клеток.

«Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный антигенраспознающий и антигенсвязывающий сайт. Этот фрагмент состоит из димера доменов варибельной области одной тяжелой и одной легкой цепи в тесной нековалентной ассоциации. В результате сворачивания этих двух доменов образуются шесть гиперварибельных петель (по 3 петли каждая из цепей H и L), которые вносят аминокислотные остатки для связывания антигена и придают антителу специфичность связывания антигена. Однако даже один варибельный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных для антигена) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем полный связывающий сайт.

«Одноцепочечный Fv», также сокращаемый как «sFv» или «scFv», представляет собой фрагмент антитела, который содержит VH- и VL-домены антитела, соединенные в одну полипептидную цепь. В некоторых вариантах осуществления sFv-полипептид дополнительно содержит полипептидный линкер между VH- и VL-доменами, который позволяет sFv формировать желаемую структуру для связывания антигена. Обзор sFv см. в Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

«Функциональные фрагменты» антител по настоящему изобретению содержат часть интактного антитела, обычно включающую антигенсвязывающую или варибельную область интактного антитела или Fv-область антитела, которая сохраняет или обладает модифицированной способностью связывания FcR. Примеры фрагментов антител включают линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Моноклональные антитела в данном документе конкретно включают «химерные» антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных от конкретного вида, или принадлежит к конкретному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть цепи(цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных от другого вида, или относится к другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител до тех пор, пока они проявляют желаемую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Химерные антитела, представляющие интерес в данном документе, включают антитела PRIMATIZED®, в которых антигенсвязывающая область антитела получена из антитела, полученного, например, путем иммунизации обезьян макак представляющим интерес антигеном. Применяемое в

данном документе «гуманизированное антитело» применяется как подгруппа «химерных антител».

«Гуманизированные» формы отличных от человеческих (например, мышинных) антител представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, отличного от человеческого. В одном варианте осуществления гуманизированное антитело представляет собой человеческий иммуноглобулин (реципиентное антитело), в котором остатки HVR реципиента заменяют остатками из HVR вида, отличного от человека (донорное антитело), такого как мышь, крыса, кролик или примат, отличный от человека, обладающими желаемой специфичностью, аффинностью и способностью. В некоторых случаях FR-остатки человеческого иммуноглобулина заменяют соответствующими остатками, отличными от человеческих. Более того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые не обнаружены ни в реципиентном антителе, ни в донорном антителе. Эти модификации могут быть сделаны для дополнительного улучшения функциональных характеристик антитела, таких как аффинность связывания. В целом, гуманизированное антитело будет содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все гиперпеременные петли соответствуют петлям последовательности иммуноглобулина, отличной от человеческой, и все или по существу все FR-области представляют собой области последовательности иммуноглобулина человека, хотя FR-области могут включать одну или более замен отдельных FR-остатков, которые улучшают функциональные характеристики антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т. д. В некоторых вариантах осуществления число таких аминокислотных замен в FR составляет не более 6 в H-цепи и не более 3 в L-цепи. Гуманизированное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, как правило, иммуноглобулина человека. Для получения дополнительной информации 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, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurlle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994) и патенты США №№ 6982321 и 7087409. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела направлены на один антигенный сайт. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела направлены на несколько антигенных сайтов. Альтернативный способ гуманизации описан в патенте США № 7981843 и в публикации заявки на патент США № 2006/0134098.

«Переменная область» или «переменный домен» антитела относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Соответственно, применяемые в данном документе термины «переменная область» и «переменный домен» могут применяться взаимозаменяемо. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут обозначаться как «VH» и «VL» соответственно. Эти домены обычно

являются наиболее переменными частями антитела (по сравнению с другими антителами того же класса) и содержат антигенсвязывающие сайты. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи можно определить с применением любого доступного способа или схемы нумерации, и они могут включать переменные домены, как описано, например, в WO 2018/207701, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления в переменном домене тяжелой цепи и/или легкой цепи может отсутствовать один или более аминокислотных остатков на карбоксильном конце переменного домена (т. е. на карбоксильном конце четвертого каркасного домена), которые в противном случае могут быть включены в описания переменного домена на основе определенных схем нумерации. В некоторых вариантах осуществления переменный домен тяжелой цепи и/или легкой цепи может включать один или более аминокислотных остатков на карбоксильном конце переменного домена (т. е. на карбоксильном конце четвертого каркасного домена), которые в противном случае могут быть не включены в описания переменного домена на основе определенных схем нумерации.

Термин «гиперпеременная область», «HVR» или «HV» при применении в данном документе относится к областям переменного домена антитела, которые являются гиперпеременными по последовательности и/или образуют структурно определенные петли. Обычно антитела содержат шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В нативных антителах H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие из шести HVR, и, в частности, считается, что H3 играет уникальную роль в придании антителам тонкой специфичности. См., например, Xu et al. *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu в *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)). Действительно, встречающиеся в природе антитела представителей семейства верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993) и Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996).

Применяется ряд описаний HVR, которые охватываются в данный документ. HVR, которые представляют собой определяющие комплементарность области (CDR) по Kabat, основаны на переменной последовательности и являются наиболее часто применяемыми (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Вместо этого HVR по Chothia относятся к расположению структурных петель (Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Определение «контактных» HVR основано на анализе имеющихся сложных кристаллических структур. Остатки каждой из этих HVR указаны ниже.

<u>Петля</u>	<u>Kabat</u>	<u>Chothia</u>	<u>Контактные</u>
L1	L24-L34	L26-L34	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L46-L55
L3	L89-L97	L91-L96	L89-L96

H1	H31-H35B	H26-H32	H30-H35B (нумерация по Kabat)
H1	H31-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация по Chothia)
H2	H50-H65	H53-H56	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H93-H101

Если не указано иное, остатки вариабельного домена (остатки HVR и остатки каркасной области) пронумерованы в соответствии с Kabat et al., выше.

«Каркасные» или «FR»-остатки представляют собой те остатки вариабельного домена, которые не являются остатками HVR, как определено в данном документе.

Выражение «нумерация остатков вариабельного домена по Kabat» или «нумерация аминокислотных положений по Kabat» и их варианты относятся к системе нумерации, применяемой для вариабельных доменов тяжелой цепи или вариабельных доменов легкой цепи при обобщении данных об антителах в Kabat et al., выше. При применении данной системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество или дополнительные аминокислоты, соответствующие укорочению или вставке в FR или HVR вариабельного домена. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 из H2 и вставленные остатки (например, остатки 82a, 82b и 82c и т. д. в соответствии с Kabat) после остатка 82 из FR тяжелой цепи. Нумерацию остатков по Kabat можно определить для данного антитела путем выравнивания по областям гомологии последовательности антитела со «стандартной» последовательностью, пронумерованной по Kabat.

«Акцепторная каркасная область человека» для целей данного документа представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркаса VL или VH, полученного из каркаса иммуноглобулина человека или консенсусного каркаса человека. Акцепторная каркасная область человека, «полученная из» каркаса иммуноглобулина человека или консенсусного каркаса человека, может содержать его аминокислотную последовательность, или он может содержать ранее существовавшие изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления число ранее существовавших аминокислотных замен составляет 10 или меньше, 9 или меньше, 8 или меньше, 7 или меньше, 6 или меньше, 5 или меньше, 4 или меньше, 3 или меньше или 2 или меньше.

«Процентная (%) идентичность аминокислотной последовательности» по отношению к эталонной полипептидной последовательности определяется как процентная доля аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными аминокислотным остаткам в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимальной процентной идентичности последовательности и, не принимая во внимание любые консервативные замены в качестве части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения

процентной идентичности аминокислотной последовательности может достигаться различными путями, которые находятся в пределах уровня знаний специалиста в данной области техники, например, с применением общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Например, % идентичности аминокислотной последовательности заданной аминокислотной последовательности А по отношению к аминокислотной последовательности В, с ней или по сравнению с ней (что в качестве альтернативы можно перефразировать как «заданная аминокислотная последовательность А, которая характеризуется определенным % идентичности аминокислотной последовательности или предусматривает таковой по отношению к заданной аминокислотной последовательности В, с ней или по сравнению с ней») рассчитывают следующим образом:

умножить на дробь X/Y ,

число аминокислотных остатков, учтенных как идентичные совпадения с последовательностью при выравнивании А и В в данной программе, и где Y представляет собой общее число аминокислотных остатков в В. Будет понятно, что если длина аминокислотной последовательности А не равна длине аминокислотной последовательности В, % идентичности аминокислотной последовательности А по отношению к В не будет равен % идентичности аминокислотной последовательности В по отношению к А.

Антитело, которое «связывается с», «специфически связывается с» или является «специфичным в отношении» конкретного полипептида или эпитопа на конкретном полипептиде, представляет собой антитело, которое связывается с этим конкретным полипептидом или эпитопом на конкретном полипептиде без существенного связывания с каким-либо другим полипептидом или полипептидным эпитопом. В некоторых вариантах осуществления связывание активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4, описанного в данном документе (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента), с неродственным полипептидом, не относящимся к CTLA4, составляет менее приблизительно 10% связывания антитела с CTLA4, измеренного способами, известными из уровня техники (например, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA)). В некоторых вариантах осуществления связывающий белок (например, антитело), который связывается с CTLA4 (например, мышинным CTLA4 и/или человеческим CTLA4), характеризуется равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 2 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,7$ нМ, $\leq 0,6$ нМ, $\leq 0,5$ нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-8} М или меньше, например от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например от 10^{-9} М до 10^{-13} М).

Предусмотренный в данном документе термин «CTLA4» или «белок CTLA4» включает любые рекомбинантные или встречающиеся в природе формы ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами белка 4 (CTLA4) или его варианты или гомологи, которые сохраняют активность белка CTLA4 (например, в пределах по меньшей мере 50%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% активности по сравнению с CTLA4). В некоторых аспектах варианты или гомологи характеризуются по меньшей мере 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью аминокислотной последовательности по всей последовательности или части последовательности (например, части, состоящей из 50, 100, 150 или 200 непрерывных аминокислот) по сравнению с встречающимся в природе полипептидом CTLA4. В некоторых вариантах осуществления CTLA4 представляет собой белок, идентифицированный ссылкой на последовательность NCBI GI:83700231, его гомолог или функциональный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления CTLA4 представляет собой человеческий CTLA4. В некоторых вариантах осуществления CTLA4 представляет собой мышинный CTLA4.

Выражение «эффекторные функции» антитела относится к тем видам биологической активности, которые обусловлены Fc-областью (Fc-областью с нативной последовательностью или Fc-областью с вариантной аминокислотной последовательностью) антитела и варьируют в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность; связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; обеспечение снижения количества рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточных рецепторов) и активацию В-клеток.

«Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «ADCC» относится к форме цитотоксичности, при которой секретируемый Ig связывается Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических клетках (например, естественных клетках-киллерах (NK), нейтрофилах и макрофагах), что позволяет этим цитотоксическим эффекторным клеткам специфически связываться с несущей антиген клеткой-мишенью и впоследствии уничтожать клетку-мишень с помощью цитотоксинов. Антитела «вооружают» цитотоксические клетки и требуются для уничтожения клеток-мишеней посредством этого механизма. Первичные клетки для опосредования ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия Fc на гемопоэтических клетках представлена в таблице 3 на стр. 464 в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991). В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), конструируется или его экспрессия обеспечивается в клетках, у которых отсутствует способность подвергаться фукозилированию гликан Fc для обеспечения усиленной ADCC.

Для оценки активности ADCC представляющей интерес молекулы можно провести анализ ADCC *in vitro*, такой как анализ, описанный в патентах США №№ 5500362 или 5821337. Применимые эффекторные клетки для таких анализов включают моноклеарные клетки периферической крови (PBMC) и естественные клетки-киллеры (NK). Альтернативно или дополнительно, активность ADCC представляющей интерес молекулы можно оценить *in vivo*, например, на животной модели, такой как раскрытой в Clynes et al., PNAS USA 95:652-656 (1998). Другие варианты Fc, которые изменяют активность ADCC и другие свойства антител, включают варианты, описанные в Ghetie et al., Nat Biotech. 15:637-40, 1997; Duncan et al., Nature 332:563-564, 1988; Lund et al., J. Immunol 147:2657-2662, 1991; Lund et al., Mol Immunol 29:53-59, 1992; Alegre et al., Transplantation 57:1537-1543, 1994; Hutchins et al., Proc Natl. Acad Sci USA 92:11980-11984, 1995; Jefferis et al., Immunol Lett. 44:111-117, 1995; Lund et al., FASEB J9:115-119, 1995; Jefferis et al., Immunol Lett 54:101-104, 1996; Lund et al., J Immunol 157:4963-4969, 1996; Armour et al., Eur J Immunol 29:2613-2624, 1999; Idusogie et al., J Immunol 164:4178-4184, 2000; Reddy et al., J Immunol 164:1925-1933, 2000; Xu et al., Cell Immunol 200:16-26, 2000; Idusogie et al., J Immunol 166:2571-2575, 2001; Shields et al., J Biol Chem 276:6591-6604, 2001; Jefferis et al., Immunol Lett 82:57-65, 2002; Presta et al., Biochem Soc Trans 30:487-490, 2002; Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005-4010, 2006; патентах США №№ 5624821; 5885573; 5677425; 6165745; 6277375; 5869046; 6121022; 5624821; 5648260; 6194551; 6737056; 6821505; 6277375; 7335742 и 7317091.

Термин «Fc-область» в данном документе применяется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-области. Несмотря на то, что границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьировать, Fc-область тяжелой цепи IgG человека обычно определяется как простирающаяся от аминокислотного остатка в положении Cys226, или от Pro230, до ее карбоксиконца. Подходящие Fc-области с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему изобретению включают человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Применяемый в данном документе термин «аффинность связывания» относится к силе нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее партнера по связыванию (например, антигена). В некоторых вариантах осуществления аффинность связывающего белка (например, антитела) в отношении CTLA4 обычно может быть представлена равновесной константой диссоциации (K_D). Аффинность можно измерять посредством общепринятых способов, известных из уровня техники, включающих таковые, описанные в данном документе.

Применяемый в данном документе термин «авидность связывания» относится к силе связывания нескольких сайтов связывания молекулы (например, антитела) и ее партнера по связыванию (например, антигена).

«Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитела, описанные в данном документе, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которую

идентифицируют и отделяют от по меньшей мере одной примесной молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно ассоциирована в среде, в которой она была продуцирована. В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота не находится в ассоциации со всеми компонентами, ассоциированными со средой ее продуцирования. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела в данном документе, находятся в форме, отличной от формы или условий, в которых они встречаются в природе. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, таким образом, отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела в данном документе, естественным путем существующей в клетках.

Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который находится в такой форме, которая позволяет биологической активности активного ингредиента быть эффективной и которая не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет вводиться состав. Такие составы являются стерильными.

Применяемый в данном документе термин «носители» включает фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы, которые являются нетоксичными в отношении клетки или млекопитающего, подвергающихся их воздействию в используемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой забуференный водный раствор с определенным уровнем pH. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и буферы на основе других органических кислот; антиоксиданты, включающие аскорбиновую кислоту; полипептид с низкой молекулярной массой (менее чем приблизительно 10 остатков); 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 средства, такие как EDTA; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий, и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (PEG) и PLURONICS™.

Применяемый в данном документе термин «лечение» относится к клиническому вмешательству, разработанному для изменения естественного течения у индивидуума или в клетке, подвергающихся лечению во время протекания клинического патологического процесса. Желательные эффекты лечения включают уменьшение скорости прогрессирования заболевания, смягчение или облегчение статуса заболевания и ремиссию или улучшение прогноза. Индивидуум успешно подвергается «лечению», например, если один или более симптомов, ассоциированных с нарушением (например, неопластическим заболеванием), уменьшаются или устраняются. Например, индивидуум успешно подвергается «лечению», если лечение приводит к повышению качества жизни у лиц, страдающих заболеванием, снижению дозы других лекарственных препаратов,

требуемых для лечения заболевания, снижению частоты рецидивов заболевания, снижению степени тяжести заболевания, замедлению развития или прогрессирования заболевания и/или увеличению продолжительности выживаемости индивидуумов.

Применяемые в данном документе выражения «совместно с» или «в комбинации с» относятся к введению одного средства для лечения в дополнение к другому средству для лечения. Таким образом, выражения «совместно с» или «в комбинации с» относятся к введению одного средства для лечения до, во время или после введения другого средства для лечения индивидууму.

Применяемый в данном документе термин «предупреждение» предусматривает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива заболевания у индивидуума. Индивидуум может являться предрасположенным, восприимчивым к нарушению или может подвергаться риску развития нарушения, но у него еще не было диагностировано нарушение. В некоторых вариантах осуществления активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 (например, активируемые маскированные антитела к CTLA4), описанные в данном документе, применяются для замедления развития нарушения.

Как применяется в данном документе, индивидуум, «подвергающийся риску» развития нарушения, может иметь или не иметь выявляемое заболевание или симптомы заболевания и может демонстрировать или не демонстрировать выявляемое заболевание или симптомы заболевания до способов лечения, описанных в данном документе. Выражение «подвергающийся риску» означает, что индивидуум имеет один или более факторов риска, которые представляют собой измеримые параметры, которые коррелируют с развитием заболевания, как известно из уровня техники. Индивидуум, имеющий один или более из данных факторов риска, характеризуется более высокой вероятностью развития нарушения, чем индивидуум без одного или более из данных факторов риска.

Выражение «эффективное количество» относится к по меньшей мере количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых промежутков времени, для достижения необходимого или указанного эффекта, включающего терапевтический или профилактический результат. Эффективное количество может обеспечиваться в виде одного или более введений. «Терапевтически эффективное количество» представляет собой по меньшей мере минимальную концентрацию, требуемую для обеспечения измеримого улучшения в отношении конкретного нарушения. Терапевтически эффективное количество в данном документе может варьировать в соответствии с факторами, такими как статус заболевания, возраст, пол и вес пациента, а также способность антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество может также представлять собой количество, при котором любые токсические или вредные эффекты антитела перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Выражение «профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение

необходимых промежутков времени, для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическая доза применяется у субъекта до заболевания или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество может быть меньше, чем терапевтически эффективное количество.

Выражение «продолжительное» введение относится к введению лекарственного препарата(препаратов) в постоянном режиме по сравнению с краткосрочным режимом таким образом, чтобы поддерживать начальный терапевтический эффект (активность) в течение длительного промежутка времени. «Прерывистое» введение представляет собой лечение, которое осуществляется не последовательно без перерыва, а является циклическим по своей природе.

Как применяется в данном документе, «индивидуум» или «субъект» представляют собой млекопитающее. В контексте лечения «млекопитающее» включает людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных зоопарков, спортивных животных или домашних питомцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т. д. В некоторых вариантах осуществления индивидуум или субъект представляют собой человека.

Способы лечения

В данном документе предусмотрены способы лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4, описанного в данном документе (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента или композиций на его основе), и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1). В некоторых вариантах осуществления у субъекта (например, у пациента-человека) было диагностировано неопластическое нарушение (например, рак) или субъект подвержен риску развития такого нарушения.

Для предупреждения или лечения заболевания соответствующая дозировка активного средства будет зависеть от типа заболевания, подлежащего лечению, как определено выше, степени тяжести и течения заболевания, предназначения введения средства для профилактических или терапевтических целей, предшествующей терапии, клинического анамнеза субъекта и ответа на средство, а также усмотрения лечащего врача. Средство соответственно вводят субъекту однократно или в ходе ряда лечебных процедур. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, интервал между введениями активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1) составляет приблизительно один месяц или дольше. В некоторых вариантах осуществления интервал между введениями составляет приблизительно два месяца, приблизительно три месяца, приблизительно четыре месяца,

приблизительно пять месяцев, приблизительно шесть месяцев или дольше. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, интервал между введениями активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1) составляет приблизительно один раз в 3 недели. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, интервал между введениями активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1) составляет еженедельно, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 5 недель или один раз в 6 недель. В некоторых вариантах осуществления средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитор PD-1 или PD-L1) вводят один раз в 3 недели.

Как применяется в данном документе, интервал между введениями относится к промежутку времени между одним введением антитела и следующим введением антитела. Как применяется в данном документе, интервал, составляющий приблизительно один месяц, включает четыре недели. В некоторых вариантах осуществления интервал между введениями составляет приблизительно две недели, приблизительно три недели, приблизительно четыре недели, приблизительно восемь недель, приблизительно двенадцать недель, приблизительно шестнадцать недель, приблизительно двадцать недель, приблизительно двадцать четыре недели или дольше.

В некоторых вариантах осуществления лечение включает несколько введений антитела, где интервал между введениями может варьировать. Например, интервал между первым введением и вторым введением составляет приблизительно один месяц, и интервалы между последующими введениями составляют приблизительно три месяца. В некоторых вариантах осуществления интервал между первым введением и вторым введением составляет приблизительно один месяц, интервал между вторым введением и третьим введением составляет приблизительно два месяца, и интервалы между последующими введениями составляют приблизительно три месяца.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят в фиксированной дозе. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят субъекту в дозировке, составляющей от приблизительно 25 мг до приблизительно 500 мг на дозу.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4

или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят субъекту в зависимости от типа и степени тяжести заболевания. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 вводят в дозе, составляющей от приблизительно 1 мкг/кг до 20 мг/кг (например, от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,1 мг/кг до 15 мг/кг), в одном или более отдельных введениях или путем непрерывной инфузии.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят субъекту в дозировке, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг или от приблизительно 1,0 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят субъекту в дозировке, представляющей собой приблизительно любую из 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 3,0 мг/кг, 3,5 мг/кг, 4,0 мг/кг, 4,5 мг/кг, 5,0 мг/кг, 5,5 мг/кг, 6,0 мг/кг, 6,5 мг/кг, 7,0 мг/кг, 7,5 мг/кг, 8,0 мг/кг, 8,5 мг/кг, 9,0 мг/кг, 9,5 мг/кг, 10,0 мг/кг, 11,0 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг, 14 мг/кг, 15 мг/кг, 16,0 мг/кг, 17 мг/кг, 18 мг/кг, 19 мг/кг или 20 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, вводят субъекту в дозировке, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до 10 мг/кг, от приблизительно 0,1 мг/кг до 20 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до 10 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до 10 мг/кг, от приблизительно 0,3 мг/кг до 15 мг/кг или от приблизительно 0,3 мг/кг до 10 мг/кг.

Способ лечения, предусмотренный в данном документе, представляет собой лечение нарушения или заболевания с помощью активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента), описанного в данном документе, и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1). Нарушения или заболевания, которые являются поддающимися лечению с помощью составов по настоящему изобретению, включают лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, миелому, рак молочной железы, нейробластому, рак легкого, рак яичника, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак кожи (например, карциному из клеток Меркеля) или рак яичка.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мелкоклеточную карциному легкого (SCLC) или немелкоклеточную карциному легкого (NSCLC).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения рака путем введения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Применяемый в данном документе термин «рак» относится ко всем типам рака, новообразований или злокачественных опухолей, встречающихся у млекопитающих, включая виды лейкоза, виды лимфомы, виды меланомы, нейроэндокринные опухоли, карциномы и саркомы. Иллюстративные виды рака, которые можно подвергать лечению с помощью активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), фармацевтической композиции или способа, предусмотренных в данном документе, включают лимфому, саркому, рак мочевого пузыря, рак костей, опухоль головного мозга, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак пищевода, рак желудка, рак головы и шеи, рак почки, миелому, рак щитовидной железы, лейкоз, рак предстательной железы, рак молочной железы (например, трижды негативный, ER-положительный, ER-негативный, устойчивый к химиотерапии, устойчивый к герцептину, HER2-положительный, устойчивый к доксорубину, устойчивый к тамоксифену, протоковую карциному, лобулярную карциному, первичный, метастатический), рак яичника, рак поджелудочной железы, рак печени (например, гепатоцеллюлярную карциному), рак легкого (например, немелкоклеточную карциному легкого, плоскоклеточную карциному легкого, аденокарциному, крупноклеточную карциному легкого, мелкоклеточную карциному легкого, карциноид, саркому), мультиформную глиобластому, глиому, меланому, рак предстательной железы, кастрационно-резистентный рак предстательной железы, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы, глиобластому, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточный рак (например, головы, шеи или пищевода), колоректальный рак, лейкоз, острый миелоидный лейкоз, лимфому, В-клеточную лимфому или множественную миелому. Дополнительные примеры включают рак щитовидной железы, эндокринной системы, головного мозга, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, головы и шеи, пищевода, печени, почек, легких, немелкоклеточный рак легких, меланому, мезотелиому, рак яичника, саркому, рак желудка, рак матки или медуллобластому, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, нейробластому, глиому, мультиформную глиобластому, рак яичника, рабдомиосаркому, первичный тромбоцитоз, первичную макроглобулинемию, первичные опухоли головного мозга, рак, злокачественную инсулиному поджелудочной железы, злокачественный карциноид, рак мочевого пузыря, предраковые новообразования кожи, рак яичка, виды лимфомы, рак щитовидной железы, нейробластому, рак пищевода, рак мочеполового тракта, злокачественную гиперкальцемию, рак эндометрия, рак коры надпочечника, новообразования эндокринных или экзокринных отделов поджелудочной

железы, медуллярный рак щитовидной железы, медуллярную карциному щитовидной железы, меланому, колоректальный рак, папиллярный рак щитовидной железы, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Педжета соска молочной железы, филоидные опухоли, лобулярную карциному, протоковую карциному, рак из звездчатых клеток поджелудочной железы, рак из звездчатых клеток печени или рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения лейкоза путем введения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Термин «лейкоз» в широком смысле относится к прогрессирующим злокачественным заболеваниям кроветворных органов и обычно характеризуется нарушенными пролиферацией и развитием лейкоцитов и их предшественников в крови и костном мозге. Лейкоз обычно клинически классифицируют на основе (1) продолжительности и характера заболевания, острый или хронический; (2) типа задействованной клетки; миелоидный (миелогенный), лимфоидный (лимфогенный) или моноцитарный; и (3) увеличения или отсутствия увеличения числа аномальных клеток в крови, лейкоэмический или алейкемический (сублейкемический). Иллюстративные виды лейкоза, которые можно подвергать лечению с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предусмотренных в данном документе, включают, например, острый нелимфоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, острый гранулоцитарный лейкоз, хронический гранулоцитарный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз взрослых, алейкемический лейкоз, лейкоцитемический лейкоз, базофильный лейкоз, недифференцируемый лейкоз, лейкоз крупного рогатого скота, хронический миелоцитарный лейкоз, поражение кожи при лейкозе, эмбриональный лейкоз, эозинофильный лейкоз, лейкоз Гросса, волосатоклеточный лейкоз, гемобластный лейкоз, гемоцитобластный лейкоз, гистиоцитарный лейкоз, лейкоз стволовых клеток, острый моноцитарный лейкоз, лейкопенический лейкоз, лимфатический лейкоз, лимфобластный лейкоз, лимфоцитарный лейкоз, лимфогенный лейкоз, лимфоидный лейкоз, лейкоз из клеток лимфосаркомы, тучноклеточный лейкоз, мегакариоцитарный лейкоз, микромиелобластный лейкоз, моноцитарный лейкоз, миелобластный лейкоз, миелоцитарный лейкоз, миелоидный гранулоцитарный лейкоз, миеломоноцитарный лейкоз, лейкоз Негели, плазмоклеточный лейкоз, множественную миелому, плазмоцитарный лейкоз, промиелоцитарный лейкоз, лейкоз из клеток Ридера, лейкоз Шиллинга, лейкоз стволовых клеток, сублейкемический лейкоз или недифференцированный клеточный лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения саркомы путем введения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути

PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Термин «саркома» в целом относится к опухоли, которая образована из вещества, подобного эмбриональной соединительной ткани, и обычно состоит из плотно упакованных клеток, встроенных в волокнистое или гомогенное вещество. Саркомы, которые можно подвергать лечению с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предусмотренных в данном документе, включают хондросаркому, фибросаркому, лимфосаркому, меланосаркому, миксосаркому, остеосаркому, саркому Абемети, злокачественную липому, липосаркому, альвеолярную саркому мягких тканей, амелобластосаркому, ботриоидную саркому, хлоромную саркому, хориокарциному, эмбриональную саркому, саркому опухоли Вильмса, эндометриальную саркому, стромальную саркому, саркому Юинга, фасциальную саркому, фибробластную саркому, гигантоклеточную саркому, гранулоцитарную саркому, саркому Ходжкина, идиопатическую множественную пигментированную геморрагическую саркому, иммунобластную саркому В-клеток, лимфому, иммунобластную саркому Т-клеток, саркому Дженсена, саркому Капоши, саркому из клеток Купфера, ангиосаркому, лейкосаркому, злокачественную мезенхимальную саркому, паростальную саркому, ретикулоцитарную саркому, саркому Рауса, серокистозную саркому, синовиальную саркому или телеангиэктатическую саркому.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения меланомы путем введения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Под термином «меланома» понимается опухоль, возникающую из меланоцитарной системы кожи и других органов. Меланомы, которые можно подвергать лечению с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предусмотренных в данном документе, включают, например, акральную лентигинозную меланому, амеланотическую меланому, доброкачественную ювенильную меланому, меланому Клаудмана, меланому S91, меланому Хардинга-Пасси, ювенильную меланому, меланому типа злокачественного лентиги, злокачественную меланому, узловую меланому, подногтевую меланому или поверхностно распространяющуюся меланому.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения карциномы путем введения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Термин «карцинома» относится к злокачественному новообразованию, образованному из эпителиальных клеток, имеющих тенденцию инфильтрировать окружающие ткани и вызывать метастазы. Иллюстративные карциномы, которые можно подвергать лечению с помощью соединения, фармацевтической композиции или способа, предусмотренных в

данном документе, включают, например, медуллярную карциному щитовидной железы, наследственную медуллярную карциному щитовидной железы, ацинарную карциному, аденокарциному, аденокистозную карциному, железисто-кистозную карциному, аденоматозную карциному, карциному коры надпочечников, альвеолярную карциному, альвеолярно-клеточную карциному, базальноклеточную карциному, базальноцеллюлярную карциному, базалоидную карциному, базоспиноцеллюлярную карциному, бронхоальвеолярную карциному, бронхиолярную карциному, бронхогенную карциному, церебриформную карциному, холангиоцеллюлярную карциному, хориокарциному, коллоидный рак, карциному комедонного типа, карциному тела, крибриформную карциному, карциному *en cuirasse*, карциному кожи, карциному цилиндрического типа, цилиндроклеточную карциному, протоковую карциному, дуктальную карциному, твердую карциному, эмбриональную карциному, энцефалоидную карциному, эпидермоидную карциному, эпителиальную аденоидную карциному, экзофитную карциному, карциному из язвы, фиброзную карциному, слизистую карциному, студенистую карциному, гигантоклеточную карциному, гигантоцеллюлярную карциному, железистую карциному, гранулезоклеточную карциному, базальноклеточную эпителиому, гематоидную карциному, гепатоцеллюлярную карциному, карциному из клеток Гюртля, гиалиновую карциному, гипернефроидную карциному, младенческую эмбриональную карциному, карциному *in situ*, внутриэпидермальную карциному, внутриэпителиальную карциному, карциному Кромпечера, карциному клеток Кульчицкого, крупноклеточную карциному, лентикулярную карциному, карциному хрусталика, липоматозную карциному, лобулярную карциному, лимфоэпителиальную карциному, медуллярную карциному, медуллярный рак, меланотическую карциному, карциному ресничной железы, муцинозную карциному, карциному слизистых оболочек, мукоцеллюлярную карциному, мукоэпидермоидную карциному, карциному слизистой оболочки, мукузную карциному, миксоматозную карциному, назофарингеальную карциному, овсяно-клеточную карциному, оссифицирующую карциному, остеоидную карциному, папиллярную карциному, перипортальную карциному, преинвазивную карциному, карциному из шиловидных клеток, слизееобразующую карциному, почечно-клеточную карциному почки, резервно-клеточную карциному, саркомоподобную карциному, карциному слизистой оболочки носовой полости, скirrosную карциному, карциному мошонки, перстневидно-клеточную карциному, простую карциному, мелкоклеточную карциному, соланоидную карциному, карциному из сферических клеток, веретенклеточную карциному, плоскоклеточную карциному, губчатую карциному, сквамозно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, нитевидную карциному, телеангиэктатическую карциному, карциному с телеангиэктазией, переходно-клеточную карциному, тубулярную карциному, тубулярный рак, туберозный рак, веррукозную карциному или ворсинчатую карциному.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрен способ лечения или предупреждения метастатического рака путем введения активируемого

маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитора PD-1 или PD-L1), описанных в данном документе. Применяемые в данном документе термины «метастазирование», «метастатический» и «метастатический рак» могут применяться взаимозаменяемо и относиться к распространению неопластического заболевания или нарушения, например, рака, из одного органа или другого несмежного органа или части тела. Рак появляется в месте возникновения, например, в молочной железе, которое называется первичной опухолью, например, первичным раком молочной железы. Некоторые раковые клетки в первичной опухоли или месте возникновения приобретают способность проникать и инфильтрировать окружающие нормальные ткани в локальной области и/или способность проникать через стенки лимфатической системы или сосудистой системы, циркулируя через эту систему в другие участки и ткани организма. Вторая клинически выявляемая опухоль, образованная из раковых клеток первичной опухоли, называется метастатической или вторичной опухолью. Когда раковые клетки метастазируют, предполагается, что метастатическая опухоль и ее клетки аналогичны клеткам исходной опухоли. Таким образом, если рак легкого метастазирует в молочную железу, вторичная опухоль в участке молочной железы состоит из аномальных клеток легкого, а не аномальных клеток молочной железы. Вторичная опухоль в молочной железе относится к метастатическому раку легкого. Таким образом, фраза «метастатический рак» относится к заболеванию, при котором у субъекта имеется или имелась первичная опухоль и имеется одна или более вторичных опухолей. Фразы «неметастатический рак» или «субъекты страдающие от рака, который не является метастатическим» относятся к заболеваниям, при которых у субъектов имеется первичная опухоль, но нет одной или более вторичных опухолей. Например, метастатический рак легкого относится к заболеванию у субъекта с наличием первичной опухоли легкого или с ней в анамнезе и с одной или более вторичными опухолями во втором или нескольких местах, например, в молочной железе.

В некоторых вариантах осуществления заболевания или нарушения, при которых могут принести пользу маскированные CTLA4-связывающие белки в комбинации со средством регуляции сигнального пути PD-1 (например, ингибитором PD-1 или PD-L1), описанные в данном документе, включают заболевание (например, диабет, рак (например, рак предстательной железы, рак почки, метастатический рак, меланому, кастрационно-резистентный рак предстательной железы, рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы, глиобластому, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточную карциному (например, головы, шеи или пищевода), колоректальный рак, лейкоз, острый миелоидный лейкоз, лимфому, В-клеточную лимфому или множественную миелому) или с симптомом заболевания, вызванные (полностью или частично) CTLA4 или активностью или функцией CTLA4 и/или сигнальной активностью или функцией PD-1.

В данном документе описаны способы лечения нарушений у субъекта (например, нарушений, при которых приносит пользу введение средства терапии, направленного

против PD-1). Например, средство терапии, направленное против PD-1, описанное в данном документе, можно вводить, например, в виде комбинированной терапии с активируемым антителом к CTLA-4, в течение периода, достаточного для достижения клинической пользы, или в соответствии со схемой, определенной врачом (например, средство терапии, направленное против PD-1, вводят с количествами дозировки и количеством циклов лечения, установленных врачом).

В вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, применимы для лечения дисфункциональных нарушений Т-клеток (например, рака). В вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, применимы для уменьшения размера опухолей или подавления роста опухолевых клеток у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, применимы для усиления активации Т-клеток или эффекторной функции Т-клеток у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, применимы для индукции иммунного ответа у субъекта.

В вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, применимы для усиления иммунного ответа или увеличения активности иммунной клетки у субъекта.

Способы по настоящему изобретению можно применять для лечения любого типа аутоиммунного заболевания (т. е. заболевания или нарушения, вызываемого чрезмерной активностью иммунной системы, при которой организм атакует и повреждает свои собственные ткани), такого как заболевания, описанные, например, в MacKay I.R. and Rose N.R., eds., *The Autoimmune Diseases, Fifth Edition*, Academic Press, Waltham, MA (2014). Примеры аутоиммунных заболеваний, которые можно подвергать лечению посредством способов по настоящему изобретению, включают без ограничения рассеянный склероз, сахарный диабет 1 типа, ревматоидный артрит, склеродермию, болезнь Крона, псориаз, системную красную волчанку (SLE) и язвенный колит. Когда способ по настоящему изобретению обеспечивает лечение аутоиммунного заболевания, то средство на основе антитела к PD-1 можно применять в комбинации с противовоспалительным средством, включая, например, кортикостероиды (например, преднизон и флутиказон) и нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAID) (например, аспирин, ибупрофен и напроксен).

PD-1 аномально экспрессируется при различных видах рака (см., например, Brown et al, *J. Immunol.*, 170: 1257-1266 (2003); и Flies et. al, *Yale Journal of Biology and Medicine*, 84: 409-421 (2011)), и экспрессия PD-L1 у некоторых пациентов с почечно-клеточной карциномой коррелирует с агрессивностью опухоли. Способы по настоящему изобретению можно применять для лечения любого типа рака, известного из уровня техники.

В вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному, аденокарциному легкого, острый миелоидный лейкоз («AML»), острый лимфобластный лейкоз («ALL»), аденокортикальную карциному, рак анального канала, рак червеобразного отростка, лейкоз В-клеточного происхождения, лимфому В-клеточного

происхождения, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак фаллопиевой трубы(труб), рак яичка, церебральный рак, рак шейки матки, хориокарциному, хронический миелогенный лейкоз, опухоль CNS, аденокарциному толстой кишки, рак толстой кишки, колоректальный рак, диффузную глиому ствола головного мозга (DIPG), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому («DLBCL»), эмбриональную рабдомиосаркому (ERMS), рак эндометрия, эпителиальный рак, рак пищевода, саркому Юинга, фолликулярную лимфому («FL»), рак желчного пузыря, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, глиому, рак головы и шеи, гематологический рак, гепатоцеллюлярный рак, лимфому Ходжкина/первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, рак почки, светлоклеточный рак почки, рак гортани, лейкоз, рак печени, рак легкого, лимфому, меланому, карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, моноцитарный лейкоз, множественную миелому, миелому, опухоль CNS нейробластического происхождения, неходжкинскую лимфому (NHL), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), рак ротовой полости, остеосаркому, рак яичника, карциному яичника, рак поджелудочной железы, перитонеальный рак, первичный перитонеальный рак, рак предстательной железы, рецидивирующую или рефрактерную классическую лимфому Ходжкина (сHL), почечно-клеточный рак, ректальный рак, рак слюнной железы (например, опухоль слюнной железы), саркому, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкой кишки, плоскоклеточную карциному аногенитальной области (например, плоскоклеточную карциному анального отверстия, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы), плоскоклеточную карциному пищевода, плоскоклеточную карциному головы и шеи (SCHNC), плоскоклеточную карциному легкого, рак желудка, лейкоз Т-клеточного происхождения, лимфому Т-клеточного происхождения, рак вилочковой железы, тимому, рак щитовидной железы, увеальную меланому, карциному из уротелиальных клеток, рак матки, рак эндометрия матки, саркому матки, вагинальный рак, вульварный рак или опухоль Вильмса.

В других вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланому, карциному из клеток Меркеля (см., например, Bhatia et al., *Curr. Oncol. Rep.*, 13(6): 488-497 (2011), рак шейки матки, вагинальный рак, вульварный рак, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимому, адренокортикальную карциному, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак червеобразного отростка, карциному из уротелиальных клеток или плоскоклеточную карциному (например, легкого; аногенитальной области, в том числе анального отверстия, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы; или пищевода). В некоторых вариантах осуществления рак для лечения в контексте настоящего изобретения представляет собой меланому, почечно-клеточную карциному, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак желчного пузыря, рак

гортани, рак печени, рак щитовидной железы, рак желудка, рак слюнной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы или карциному из клеток Меркеля.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов имеется гематологический рак. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется гематологический рак, такой как диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома («DLBCL»), лимфома Ходжкина («HL»), неходжкинская лимфома («NHL»), фолликулярная лимфома («FL»), острый миелоидный лейкоз («AML»), острый лимфобластный лейкоз («ALL») или множественная миелома («MM»). В вариантах осуществления рак представляет собой рак гемопоэтического происхождения, такой как острый лимфобластный лейкоз («ALL»), острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, острый лимфобластный Т-клеточный лейкоз, острый миелобластный лейкоз («AML»), острый промиелоцитарный лейкоз («APL»), острый монобластный лейкоз, острый эритролейкемический лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфоцитарный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз («CML»), хронический лимфоцитарный лейкоз («CLL»), волосатоклеточный лейкоз и множественная миелома; острые и хронические лейкозы, такие как лимфобластные, миелогенные, лимфоцитарные и миелоцитарные лейкозы.

В вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, такую как болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и истинная полицитемия.

В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному. В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному легкого. В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному пищевода. В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи (HNSCC).

В вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному аногенитальной области (например, анального отверстия, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы).

В вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря, рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC)), рак фаллопиевой трубы(труб), холагиокарциному, аденокарциному толстой кишки, рак эндометрия, рак пищевода, саркому Юинга, рак желудка, светлоклеточный рак почки, рак легкого (например, аденокарциному легкого или плоскоклеточный рак легкого), мезотелиому, рак яичника, рак поджелудочной железы, перитонеальный рак, рак предстательной железы, рак эндометрия матки или увеальную меланому. В вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника, рак фаллопиевой трубы(труб) или перитонеальный рак. В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы (например, TNBC). В вариантах осуществления рак представляет собой рак

легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). В вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак CNS или головного мозга, такой как нейробластома (NB), глиома, диффузная глиома ствола головного мозга (DIPG), пилоцитарная астроцитомы, астроцитомы, анапластическая астроцитомы, мультиформная глиобластома, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимома, пинеалома, гемангиобластома, акустическая невринома, олигодендроглиома, менингиома, вестибулярная шваннома, аденома, метастатическая опухоль головного мозга, менингиома, опухоль спинного мозга или медуллобластома. В вариантах осуществления рак представляет собой опухоль CNS.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов имеется солидная опухоль. В вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль, такую как фибросаркома, миксосаркома, липосаркома, хондросаркома, остеогенная саркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, опухоль Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, остеосаркома, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак костей, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак ротовой полости, рак носа и носовых полостей, рак горла, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовых желез, карцинома сальных желез, папиллярная карцинома, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечно-клеточная карцинома, гепатома, карцинома желчных протоков, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальная карцинома, рак кожи, меланома, нейробластома (NB) или ретинобластома. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой солидную опухоль на поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой метастатическую солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль MSI-H.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению способами по настоящему изобретению, имеется рак, такой как рак головы и шеи, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), рак почки, рак мочевого пузыря, меланома, карцинома из клеток Меркеля, рак шейки матки, вагинальный рак, вульварный рак, рак матки, рак эндометрия, рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак предстательной железы, опухоль слюнной железы, тимома, адренкортикальная карцинома, рак пищевода, рак желудка, колоректальный рак, рак червеобразного отростка, карцинома из уротелиальных клеток или плоскоклеточная карцинома (например, легкого; аногенитальной области, в том числе анального отверстия, полового члена, шейки матки, влагалища или вульвы, или

пищевода), или они восприимчивы к нему. В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению способами по настоящему изобретению, имеется рак легкого (например, NSCLC), рак почки, меланома, рак шейки матки, колоректальный рак или рак эндометрия (например, MSS рак эндометрия или рак эндометрия MSI-H), или они восприимчивы к нему.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гинекологический рак (т. е. рак женской репродуктивной системы, такой как рак яичника, рак фаллопиевой трубы, рак шейки матки, вагинальный рак, вульварный рак, рак матки или первичный перитонеальный рак или рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления виды рака женской репродуктивной системы включают без ограничения рак яичника, рак фаллопиевой трубы(труб), перитонеальный рак и рак молочной железы.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника (например, серозный или светлоклеточный рак яичника). В вариантах осуществления рак представляет собой рак фаллопиевой трубы (например, серозный или светлоклеточный рак фаллопиевой трубы). В вариантах осуществления рак представляет собой первичный перитонеальный рак (например, серозный или светлоклеточный первичный перитонеальный рак).

В некоторых вариантах осуществления рак яичника представляет собой эпителиальную карциному. Эпителиальные карциномы составляют от 85% до 90% случаев рака яичника. Хотя исторически считалось, что он начинает развиваться на поверхности яичника, новые данные свидетельствуют о том, что по меньшей мере некоторые случаи рака яичника начинаются в определенных клетках в части фаллопиевой трубы. Фаллопиевы трубы представляют собой небольшие протоки, которые соединяют яичники женщины с ее маткой, которые являются частью репродуктивной системы женщины. В нормальной женской репродуктивной системе есть две фаллопиевы трубы, расположенные по обе стороны от матки. Раковые клетки, которые начинают развиваться в фаллопиевой трубе, могут довольно рано переходить на поверхность яичника. Термин «рак яичника» часто применяется для описания эпителиального рака, который начинает развиваться в яичнике, в фаллопиевой трубе и в слизистой оболочке брюшной полости, называемой брюшиной. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой герминогенную опухоль или содержит ее. Герминогенные опухоли представляют собой тип рака яичника, развивающийся в продуцирующих яйцеклетки клетках яичника. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой стромальную опухоль или содержит ее. Стромальные опухоли развиваются в клетках соединительной ткани, которые удерживают яичники вместе, иногда это ткань, которая вырабатывает женские гормоны, называемые эстрогенами. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гранулезоклеточную опухоль или содержит ее. Гранулезоклеточные опухоли могут секретировать эстроген, что приводит к необычным вагинальным кровотечениям на момент постановки диагноза. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак ассоциирован с дефицитом репарации посредством гомологичной

рекомбинации/дефицитом гомологичной репарации («HRD») и/или мутацией(-ями) BRCA1/2. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак чувствителен к препаратам на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак ответил на терапию на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак развил устойчивость к терапии на основе платины. В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак в какой-то момент показал частичный или полный ответ на терапию на основе платины (например, частичный или полный ответ на последнюю терапию на основе платины или на предпоследнюю терапию на основе платины). В некоторых вариантах осуществления гинекологический рак в настоящий момент является устойчивым к терапии на основе платины.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. Обычно рак молочной железы начинает развиваться либо в клетках желез, вырабатывающих молоко, известных как дольки, либо в протоках. Реже рак молочной железы может начать развиваться в стромальных тканях. К ним относятся жировая и грубоволокнистая соединительная ткань молочной железы. Со временем клетки рака молочной железы могут проникать в близлежащие ткани, такие как подмышечные лимфатические узлы или легкие, в процессе, известном как метастазирование. Стадия рака молочной железы, размер опухоли и скорость ее роста представляют собой все факторы, которые определяют тип лечения, которое предлагается. Варианты лечения включают хирургическое вмешательство с удалением опухоли, медикаментозное лечение, которое включает химиотерапию и гормональную терапию, лучевую терапию и иммунотерапию. Прогноз и коэффициент выживаемости сильно варьируют; коэффициент пятилетней относительной выживаемости варьирует от 98% до 23% в зависимости от типа рака молочной железы, который возникает. Рак молочной железы является вторым наиболее часто встречающимся видом рака в мире с примерно 1,7 миллионами новых случаев в 2012 г. и пятой наиболее часто встречающейся причиной смерти от рака с примерно 521000 случаями смерти. Из этих случаев примерно 15% являются трижды негативными, для которых не характерна экспрессия рецептора эстрогена, рецептора прогестерона (PR) или HER2. В некоторых вариантах осуществления трижды негативный рак молочной железы (TNBC) характеризуется тем, что клетки рака молочной железы являются негативными в отношении экспрессии рецепторов эстрогена (<1% клеток), негативными в отношении экспрессии рецепторов прогестерона (<1% клеток) и HER2-негативными.

В вариантах осуществления рак представляет собой ER-позитивный рак молочной железы, ER-негативный рак молочной железы, PR-положительный рак молочной железы, PR-негативный рак молочной железы, HER2-положительный рак молочной железы, HER2-негативный рак молочной железы, BRCA1/2-положительный рак молочной железы, BRCA1/2-негативный рак или трижды негативный рак молочной железы (TNBC). В вариантах осуществления рак представляет собой трижды негативный рак молочной железы (TNBC).

В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой распространенный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы II стадии, III стадии или IV стадии. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы IV стадии. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы.

В некоторых вариантах осуществления у пациента или популяции пациентов, подлежащих лечению способами по настоящему изобретению, имеется рак эндометрия («ЕС») или они восприимчивы к нему. Карцинома эндометрия является наиболее часто встречающейся формой рака женских половых органов, насчитывающей 10-20 случаев на 100000 человеко-лет. Ежегодное число новых случаев рака эндометрия (ЕС) оценивается в приблизительно 325 тысяч во всем мире. Кроме того, ЕС является наиболее часто встречающимся типом рака у женщин в постменопаузе. Приблизительно 53% случаев рака эндометрия приходится на развитые страны. В 2015 г. в США было диагностировано примерно 55000 случаев ЕС, и в настоящее время нет одобренных для применения видов направленной терапии ЕС. Существует необходимость в средствах и схемах, которые улучшают выживаемость при распространенном и рецидивирующем ЕС в условиях 1L и 2L. По прогнозам, в 2016 г. в США по причине ЕС умрет около 10170 человек. Наиболее часто встречающаяся гистологическая форма представляет собой эндометриодная аденокарцинома, составляющая приблизительно 75-80% диагностированных случаев. Другие гистологические формы включают маточную папиллярную серозную (менее 10%), светлоклеточную (4%), муцинозную (1%), плоскоклеточную (менее 1%) и смешанную (приблизительно 10%).

С патогенетической точки зрения ЕС подразделяется на два разных типа, так называемые типы I и II. Опухоли типа I представляют собой низкоккачественные и эстроген-зависимые эндометриодные карциномы (ЕЕС), в то время как тип II представляет собой неэндометриодные (NEЕС) (в основном серозные и светлоклеточные) карциномы. Всемирная организация здравоохранения недавно обновила патологическую классификацию ЕС, признавая девять разных подтипов ЕС, но подавляющее большинство случаев приходится на ЕЕС и серозную карциному (SC). ЕЕС представляют собой эстроген-зависимые карциномы, которые возникают у пациента в перименопаузе и которым предшествуют исходные очаги поражения (гиперплазия эндометрия/эндометриодная интраэпителиальная неоплазия). Микроскопически низкоккачественная ЕЕС (ЕЕС 1-2) содержит трубчатые железы, несколько напоминающие пролиферативный эндометрий, со сложной архитектурой со слиянием желез и решетчатым рисунком. Низкоккачественная ЕЕС демонстрирует устойчивый характер роста. Напротив, SC возникает у пациентов в постменопаузе при отсутствии гиперэстрогении. Под микроскопом SC демонстрирует утолщенные, фиброзные или эдематозные сосочки с заметным расслоением опухолевых клеток, клеточным

почкованием и анапластическими клетками с крупной эозинофильной цитоплазмой. Подавляющее большинство ЕЕС представляют собой опухоли низкой степени злокачественности (степени 1 и 2) и ассоциированы с хорошим прогнозом, когда они ограничены маткой. ЕЕС 3 степени (ЕЕС3) представляет собой агрессивную опухоль с повышенной частотой метастазирования в лимфатические узлы. SC очень агрессивны, не связаны со стимуляцией эстрогенами, в основном встречаются у пожилых женщин. ЕЕС 3 и SC считаются опухолями высокой степени злокачественности. SC и ЕЕС3 сравнили с применением данных Программы по течению, распространенности и исходам злокачественных новообразований (SEER) с 1988 по 2001 гг. Они составляли 10% и 15% ЕС соответственно, но на их долю приходилось 39% и 27% случаев смерти по причине рака соответственно.

Виды рака эндометрия также можно разделить на четыре молекулярные подгруппы: (1) ультрамутированный/с мутацией POLE; (2) гипермутированный MSI+ (например, MSI-H или MSI-L); (3) с малым числом копий/микросателлитно-стабильный (MSS) и (4) с большим числом копий/серозоподобный. В приблизительно 28% случаев имеются высокая MSI. (Murali, Lancet Oncol. (2014). В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак эндометрия 2L подмножества с дефицитом репарации при ошибочном спаривании.

В вариантах осуществления рак эндометрия представляет собой метастатический рак эндометрия.

В вариантах осуществления у пациента имеется MSS рак эндометрия.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак эндометрия MSI-H.

В вариантах осуществления рак представляет собой рак легкого. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному легкого. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC). В вариантах осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный NSCLC. В вариантах осуществления рак легкого представляет собой рак легкого с транслокацией ALK (например, NSCLC с транслокацией ALK). В вариантах осуществления рак легкого представляет собой рак легкого с мутацией EGFR (например, NSCLC с мутацией EGFR).

В вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный рак (CRC) (например, солидную опухоль). В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой распространенный колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой метастатический колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак MSI-H. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой MSS колоректальный рак. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак с мутацией POLE. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак с мутацией POLD. В вариантах осуществления колоректальный рак представляет собой колоректальный рак с высокой TMB.

В вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В вариантах осуществления меланомы представляет собой распространенную меланому. В вариантах осуществления меланомы представляет собой метастатическую меланому. В вариантах осуществления меланомы представляет собой меланому MSI-H. В вариантах осуществления меланомы представляет собой MSS меланому. В вариантах осуществления меланомы представляет собой меланому с мутацией POLE. В вариантах осуществления меланомы представляет собой меланому с мутацией POLD. В вариантах осуществления меланомы представляет собой меланому с высокой TMB.

В вариантах осуществления рак представляет собой распространенный рак.

В вариантах осуществления рак представляет собой метастатический рак.

В вариантах осуществления рак представляет собой рецидивирующий рак (например, рецидивирующий гинекологический рак, такой как рецидивирующий эпителиальный рак яичника, рецидивирующий рак фаллопиевой трубы, рецидивирующий первичный перитонеальный рак или рецидивирующий рак эндометрия).

Виды рака, которые можно подвергать лечению способами, описанными в данном документе, включают виды рака, ассоциированные с высокой мутационной нагрузкой опухоли (TMB), виды рака, которые микросателлитно-стабильны (MSS), виды рака, которые характеризуются микросателлитной нестабильностью, виды рака, которые имеют статус высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H), виды рака, которые имеют статус низкой микросателлитной нестабильности (MSI-L), виды рака, ассоциированные с высокой TMB и MSI-H (например, формы рака, ассоциированные с высокой TMB и MSI-L или MSS), виды рака, характеризующиеся дефектной системой репарации при ошибочном спаривании ДНК, виды рака, имеющие дефект в гене репарации при ошибочном спаривании ДНК, гипермутированные виды рака, виды рака, имеющие дефицит репарации посредством гомологичной рекомбинации/дефицит гомологичной репарации («HRD»), виды рака, характеризующиеся содержанием мутации в полимеразе дельта (POLD), и виды рака, характеризующиеся содержанием мутации в полимеразе-эпсилон (POLE).

В некоторых вариантах осуществления опухоль, подлежащая лечению, характеризуется микросателлитной нестабильностью. В некоторых вариантах осуществления опухоль характеризуется статусом высокой микросателлитной нестабильности (MSI-H). Микросателлитная нестабильность («MSI») представляет собой или предусматривает изменение в ДНК, которое происходит в определенных клетках (таких как опухолевые клетки), при котором число повторов микросателлитов (коротких повторяющихся последовательностей ДНК) отличается от числа повторов, которое содержалось в ДНК, от которой они были унаследованы. В приблизительно 15% случаев спорадический колоректальный рак (CRC) характеризуется широко распространенными изменениями длины микросателлитных (MS) последовательностей, известными как микросателлитная нестабильность (MSI) (Boland and Goel, 2010). Спорадические опухоли CRC MSI проявляют уникальные клинико-патологические свойства, включая почти

диплоидный кариотип, более высокую частоту у популяции пожилых людей и у женщин и лучший прогноз (de la Chapelle and Hampel, 2010; Popat et al., 2005). MSI также присутствует в других опухолях, таких как рак эндометрия (EC) матки, наиболее часто встречающееся гинекологическое злокачественное новообразование (Duggan et al., 1994). Та же эталонная панель Bethesda, изначально разработанная для скрининга наследуемого генетического заболевания (синдром Линча) (Umar et al., 2004), в настоящее время применяется для тестирования MSI при CRC и EC. Однако гены, которые часто являются мишенями для MSI в геномах CRC, редко характеризуются событиями проскальзывания ДНК в геномах EC (Gurin et al., 1999).

Микросателлитная нестабильность возникает вследствие неспособности исправить ошибки, ассоциированные с репликацией, вследствие дефектной системы репарации при ошибочном спаривании ДНК (MMR). Эта неспособность делает возможным сохранение мутаций ошибочного спаривания во всем геноме, но особенно в областях повторяющейся ДНК, известных как микросателлиты, приводя к увеличению мутационной нагрузки. Было продемонстрировано, что по меньшей мере некоторые опухоли, характеризующиеся MSI-H, проявляют улучшенные ответы на определенные средства на основе антител к PD-1 (Le et al., (2015) *N. Engl. J. Med.* 372(26):2509-2520; Westdorp et al., (2016) *Cancer Immunol. Immunother.* 65(10):1249-1259). В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется микросателлитной нестабильностью, такой как высокая микросателлитная нестабильность (например, статус MSI-H). В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется статусом микросателлитной нестабильности, таким как низкая микросателлитная нестабильность (например, низкая MSI). В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется статусом микросателлитной нестабильности, таким как микросателлитно-стабильный (например, статус MSS). В некоторых вариантах осуществления статус микросателлитной нестабильности оценивают с помощью анализа на основе секвенирования нового поколения (NGS), анализа на основе иммуногистохимии (ИНС) и/или анализа на основе PCR. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют посредством NGS. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют посредством ИНС. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют посредством PCR.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSI-L.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSI-H. В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется солидная опухоль MSI-H. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой рак эндометрия MSI-H. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой солидную опухоль. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой метастатическую опухоль. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой рак, отличный от рака эндометрия. В вариантах осуществления рак MSI-H представляет собой колоректальный рак.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак MSS. В вариантах осуществления рак MSS представляет собой рак эндометрия MSS.

В вариантах осуществления рак ассоциирован с мутацией POLE (ДНК-полимераза эpsilon) (т. е. рак представляет собой рак с мутацией POLE). В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой мутацию в экзонуклеазном домене. В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой мутацию зародышевой линии. В вариантах осуществления мутация POLE представляет собой спорадическую мутацию. В вариантах осуществления рак MSI также ассоциирован с мутацией POLE. В вариантах осуществления рак MSS также ассоциирован с мутацией POLE. В вариантах осуществления мутацию POLE идентифицируют с применением секвенирования. В вариантах осуществления рак с мутацией POLE представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления рак с мутацией POLE представляет собой рак толстой кишки. В вариантах осуществления рак с мутацией POLE представляет собой рак поджелудочной железы, рак яичника или рак тонкой кишки.

В вариантах осуществления рак ассоциирован с мутацией POLD (ДНК-полимераза delta) (т. е. рак представляет собой рак с мутацией POLD). В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой мутацию в экзонуклеазном домене. В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой соматическую мутацию. В вариантах осуществления мутация POLD представляет собой мутацию зародышевой линии. В вариантах осуществления рак с мутацией POLD идентифицируют с применением секвенирования. В вариантах осуществления рак с мутацией POLD представляет собой рак эндометрия. В вариантах осуществления рак с мутацией POLD представляет собой колоректальный рак. В вариантах осуществления рак с мутацией POLD представляет собой рак головного мозга.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется рак с дефицитом репарации при ошибочном спаривании (MMRd).

В вариантах осуществления рак MMRd представляет собой колоректальный рак.

Микросателлитная нестабильность может возникать из-за неспособности исправить ошибки, ассоциированные с репликацией, вследствие дефектной системы репарации при ошибочном спаривании ДНК (MMR). Эта неспособность делает возможным сохранение мутаций ошибочного спаривания во всем геноме, но особенно в областях повторяющейся ДНК, известных как микросателлиты, приводя к увеличению мутационной нагрузки, что может улучшить ответы на определенные средства на основе антител к PD-1, в том же источнике. В некоторых вариантах осуществления статус MSI-H оценивают посредством анализа на основе NGS и/или анализа MSI на основе PCR. В некоторых вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют посредством секвенирования нового поколения. В вариантах осуществления микросателлитную нестабильность выявляют с применением иммуногистохимического (ИHC) тестирования.

В вариантах осуществления рак (например, рак MMRd) характеризуется высокой мутационной нагрузкой опухоли (т. е. рак представляет собой рак с высокой TMB). В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с высокой TMB и MSI-H. В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с высокой TMB и MSI-L или MSS. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия, ассоциированный с высокой TMB. В некоторых родственных вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с высокой TMB и MSI-H. В некоторых родственных вариантах осуществления рак эндометрия ассоциирован с высокой TMB и MSI-L или MSS. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой колоректальный рак. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого (SCLC) или немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), такой как плоскоклеточный NSCLC или неплоскоклеточный NSCLC). В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой меланому. В вариантах осуществления рак с высокой TMB представляет собой уротелиальный рак.

В вариантах осуществления у пациента имеется рак с повышенной экспрессией инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), т. е. у пациента имеется рак с высоким уровнем TIL. В вариантах осуществления рак с высоким уровнем TIL представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы (TNBC) или HER2-положительный рак молочной железы). В вариантах осуществления рак с высоким уровнем TIL представляет собой метастатический рак (например, метастатический рак молочной железы).

В вариантах осуществления сигнатуры экспрессии иммунозависимых генов могут быть прогностическими в отношении ответа на терапию рака, направленную против PD-1, как описано в данном документе. Например, панель генов, которая включает гены, ассоциированные с передачей сигнала IFN- γ , может быть применима для идентификации пациентов, страдающих от рака, для которых будет полезна терапия, направленная против PD-1. Иллюстративные панели генов описаны в Ayers et al., *J. Clin. Invest.*, 127(8):2930-2940, 2017. В вариантах осуществления у пациента, страдающего от рака, имеется рак, который представляет собой рак молочной железы (например, TNBC) или рак яичника. В вариантах осуществления у пациента, страдающего от рака, имеется рак, который представляет собой рак мочевого пузыря, рак желудка, билиарный рак, рак пищевода или плоскоклеточную карциному головы и шеи (HNSCC). В вариантах осуществления у пациента, страдающего от рака, имеется рак, который представляет собой рак анального канала или колоректальный рак.

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется опухоль, которая характеризуется экспрессией PD-L1. В некоторых вариантах осуществления статус PD-L1 оценивают у пациента или популяции пациентов. В некоторых вариантах осуществления мутационную нагрузку и профили экспрессии генов исходного уровня в архивных или свежезятых биопсиях до лечения оценивают перед лечением средством на основе

антитела к PD-1, во время и/или после него. В некоторых вариантах осуществления у пациентов оценивают статус и/или экспрессию TIM-3 и/или LAG-3.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторые пациенты из популяции пациентов, страдающих от рака, ранее не были подвергнуты лечению с помощью одного или более разных средств для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления пациент ранее был подвергнут лечению с помощью одного или более разных средств для лечения рака (например, одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъект ранее был подвергнут лечению с помощью двух или более разных средств для лечения рака (например, одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъект ранее был подвергнут лечению с помощью цитотоксической терапии. В вариантах осуществления субъект ранее был подвергнут лечению с помощью химиотерапии. В вариантах осуществления субъект ранее был подвергнут лечению с помощью двух разных средств для лечения рака (например, одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии). В вариантах осуществления субъект ранее был подвергнут лечению с помощью трех разных средств для лечения рака (например, одного или более из хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии или иммунотерапии).

В вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, способ дополнительно включает введение одного или более из средств хирургического вмешательства, радиотерапии, химиотерапии, иммунотерапии, антиангиогенного средства или противовоспалительного средства. В вариантах осуществления способ дополнительно включает введение средства химиотерапии.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере некоторые пациенты из популяции пациентов, страдающих от рака, ранее были подвергнуты лечению с помощью химиотерапии (например, химиотерапии на основе препаратов платины). Например, пациент, получивший две линии лечения рака, может быть идентифицирован как пациент, страдающий от рака 2L (например, пациент с NSCLC 2L). В вариантах осуществления пациент получил две линии или более линий лечения рака (например, пациент, страдающий от рака 2L+, такой как пациент, страдающий от рака эндометрия 2L+). В вариантах осуществления пациент ранее не был подвергнут лечению с помощью терапии, направленной против PD-1. В вариантах осуществления пациент ранее получил по меньшей мере одну линию лечения рака (например, пациент ранее получил по меньшей мере одну линию или по меньшей мере две линии лечения рака). В вариантах осуществления пациент ранее получил по меньшей мере одну линию лечения для метастатического рака (например, пациент ранее получил одну или две линии лечения для метастатического рака).

В вариантах осуществления субъект является устойчивым в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1.

В вариантах осуществления субъект является рефрактерным в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1.

В вариантах осуществления описанный в данном документе способ сенсibiliзирует субъекта в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1.

В вариантах осуществления субъект содержит истощенную иммунную клетку (например, истощенную иммунную клетку, которая представляет собой истощенную Т-клетку).

В вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, субъект представляет собой животное (например, млекопитающее). В вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В вариантах осуществления субъект представляет собой отличное от человека млекопитающее (например, мыши, крысы, кролики или отличные от человека приматы). Соответственно, способы, описанные в данном документе, могут быть применимы как при лечении людей, так и в ветеринарной медицине.

В вариантах осуществления ингибитор PD-1 (например, антитело к PD-1) вводят внутривенно (например, путем внутривенной инфузии).

Измерение ответа опухоли

В некоторых вариантах осуществления клиническая польза представляет собой полный ответ («CR»), частичный ответ («PR») или стабильное заболевание («SD»). В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере SD. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления клиническая польза соответствует CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают SD. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают по меньшей мере PR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5% пациентов достигают CR. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают клинической пользы. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20% пациентов достигают SD.

В некоторых вариантах осуществления клиническую пользу (например, SD, PR и/или CR) определяют в соответствии с Критериями оценки ответа солидных опухолей (RECIST). В некоторых вариантах осуществления клиническую пользу (например, SD, PR и/или CR) определяют в соответствии с рекомендациями RECIST.

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно измерить, например, согласно рекомендациям RECIST вер. 1.1. Рекомендации предоставлены в E. A. Eisenhauer, et al., «New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version

1.1.),» Eur. J. of Cancer, 45: 228-247 (2009), которая включена посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых вариантах осуществления рекомендации RECIST могут служить основой для всех протоколов рекомендаций, касающихся статуса заболевания. В некоторых вариантах осуществления рекомендации RECIST применяют для оценки ответа опухоли на лечение и/или даты прогрессирования заболевания.

Рекомендации RECIST требуют, во-первых, оценки общей опухолевой нагрузки на исходном уровне, которая применяется в качестве сравнения для последующих измерений. Опухоли можно измерить посредством любой системы визуализации, известной из уровня техники, например, посредством КТ-сканирования или рентгенографии. Измеримое заболевание определяется наличием по меньшей мере одного измеримого очага поражения. В исследованиях, где первичной конечной точкой является прогрессирование опухоли (либо время до прогрессирования, либо доля с прогрессированием на фиксированную дату), в протоколе должно быть указано, ограничивается ли включение теми, у кого имеется измеримое заболевание, или пациенты, имеющие только не измеримое заболевание, также являются соответствующими критериям включения в исследование.

Когда на исходном уровне присутствует более одного измеримого очага поражения, все очаги поражения до максимум пяти очагов поражений в целом (и максимум два очага поражения на орган), репрезентативных для всех вовлеченных органов, должны быть идентифицированы как целевые очаги поражения и будут регистрироваться и измеряться на исходном уровне (это означает, что в случаях, когда у пациентов вовлечены только один или два участка органа, будет зарегистрировано максимум два и четыре очага поражения соответственно).

Целевые очаги поражения следует выбирать на основе их размера (очаги поражения с наибольшим диаметром), они должны быть репрезентативными для всех вовлеченных органов, но, кроме того, должны быть такими, которые поддаются воспроизводимым повторным измерениям.

Особого упоминания заслуживают лимфатические узлы, поскольку они являются нормальными анатомическими структурами, которые могут быть видны при визуализации, даже если они не поражены опухолью. Патологические узлы, которые определяются как измеримые и могут быть идентифицированы как целевые очаги поражения, должны соответствовать критерию короткой оси ≥ 15 мм при КТ-сканировании. Только короткая ось этих узлов будет вносить вклад в сумму исходного уровня. Короткая ось узла представляет собой диаметр, обычно применяемый рентгенологами для оценки того, поражен ли узел солидной опухолью. Размер узла обычно регистрируется как два измерения в плоскости, в которой получено изображение (для КТ-сканирования это почти всегда аксиальная плоскость; для МРТ плоскость получения данных может быть аксиальной, сагиттальной или фронтальной). Меньшая из этих величин является короткой осью.

Например, абдоминальный узел, для которого зарегистрирован размер 20 мм, 30 мм, имеет длину по короткой оси 20 мм и квалифицируется как злокачественный, измеримый узел. В этом примере в качестве измерения узла следует зарегистрировать 20 мм. Все другие патологические узлы (с короткой осью P 10 мм, но < 15 мм) следует считать нецелевыми очагами поражениями. Узлы с короткой осью < 10 мм считаются непатологическими и не должны регистрироваться или отслеживаться.

Сумма диаметров (самая длинная для неузловых очагов поражения, короткая ось для узловых очагов поражения) для всех целевых очагов поражения будет рассчитана и зарегистрирована как суммарный диаметр исходного уровня. Если в сумму должны быть включены лимфатические узлы, то, как отмечалось выше, в сумму добавляется только короткая ось. Суммарные диаметры на исходном уровне будут применяться в качестве эталона для дальнейшего определения характеристик любой объективной регрессии опухоли в измеримом параметре заболевания.

Все другие очаги поражения (или сайты заболевания), включая патологические лимфатические узлы, должны быть идентифицированы как нецелевые очаги поражения и также должны быть зарегистрированы на исходном уровне. Измерения не требуются, и эти очаги поражения следует рассматривать как «присутствующие», «отсутствующие» или, в редких случаях, «очевидное прогрессирование». Кроме того, можно зарегистрировать несколько нецелевых очагов поражения, затрагивающих один и тот же орган, как один пункт в индивидуальной регистрационной карте (например, «несколько увеличенных тазовых лимфатических узлов» или «несколько метастаз в печени»).

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно измерить, например, с помощью рекомендаций RECIST, связанных с иммунитетом (irRECIST), которые включают Иммуноопосредованные критерии ответа (irRC). В irRC измеряют измеримые очаги поражения, которые имеют по меньшей мере один параметр с минимальным размером, составляющим 10 мм (в наибольшем диаметре по данным КТ или МРТ-сканирования) для неузловых очагов поражения и больший или равный 15 мм для узловых очагов поражения, или по меньшей мере 20 мм на рентгенограмме грудной клетки.

В некоторых вариантах осуществления Иммуноопосредованные критерии ответа включают CR (полное исчезновение всех очагов поражения (измеримых или нет, и отсутствие новых очагов поражения)); PR (уменьшение опухолевой нагрузки на 50% или больше по сравнению с исходным уровнем); SD (несоответствие критериям CR или PR при отсутствии PD) или PD (увеличение опухолевой нагрузки на 25% или больше по сравнению с самым низким уровнем). Подробное описание irRECIST можно найти в Bohnsack et al., (2014) ESMO, ABSTRACT 4958 и Nishino et al., (2013) Clin. Cancer Res. 19(14): 3936-43.

В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно оценить с помощью либо irRECIST, либо RECIST версии 1.1. В некоторых вариантах осуществления ответ опухоли можно оценить как с помощью irRECIST, так и RECIST версии 1.1.

Активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4

В одном аспекте предусматривается активируемый маскированный белок, связывающий ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4), содержащий (i) CTLA4-связывающий домен; (ii) пептид, маскирующий CTLA4-связывающий домен (также упоминаемый в данном документе как «маскирующий пептид») и (iii) линкер, содержащий расщепляемый пептид, соединяющий маскирующий пептид с CTLA4-связывающим доменом. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный CTLA4-связывающий белок представляет собой маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный CTLA4-связывающий белок представляет собой маскированное биспецифическое антитело, которое связывается с CTLA4. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный CTLA4-связывающий белок представляет собой маскированный химерный рецептор, который связывается с CTLA4.

Предусмотренные в данном документе активируемые маскированные CTLA4-связывающие белки могут связываться с CTLA4 из различных видов, например, некоторые связываются с человеческим CTLA4 и/или мышинным CTLA4, или CTLA4 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, обладает одной или более из следующих характеристик: (1) связывает CTLA4 (например, человеческий CTLA4); (2) связывает CTLA4 с более высокой аффинностью после расщепления протеазой пептидного линкера, соединяющего маскирующий пептид со связывающим белком (например, активация), и (3) связывает CTLA4 *in vivo* в участках опухоли.

В одном аспекте в данном документе предусмотрены активируемые маскированные CTLA4-связывающие белки, применимые, среди прочего, для лечения неопластического заболевания, в котором играет роль CTLA4. Активируемый маскированный CTLA4-связывающий белок, предусмотренный в данном документе, включает связывающий домен, способный взаимодействовать (например, связываться с) с белком CTLA4, экспрессируемым на поверхности клетки (например, раковой клетки или Т-клетки). Связывающий домен в некоторых вариантах осуществления соединен с маскирующим пептидом через линкер, содержащий расщепляемый пептид, так что маскирующий пептид предотвращает связывание CTLA4-связывающего домена с белком CTLA4. При расщеплении расщепляемого пептида маскирующий пептид высвобождается, тем самым позволяя связывающему домену взаимодействовать с белком CTLA4.

Также в данном документе предусмотрен в некоторых вариантах осуществления маскированный CTLA4-связывающий белок (например, маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), содержащий (a) CTLA4-связывающий белок (например, антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие первую цепь и вторую цепь) и (b) маскирующий пептид. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок представляет собой антитело к CTLA4 или

его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие первую цепь и вторую цепь, и маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом или карбоксиконцом первой цепи или второй цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой или содержит тяжелую цепь, а вторая цепь представляет собой или содержит легкую цепь, или первая цепь представляет собой или содержит легкую цепь, а вторая цепь представляет собой или содержит тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой или содержит переменную область тяжелой цепи, а вторая цепь представляет собой или содержит переменную область легкой цепи, или первая цепь представляет собой или содержит переменную область легкой цепи, а вторая цепь представляет собой или содержит переменную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от аминоконца к карбоксиконцу: спейсерный линкер, расщепляемый пептид и спейсерный линкер. В некоторых вариантах осуществления С-конец маскирующего пептида соединен с N-концом линкера, содержащего расщепляемый пептид, а С-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с N-концом первой цепи, например, легкой цепи или переменной области легкой цепи.

CTLA4-связывающий белок

Предусмотренный в данном документе термин «CTLA4-связывающий белок» относится к полипептиду, содержащему CTLA4-связывающий домен, который способен связываться с белком CTLA4 или иным образом демонстрировать аффинность в отношении него. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок представляет собой антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, биспецифическое антитело, антигенсвязывающий фрагмент, одноцепочечное антитело и т. д. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, представляют собой антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок представляет собой антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок представляет собой компонент химерного антигенного рецептора, который связывает CTLA4.

Термин «CTLA4-связывающий домен» относится к рекомбинантно экспрессируемому полипептидному домену, способному связываться с белком CTLA4, обнаруженным в клетке или на ней, или иным образом демонстрировать аффинность в отношении него. Способы определения степени связывания CTLA4-связывающего домена с CTLA4 хорошо известны из уровня техники.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело, химерное антитело или человеческое антитело. В некоторых

вариантах осуществления антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, представляют собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, представляют собой фрагмент антитела (включая антигенсвязывающий фрагмент), например, фрагмент dAb, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv или (Fab')₂. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой димер. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой гомодимер. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой гетеродимер. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой гетеродимер, содержащий первую цепь и вторую цепь, такой как гетеродимер, содержащий тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой или содержит тяжелую цепь, а вторая цепь представляет собой или содержит легкую цепь, или первая цепь представляет собой или содержит легкую цепь, а вторая цепь представляет собой или содержит тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой или содержит переменную область тяжелой цепи, а вторая цепь представляет собой или содержит переменную область легкой цепи, или первая цепь представляет собой или содержит переменную область легкой цепи, а вторая цепь представляет собой или содержит переменную область тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь (например, легкую цепь и тяжелую цепь). В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат две первые цепи и две вторые цепи (например, две легкие цепи и две тяжелые цепи). В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402 или 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403 или 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404 или 410, и/или где переменная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405 или 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406 или 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407 или 413.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где переменная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402, (ii) CDR-L2, содержащую

область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 413. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи и вариабельную область тяжелой цепи, где вариабельная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 410, и вариабельная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 413.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи и вариабельную область тяжелой цепи, где вариабельная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и/или где вариабельная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи и вариабельную область тяжелой цепи, где вариабельная область легкой цепи содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и вариабельная область тяжелой цепи содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232, и/или содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%

гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232, и содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 321, и содержат CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 323. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и содержат CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324.

В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 321, и/или содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 334, и/или содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 334, и содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и/или содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 237-318, и/или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 319 или 320. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327-341, и/или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366-380, 421 и 478. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327, 334 или 342-365, и/или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366 или 380-397. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент относятся к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент относятся к изотипу IgG1, содержащему аминокислотные замены, которые усиливают эффекторную функцию, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 321, и тяжелая цепь содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 323. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и тяжелая цепь содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь предусматривает 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологию по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 321, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 323. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 322, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 324.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную

последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 237-318, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 319 или 320.

В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 327-341, и/или тяжелая цепь предусматривает 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологию по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 366-380, 421 и 478. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327-341, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366-380, 421 и 478. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327, 334 или 342-365, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366, 380-397, 421 и 478. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 334, и/или тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела CTLA4 представляет собой человеческий CTLA4. В некоторых вариантах осуществления биспецифического антитела CTLA4 представляет собой мышинный CTLA4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело представляет собой мышинное антитело. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело представляет собой гуманизованное антитело, химерное антитело или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело относится к изотипу IgG1, содержащему аминокислотные замены, которые усиливают эффекторную функцию, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий домен содержит первую цепь и вторую цепь, которые связываются с CTLA4, такие как часть лиганд-связывающего домена для применения в химерном рецепторе. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402 или 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403 или 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404 или 410, и/или где вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405 или 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406 или 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407 или 413. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 402, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 403, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 404, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 405, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 406, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 407. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 432, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 433, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 434, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 435, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 436, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 437. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 408, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 409, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 410, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 411, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 412, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 413. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит (i) CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, (ii) CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и (iii) CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и вторая цепь содержит (i) CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:

441, (ii) CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и (iii) CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443.

В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 321, и вторая цепь содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 323. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в пределах домена VL, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и вторая цепь содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в пределах домена VH, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324.

В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 321, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 323. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 322, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 324. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322,

и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления химерного рецептора первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324.

Маскирующие пептиды

Маскирующий пептид CTLA4-связывающего домена (также называемый «маскирующий пептид»), предусмотренный в данном документе, относится к пептиду, способному связываться с CTLA4-связывающим доменом или иным образом демонстрировать аффинность в отношении него. При связывании с CTLA4-связывающим доменом маскирующий пептид блокирует, перекрывает, ингибирует (например, уменьшает) или иным образом предупреждает (например, маскирует) активность или связывание CTLA4-связывающего домена с его когнатным рецептором или белком (т. е. CTLA4). Способы определения степени связывания CTLA4-связывающего домена с белком CTLA4 хорошо известны из уровня техники.

В вариантах осуществления длина маскирующего пептида составляет по меньшей мере 4 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид представляет собой линейный пептид. В некоторых вариантах осуществления линейный пептид является от 4-мерным до 24-мерным. В вариантах осуществления маскирующий пептид представляет собой циклический пептид. В вариантах осуществления циклический пептид является от 3-мерным до 12-мерным, что определяется числом аминокислот между двумя цистеинами. В вариантах осуществления циклический пептид является от 3-мерным до 20-мерным. Когда маскирующий пептид представляет собой циклизированный пептид, циклизированный пептид образован дисульфидной связью, соединяющей два аминокислотных остатка цистеина. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные остатки цистеина являются концевыми цистеинами (т. е. расположены на N-конце и/или C-конце маскирующего пептида или рядом с ними). В вариантах осуществления дисульфидная связь соединяет N-концевой цистеин с C-концевым цистеином.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом легкой цепи или тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом вариабельной области легкой цепи или вариабельной области тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с C-концом легкой цепи или тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с C-концом вариабельной области легкой цепи или вариабельной области тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом легкой цепи или тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом легкой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом вариабельной области легкой цепи или вариабельной области тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с N-концом вариабельной области легкой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с C-концом легкой цепи или тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с C-концом вариабельной области легкой цепи или вариабельной области тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента через линкер, содержащий расщепляемый пептид.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. Таким образом, в вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности CNLIVEGHC (SEQ ID NO:1), MQTRCKEYPRWCENWL (SEQ ID NO:2), CKHAPYALC (SEQ ID NO:3), CPFPAKILC (SEQ ID NO:4), CPGKGLPSC (SEQ ID NO:5), NWLGEWLPPGKV (SEQ ID NO:6), QFIECPNFPRQCPGKN (SEQ ID NO:7), VRQQCSLNPGRCPYLV (SEQ ID NO:8), VWQECHTAPQLCPGKI (SEQ ID NO:9), DSYTCRGPTWMCAGNM (SEQ ID NO:10), FNHDCSGHWMRCLDQQ (SEQ ID NO:11), NKSPCRPKMVACYGIL (SEQ ID NO:12), PTPQCWNQYYECWIPS (SEQ ID NO:13), SQKCPWTKETCMHYM (SEQ ID NO:14), WHLSMYPKPPAE (SEQ ID NO:15), WHTDGFYTRLPA (SEQ ID NO:16), CIHAPYAKC (SEQ ID NO:17), CPAKIGQEC (SEQ ID NO:18), CPFPALELC (SEQ ID NO:19), CTKPAKALC (SEQ ID NO:20), DTATCYTTTGWCEGMV (SEQ ID NO:21), NSDNCGPAKSTCMYND (SEQ ID NO:22), PPGKCTQPHRCPLN (SEQ ID NO:23), DDPVCWDSNPTCQTIA (SEQ ID NO:24), ISDQCSVLFLSCNTRV (SEQ ID NO:25), ACHFPHPEGC (SEQ ID NO:26), CLPPFPTKC (SEQ ID NO:27), CPDHVFPKC (SEQ ID NO:28), CWLPKPDMC (SEQ ID NO:29), CWSWPSKAC (SEQ ID NO:30), CYPFGKYEC (SEQ ID NO:31), ALTPAKWLPADD (SEQ ID NO:32), DDKECDWMHFACTGPQ (SEQ ID

NO:33), DEMKCAWSLEMCVVRTS (SEQ ID NO:34), DPILCPNTRMSCDNQT (SEQ ID NO:35), GNALYDSPGTML (SEQ ID NO:36), KNYECREVMPPCEPNT (SEQ ID NO:37), NSYTSPYWLPDS (SEQ ID NO:38), SLTPPYWIPREW (SEQ ID NO:39), SPLTPHDRPSFL (SEQ ID NO:40), TADVFSSTRYTR (SEQ ID NO:41), TDLQCPPSSPICQIEH (SEQ ID NO:42), TKCHCDGNCVMCYQMQ (SEQ ID NO:43), TLAYETPLLWLP (SEQ ID NO:44), TNWHCNNDGSSCNVRA (SEQ ID NO:45), или CNLIVQGHC (SEQ ID NO: 46).

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 90% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. Например, маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 90% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 80% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. Например, маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 80% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 70% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. Например, маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся приблизительно 70% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность маскирующего пептида представляет собой аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. Например, аминокислотная последовательность маскирующего пептида представляет собой аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 5.

В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ

ID NO: 19. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 19.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 30 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 40 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVDPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида, содержащего аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида, выбранного из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида, выбранного из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида, выбранного из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A).

Линкеры

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 содержит линкер, например, спейсерный линкер. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к

CTLA4 содержит больше одного линкера, например, первый спейсерный линкер и второй спейсерный линкер. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 содержит линкер, содержащий расщепляемый пептид. Применяемый в данном документе термин «линкер, содержащий расщепляемый пептид» относится к ферментативно расщепляемому линкеру, ковалентно связанному с CTLA4-связывающим доменом и ковалентно связанному с маскирующим пептидом. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, рекомбинантно экспрессируется. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, представляет собой линкер, образованный путем реакции функциональной (реакционноспособной) группы, присоединенной к линкеру, с маскирующим пептидом с применением, например, химии конъюгатов. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, представляет собой линкер, образованный путем реакции функциональной (реакционноспособной) группы, присоединенной к линкеру, с CTLA4-связывающим доменом с применением, например, химии конъюгатов. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, соединяет маскирующий пептид с N-концом CTLA4-связывающего домена (например, N-концом легкой цепи). В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, соединяет маскирующий пептид с C-концом CTLA4-связывающего домена (например, C-концом легкой цепи).

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, слит с маскирующим пептидом, например, когда нуклеиновая кислота кодирует линкер и маскирующий пептид и экспрессируется в клетке в виде аминокислотной последовательности, кодирующей линкер и маскирующий пептид. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, слит с CTLA4-связывающим доменом, например, когда нуклеиновая кислота кодирует линкер и CTLA4-связывающий домен и экспрессируется в клетке в виде аминокислотной последовательности, кодирующей линкер и CTLA4-связывающий домен. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, соединяет маскирующий пептид с N-концом CTLA4-связывающего домена (например, N-концом легкой цепи). В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, соединяет маскирующий пептид с C-концом CTLA4-связывающего домена (например, C-концом легкой цепи).

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, представляет собой гибкий линкер, включающий в себя один или более остатков глицина, остатков серина, остатков аланина, остатков гистидина и/или остатков пролина. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит спейсерный линкер, непосредственно соединенный с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит один или более остатков глицина, остатков серина, остатков аланина, остатков гистидина и/или остатков пролина. В некоторых вариантах осуществления линкер,

содержащий расщепляемый пептид, содержит спейсерный линкер и расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит первый спейсерный линкер, расщепляемый пептид и второй спейсерный линкер. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления маскированный CTLA4-связывающий белок (например, маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент) содержит линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержащий спейсерный линкер (например, первый спейсерный линкер или спейсерный линкер 1), соединенный с N-концом расщепляемого пептида, и спейсерный линкер (например, второй спейсерный линкер или спейсерный линкер 2), соединенный с C-концом расщепляемого пептида, где каждый спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления C-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с легкой цепью или варибельным доменом легкой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, и N-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с маскирующим пептидом. В некоторых вариантах осуществления C-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с тяжелой цепью или варибельным доменом тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, и N-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с маскирующим пептидом. В некоторых вариантах осуществления N-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с легкой цепью или варибельным доменом легкой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, и C-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с маскирующим пептидом. В некоторых вариантах осуществления N-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с тяжелой цепью или варибельным доменом тяжелой цепи антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, и C-конец линкера, содержащего расщепляемый пептид, соединен с маскирующим пептидом.

В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом расщепляемого пептида и содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-100. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с C-концом расщепляемого пептида и содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 101-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид, описанный в данном документе, непосредственно соединен с N-концом спейсерного линкера. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер (например, спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из

аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420), 2) расщепляемый пептид, такой как описанный в данном документе (например, расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508), и 3) спейсерный линкер (например, спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420).

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 420; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 96; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 86, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 415; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 86, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 416; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 47, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 417; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 57, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 418; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 417; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 72, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 418; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит в направлении от N-конца к C-концу: 1) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 419; 2) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54, и 3) спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 454-462. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 454-462. В некоторых вариантах осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 454. В некоторых вариантах

осуществления линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 455.

Линкеры могут быть конъюгированы с маскирующим пептидом и/или CTLA4-связывающим белком посредством ряда способов, хорошо известных из уровня техники. Термины «конъюгат» и «химия конъюгатов» относятся к реакциям с известными реакционноспособными группами, которые протекают в относительно мягких условиях. К ним относятся без ограничения нуклеофильные замещения (например, реакции аминов и спиртов с ацилгалогенидами, активными сложными эфирами), электрофильные замещения (например, реакции с участием енаминов) и присоединения к кратным связям углерод-углерод и углерод-гетероатом (например, реакции Михаэля, реакция присоединения Дильса-Альдера). Эти и другие применимые реакции обсуждаются, например, в March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985; Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, 1996; и Feeney et al., *Modification of Proteins; Advances in Chemistry Series*, Vol. 198, American Chemical Society, Washington, D.C., 1982.

Применимые реакционноспособные функциональные группы, применяемые в данном документе для вариантов химии конъюгатов, например, включают: (a) карбоксильные группы и их различные производные, включая без ограничения сложные эфиры N-гидроксисукцинимиды, сложные эфиры N-гидроксибензотриазола, галогенангидриды, ацилимидазолы, сложные тиоэфиры, сложные эфиры п-нитрофенила, алкиловые, алкениловые, алкиниловые и ароматические сложные эфиры; (b) гидроксильные группы, которые могут быть превращены в сложные эфиры, простые эфиры, альдегиды и т. д.; (c) галоалкильные группы, где галогенид может быть впоследствии замещен нуклеофильной группой, такой как, например, амин, карбоксилат-анион, тиоловый анион, карбанион или алкоксид-ион, тем самым приводя к ковалентному присоединению новой группы по месту атома галогена; (d) диенофильные группы, которые способны участвовать в реакциях Дильса-Альдера, такие как, например, малеимидогруппы; (e) альдегидные или кетонные группы, так что возможна последующая дериватизация посредством образования карбонильных производных, таких как, например, имины, гидразоны, семикарбазоны или оксимы, или посредством таких механизмов, как реакция присоединения Гриньяра или реакция присоединения с алкиллитием; (f) сульфонилгалогенидные группы для последующей реакции с аминами, например, с образованием сульфаниламидов; (g) тиольные группы, которые можно превращать в дисульфиды, подвергать реакции с ацилгалогенидами или обеспечивать их связывание с металлами, такими как золото; (h) аминовые или сульфгидрильные группы, которые могут быть, например, ацилированы, алкилированы или окислены; (i) алкены, которые могут подвергаться, например, реакциям циклоприсоединения, ацилирования, присоединения по Михаэлю и т. д.; (j) эпоксиды, которые могут вступать в реакцию, например, с аминами и гидроксильными соединениями; (k) фосфорамидиты и другие стандартные функциональные группы, применимые в синтезе нуклеиновых кислот; (i)

образование связи металл-оксид кремния, и (1) образование связи металла с реакционноспособными группами фосфора (например, фосфинами) с образованием, например, фосфатно-диэфирных связей.

Реакционноспособные функциональные группы могут быть выбраны таким образом, чтобы они не влияли на химическую стабильность композиций, описанных в данном документе, и не мешали ей. В качестве альтернативы, реакционноспособная функциональная группа может быть защищена от участия в реакции сшивания присутствием защитной группы.

В некоторых вариантах осуществления линкеры могут быть сконструированы для слияния с маскирующим пептидом и/или CTLA4-связывающим белком посредством ряда способов, хорошо известных из уровня техники. Например, нуклеиновая кислота может быть сконструирована так, чтобы кодировать линкер с маскирующим пептидом и/или CTLA4-связывающим белком для получения слитого белка при рекомбинантной экспрессии в клетке-хозяине.

Расщепляемые пептиды

Маскированный CTLA4-связывающий белок (например, маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), предусмотренный в данном документе, в некоторых вариантах осуществления содержит расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержится в пределах линкера, содержащего расщепляемый пептид. Линкер, содержащий расщепляемый пептид, предусмотренный в данном документе, может включать сайт расщепления протеазой в пределах расщепляемого пептида. Применяемый в данном документе термин «сайт расщепления» относится к распознаваемому сайту для расщепления части линкера (например, линкера, содержащего расщепляемый пептид, как описано выше), находящемуся в CTLA4-связывающем белке, описанном в данном документе. Таким образом, сайт расщепления может находиться в последовательности расщепляемого пептида, описанного в данном документе, включая его варианты осуществления. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления представляет собой аминокислотную последовательность, которая распознается и расщепляется расщепляющим средством. Иллюстративные расщепляющие средства включают белки, ферменты, дезоксирибозимы, рибозимы, металлы, кислоты и основания. Расщепляемый пептид может представлять собой любой пептид, который содержит сайт расщепления протеазой. Иллюстративные расщепляемые пептиды показаны в таблице 1.

Таблица 1. Репрезентативные расщепляемые пептиды

Иллюстративные расщепляемые пептиды			
MPYDLYHP (SEQ ID NO:47)	IDRAAAVKSP (SEQ ID NO:72)		IYDQKT (SEQ ID NO: 481)
GGIGQLTA (SEQ ID NO:48)	DLLAVVAAS (SEQ ID NO:48)		AHNYKT (SEQ ID NO: 482)

	NO:73)	
DLGRFQTF (SEQ ID NO:49)	VQTVTWPDP (SEQ ID NO:74)	MMDQAN (SEQ ID NO: 483)
DSGGFMLT (SEQ ID NO:50)	AIPMSIPP (SEQ ID NO:75)	MLGEFVSE (SEQ ID NO: 484)
TSVLMAAP (SEQ ID NO:51)	GYEVHHQK (SEQ ID NO:76)	GLVALRGA (SEQ ID NO: 485)
TSEFVFAPDQ (SEQ ID NO:52)	VHHQKLVF (SEQ ID NO:77)	KEHKYKAE (SEQ ID NO: 486)
KLVLPLVP (SEQ ID NO:53)	IRRVSYSF (SEQ ID NO:78)	LAQAVRSS (SEQ ID NO: 487)
KPILFFRL (SEQ ID NO:54)	MPYDLYHPILFFRL (SEQ ID NO:79)	LGGSGRSNAQVRLE (SEQ ID NO: 488)
ANQLKG (SEQ ID NO:55)	GGIGQLTSVLMAAP (SEQ ID NO:80)	LGGSGRKASLSLE (SEQ ID NO: 489)
QSQLKE (SEQ ID NO:56)	DSGGFMLTLVLPLVP (SEQ ID NO:81)	SGRIGFLRTA (SEQ ID NO: 490)
HEQLTV (SEQ ID NO:57)	TSEFVFAPDLGRFQTF (SEQ ID NO:82)	SGAIGFLRTA (SEQ ID NO: 491)
PANLVAPDP (SEQ ID NO:58)	TSTSGRSANPR (SEQ ID NO:83)	RPARSGRSAGGSVA (SEQ ID NO: 492)
PAPGVYPGP (SEQ ID NO:59)	TSTSGRSANPG (SEQ ID NO:84)	VTGRGDSPASS (SEQ ID NO: 493)
APAGLIVPYN (SEQ ID NO:60)	TSTSGRSANPH (SEQ ID NO:85)	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 494)
PQALVA (SEQ ID NO:61)	VPLSLY (SEQ ID NO:86)	LSGRIGFLRTA (SEQ ID NO: 495)
VGNLNF (SEQ ID NO:62)	TSASGASASAA (SEQ ID NO:87)	LSGRSNAGGIGQLTA (SEQ ID NO: 496)
VANLLYE (SEQ ID NO:63)	PSSPGGGSSP (SEQ ID NO:88)	LSGRSNAVPLSLY (SEQ ID NO: 497)
VYNLMD (SEQ ID NO:64)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO:464)	LSGRSNADSGGFMLT (SEQ ID NO: 498)
TFNIKQ (SEQ ID NO:65)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 465)	LSGRSNAHEQLTA (SEQ ID NO: 499)
DLWKLLP (SEQ ID NO:66)	VPLSLYSG (SEQ ID NO: 466)	LSGRSNARAAVKSP (SEQ ID NO: 500)

PGSTKRA (SEQ ID NO:67)	RQARVVG (SEQ ID NO: 467)	LSGRSNATSVLMAAP (SEQ ID NO: 501)
QQYRALKS (SEQ ID NO:68)	LSGRSNAMPYDLYHP (SEQ ID NO: 468)	VPLSLYLSGRSNA (SEQ ID NO: 502)
YVPRAVL (SEQ ID NO:69)	MPYDLYHPRQARVVG (SEQ ID NO: 469)	DSGGFMLTSLGRSNA (SEQ ID NO: 503)
GVNKPWT (SEQ ID NO:70)	IPESLRAG (SEQ ID NO: 479)	GGIGQLTALSGRSNA (SEQ ID NO: 504)
LAQAVRSS (SEQ ID NO:71)	IPVSLRSG (SEQ ID NO: 480)	MPYDLYHPLSGRSNA (SEQ ID NO: 505)
		HEQLTVLSGRSNA (SEQ ID NO: 506)
		RAAAVKSPSLSGRSNA (SEQ ID NO: 507)
		TSVLMAAPLSGRSNA (SEQ ID NO: 508)

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 48. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 72. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой опухоль-ассоциированный сайт расщепления протеазой. «Опухоль-ассоциированный сайт расщепления протеазой», предусмотренный в данном документе, представляет собой аминокислотную последовательность, распознаваемую протеазой, экспрессия которой является специфической для опухолевой клетки или окружения опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой

представляет собой сайт расщепления, распознаваемый одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из: ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSB, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP1, PAPP2, PCSK1, NAPS1, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1, и TPSG1. В некоторых вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой сайт расщепления, распознаваемый одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPS1, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3.

В вариантах осуществления сайт расщепления протеазой представляет собой сайт расщепления матриксной металлопротеиназы (MMP), сайт расщепления металлопротеиназой, содержащей домен дизинтегрин и металлопротеиназы (ADAM), сайт расщепления протеазой для простат-специфического антигена (PSA), сайт расщепления протеазой для активатора плазминогена урокиназного типа (uPA), сайт расщепления протеазой для сериновой протеазы 1 мембранного типа (MT-SP1), сайт расщепления протеазой для матриптазы (ST14) или сайт расщепления протеазой для легумаина. В вариантах осуществления сайт расщепления матриксной металлопротеиназой (MMP) представляет собой сайт расщепления MMP9, сайт расщепления MMP13 или сайт расщепления MMP2. В вариантах осуществления сайт расщепления металлопротеиназой, содержащей домен дизинтегрин и металлопротеиназы (ADAM), представляет собой сайт расщепления металлопротеиназой ADAM9, сайт расщепления металлопротеиназой ADAM10 или сайт расщепления металлопротеиназой ADAM17. Сайты расщепления протеазой могут быть обозначены определенной аминокислотной последовательностью.

290. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ABHD12, ADAM12, ABHD12B, ABHD13, ABHD17A, ADAM19, ADAM20, ADAM21, ADAM28, ADAM30, ADAM33, ADAM8, ABHD17A, ADAMDEC1, ADAMTS1, ADAMTS10, ADAMTS12, ADAMTS13, ADAMTS14, ADAMTS15, ADAMTS16, ADAMTS17, ADAMTS18, ADAMTS19, ADAMTS2, ADAMTS20, ADAMTS3, ADAMTS4, ABD17B, ADAMTS5, ADAMTS6, ADAMTS7, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTSL1, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ABHD17C, ADAMTSL5, ASTL, BMP1, CELA1, CELA2A, CELA2B, CELA3A, CELA3B, ADAM10, ADAM15, ADAM17, ADAM9, ADAMTS4, CTSE, CTSF, ADAMTSL4, CMA1, CTRB1, CTRC, CTSO, CTRL, CTSA, CTSW, CTSB, CTSC, CTSD, ESP1, CTSG, CTSH, GZMA, GZMB, GZMH, CTSK, GZMM, CTSL, CTSS, CTSV, CTSZ, HTRA4, KLK10, KLK11, KLK13, KLK14, KLK2, KLK4, DPP4, KLK6, KLK7, KLKB1, ECE1, ECE2, ECEL1, MASP2, MEP1A, MEP1B, ELANE, FAP, GZMA, MMP11, GZMK, HGFAC, HPN, HTRA1, MMP11, MMP16, MMP17, MMP19, HTRA2, MMP20, MMP21, HTRA3, HTRA4, KEL, MMP23B, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28, KLK5, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, LGMN, LNPEP, MASP1, PAPP, PAPP2, PCSK1, NAPSA, PCSK5, PCSK6, MME, MMP1, MMP10, PLAT, PLAU, PLG, PRSS1, PRSS12, PRSS2, PRSS21, PRSS3, PRSS33, PRSS4, PRSS55, PRSS57, MMP12, PRSS8, PRSS9, PRTN3, MMP13, MMP14, ST14, TMPRSS10, TMPRSS11A, TMPRSS11D, TMPRSS11E, TMPRSS11F, TMPRSS12, TMPRSS13, MMP15, TMPRSS15, MMP2, TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4, TMPRSS5, TMPRSS6, TMPRSS7, TMPRSS9, NRDC, OVCH1, PAMR1, PCSK3, PHEX, TINAG, TPSAB1, TPSD1, и TPSG1. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид расщепляется одним или более ферментами, выбранными из группы, состоящей из ADAM17, HTRA1, PRSS1, FAP, GZMK, NAPSA, MMP1, MMP2, MMP9, MMP10, MMP7, MMP12, MMP28, ADAMTS9, HGFAC и HTRA3.

В вариантах осуществления расщепляемый пептид представляет собой 5-мер (т. е. пептид длиной 5 аминокислот), 6-мер (т. е. пептид длиной 6 аминокислот), 7-мер (т. е. пептид длиной 7 аминокислот), 8-мер (т. е. пептид длиной 8 аминокислот), 9-мер (т. е. пептид длиной 9 аминокислот), 10-мер (т. е. пептид длиной 10 аминокислот), 11-мер (т. е. пептид длиной 11 аминокислот), 12-мер (т. е. пептид длиной 12 аминокислот) или 13-мер (т. е. пептид длиной 13 аминокислот).

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид и линкер, содержащий расщепляемый пептид, содержат в направлении от N-конца к C-концу: 1) маскирующий пептид (например, маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 1-46), 2) спейсерный линкер (например, спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420), 3) расщепляемый пептид, такой как описанный в данном документе (например, расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из

аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508), и 4) спейсерный линкер (например, спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 30 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 40 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, спейсерный линкер и расщепляемый пептид, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, спейсерный линкер и расщепляемый пептид, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 113-193. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, спейсерный линкер и расщепляемый пептид, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 194-206. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, спейсерный линкер и расщепляемый пептид, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 207-231.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид,

содержащий маскирующий пептид, первый спейсерный линкер, расщепляемый пептид и второй спейсерный линкер, где пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231, 444, 446-448 и 450-453. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, первый спейсерный линкер, расщепляемый пептид и второй спейсерный линкер, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231, 444, 446-448 и 450-453. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, первый спейсерный линкер, расщепляемый пептид и второй спейсерный линкер, где пептид содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 444, 446-448 и 450-453. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, содержит пептид, содержащий маскирующий пептид, первый спейсерный линкер, расщепляемый пептид и второй спейсерный линкер, где пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 444, 446-448 и 450-453.

Иллюстративные маскированные CTLA4-связывающие белки

Далее описываются определенные иллюстративные варианты осуществления маскированных CTLA4-связывающих белков, характеризующихся определенными свойствами, как описано выше. Эти варианты осуществления являются только иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничивающие.

В данном документе предусмотрено в некоторых вариантах осуществления маскированное антитело, содержащее а) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4 (например, человеческим CTLA4), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь, и б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом или карбокси концом первой цепи или второй цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, представляют собой любые антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. В некоторых вариантах

осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат две первые цепи и две вторые цепи. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой легкую цепь, и вторая цепь представляет собой тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Также в данном документе предусмотрено в некоторых вариантах осуществления маскированное антитело, содержащее а) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4 (например, человеческим CTLA4), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь, и б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом первой цепи и второй цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, представляют собой любые антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат две первые цепи и две вторые цепи. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой легкую цепь, и вторая цепь представляет собой тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно

соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Дополнительно в данном документе предусмотрено в некоторых вариантах осуществления маскированное антитело, содержащее антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4 (например, человеческим CTLA4), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат первую цепь и вторую цепь, и b) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с карбоксиконцом первой цепи и второй цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, представляют собой любые антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат две первые цепи и две вторые цепи. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой легкую цепь, и вторая цепь представляет собой тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом

маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVDPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Дополнительно в данном документе предусмотрено в некоторых вариантах осуществления маскирующее антитело, содержащее а) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4 (например, человеческим CTLA4), б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с С-концом или N-концом первой цепи антитела, и маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с С-концом или N-концом второй цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CTLA4, представляют собой любые антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления а) первая цепь антитела представляет собой легкую цепь и вторая цепь антитела представляет собой легкую цепь; б) первая цепь антитела представляет собой тяжелую цепь и вторая цепь антитела представляет собой тяжелую цепь, или с) первая цепь антитела представляет собой легкую цепь и вторая цепь антитела представляет собой тяжелую цепь. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления выделенное антитело содержит маскирующий пептид на С-конце и/или N-конце каждой из двух легких цепей и на С-конце и/или N-конце каждой из двух тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или С-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVDPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Также в данном документе предусмотрено в некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие:

а) антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область легкой цепи, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443;

б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, и в) расщепляемый пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401). В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид соединен с расщепляемым пептидом, и расщепляемый пептид соединен с переменной областью легкой цепи или переменной областью тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержат спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, который соединяет маскирующий пептид с расщепляемым пептидом, и дополнительно содержит спейсерный линкер, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, который соединяет расщепляемый пептид с переменной областью легкой цепи или переменной областью тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер, который соединяет маскирующий пептид с расщепляемым пептидом, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 420, и спейсерный линкер, который соединяет

расщепляемый пептид с вариабельной областью легкой цепи или вариабельной областью тяжелой цепи, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер, который соединяет маскирующий пептид с расщепляемым пептидом, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 96, и спейсерный линкер, который соединяет расщепляемый пептид с вариабельной областью легкой цепи или вариабельной областью тяжелой цепи, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 324. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231 и 444-453. В некоторых вариантах осуществления маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421, и содержат аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431.

В одном аспекте в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В дополнительном аспекте в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 237-318, и/или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 319 или 320.

В одном аспекте в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 322, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID

NO: 324. В дополнительном аспекте в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327-341, и/или содержащие тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366-380, 421 и 478. В еще другом дополнительном аспекте в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327, 334 или 342-365, и/или содержащие тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366 или 380-397. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 334, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 327, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 478.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, характеризующаяся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности, содержит замены, вставки или делеции по сравнению с эталонной последовательностью, но антитело, содержащее эту аминокислотную последовательность, сохраняет способность связываться с CTLA4 (например, человеческим CTLA4). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции (например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот) происходят в областях за пределами HVR (т. е. в FR). В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат

вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, характеризующаяся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности, содержит замены, вставки или делеции по сравнению с эталонной последовательностью, но антитело, содержащее эту аминокислотную последовательность, сохраняет способность связываться с CTLA4 (например, человеческим CTLA4). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции (например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот) происходят в областях за пределами HVR (т. е. в FR). В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие а) аминокислотную последовательность, содержащую маскирующий пептид, линкер, содержащий расщепляемый пептид, и легкую цепь, и аминокислотную последовательность, содержащую тяжелую цепь. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, содержащая маскирующий пептид, линкер, содержащий расщепляемый пептид, и легкую цепь, выбрана из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358, 422, 424-426 и 428-431. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, содержащая тяжелую цепь,

содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, содержащая маскирующий пептид, линкер, содержащий расщепляемый пептид, и легкую цепь, выбрана из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358, 422, 424-426 и 428-431, и аминокислотная последовательность, содержащая тяжелую цепь, содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431, и/или содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431, и содержат аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431, и/или содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 358 и 422-431, и содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 422, и содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%,

75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 422 и аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 358, и содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 358 и аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 423, и содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 423 и аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 424, и содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся или характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или

характеризующуюся приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% гомологией по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 421. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 431 и аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 421.

Существуют пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, содержащие тяжелые цепи, обозначенные как α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Классы γ и α дополнительно подразделяются на подклассы, например, у людей экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Антитела IgG1 могут существовать в виде множества полиморфных вариантов, называемых аллотипами (обзор в Jefferis and Lefranc 2009. mAbs Vol 1 Issue 4 1-7), любые из которых являются подходящими для применения в некоторых из вариантов осуществления в данном документе. Часто встречающиеся аллотипические варианты в человеческих популяциях представляют собой таковые, обозначенные буквами a, f, n, z или их комбинациями. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, предусмотренные в данном документе, относятся к изотипу IgG1 (например, изотипу IgG1 человека). В некоторых вариантах осуществления антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 235 или 236. В некоторых вариантах осуществления антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 326. В некоторых вариантах осуществления антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 463.

В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент связывают CTLA4 при расщеплении протеазой, такой как протеаза, описанная в данном документе. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид представляет собой субстрат для протеазы, который локализуется вместе с ней в области клетки или ткани, в которых экспрессируется CTLA4.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрены полинуклеотиды, кодирующие активируемые маскированные антитела к CTLA4 или их антигенсвязывающие фрагменты. В определенных вариантах осуществления предусмотрены векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие активируемые маскированные антитела к CTLA4 или их антигенсвязывающие фрагменты. В определенных вариантах осуществления предусмотрены клетки-хозяева, содержащие такие векторы. В другом аспекте настоящего изобретения предусмотрены композиции, содержащие активируемые маскированные антитела к CTLA4, описанные в данном

документе, или полинуклеотиды, кодирующие активируемые маскированные антитела к CTLA4, описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления композиция по настоящему изобретению представляет собой фармацевтический состав для лечения неопластического заболевания, при котором играет роль CTLA4, такого как перечисленные в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок, предусмотренный в данном документе, представляет собой биспецифическое антитело, способное связываться с CTLA4. Биспецифические антитела представляют собой моноклональные антитела, которые характеризуются специфичностями связывания в отношении по меньшей мере двух разных антигенов. В некоторых вариантах осуществления одна из специфичностей связывания предназначена для CTLA4, и другая предназначена для любого другого антигена. В определенных вариантах осуществления биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами CTLA4.

В некоторых аспектах в данном документе предусмотрено маскированное биспецифическое антитело, содержащее а) легкую цепь и тяжелую цепь первой пары, которая специфически связывается с CTLA4; б) легкую цепь и тяжелую цепь второй пары, которая специфически связывается с антигеном, и с) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом легкой цепи и/или тяжелой цепи первой пары. В некоторых аспектах в данном документе предусмотрено маскированное биспецифическое антитело, содержащее а) легкую цепь и тяжелую цепь первой пары, которая специфически связывается с CTLA4; б) легкую цепь и тяжелую цепь второй пары, которая специфически связывается с антигеном, и с) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с карбоксиконцом легкой цепи и/или тяжелой цепи первой пары. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой антиген, отличный от CTLA4. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь первой пары или второй пары представляет собой любую легкую цепь, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь первой пары или второй пары представляет собой любую легкую цепь, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь первой пары содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и тяжелая цепь первой пары содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь второй пары содержит CDR-L1, содержащую

аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 438, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 439, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 440, и тяжелая цепь второй пары содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 441, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 442, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 443. В некоторых вариантах осуществления антиген относится к другому эпитопу CTLA4. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Биспецифические антитела, предусмотренные в данном документе для применения в маскированных биспецифических антителах, включают мышинные биспецифические антитела, гуманизированные биспецифические антитела, химерные биспецифические антитела и человеческие биспецифические антитела. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе биспецифическое антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело, предусмотренное в данном документе, относится к изотипу IgG1 (например, изотипу IgG1 человека). В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1, предусматривающему аминокислотные замены, или экспрессируется клетками, которые практически не обладают способностью или характеризуются сниженной способностью фукозиллировать гликан Fc, что усиливает эффекторную функцию, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления маскированное биспецифическое антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 235 или 236. В некоторых вариантах осуществления маскированное биспецифическое антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 326. В некоторых

вариантах осуществления маскированное биспецифическое антитело, предусмотренное в данном документе, содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 463.

В одном аспекте в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В дополнительном аспекте в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 237-318, и/или тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 319 или 320.

В одном аспекте в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324. В дополнительном аспекте в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327-341, и/или содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366-380, 421 и 478. В еще другом дополнительном аспекте в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 327, 334 или 342-365, и/или содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 366 или 380-397.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей

под SEQ ID NO: 323 или 324. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, характеризующаяся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности, содержит замены, вставки или делеции по сравнению с эталонной последовательностью, но антитело, содержащее эту аминокислотную последовательность, сохраняет способность связываться с CTLA4 (например, человеческим CTLA4). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции (например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот) происходят в областях за пределами HVR (т. е. в FR). В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 содержит переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 232. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрено активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, содержащее переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности по отношению к аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность, характеризующаяся по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью последовательности, содержит замены, вставки или делеции по сравнению с эталонной последовательностью, но антитело, содержащее эту аминокислотную последовательность, сохраняет способность связываться с CTLA4 (например, человеческим CTLA4). В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции (например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот) происходят в областях за пределами HVR (т. е. в FR). В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 содержит переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 содержит переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322.

В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий белок, предусмотренный в данном документе, представляет собой химерный рецептор (например, химерный антигенный рецептор (CAR)), способный связываться с CTLA4. CAR представляют собой молекулы, которые комбинируют основанную на антителах специфичность в отношении желаемого антигена (например, CTLA4) с внутриклеточным доменом, активирующим Т-клеточный рецептор, с получением химерного белка, который демонстрирует специфическую противоопухолевую клеточную активность. В одном варианте осуществления в данном документе предусмотрен химерный рецептор, сконструированный таким образом, чтобы содержать внеклеточный домен, содержащий CTLA4-связывающий домен, описанный в данном документе, слитый с внутриклеточным сигнальным доменом дзета-цепи комплекса Т-клеточного антигенного рецептора (например, CD3-дзета). CTLA4-связывающий домен сконструирован таким образом, что он соединен с маскирующим пептидом, таким как описанный в данном документе, через линкер, содержащий расщепляемый пептид. Активируемый маскированный химерный рецептор, предусмотренный в данном документе, при экспрессии в Т-клетке способен перенаправлять распознавание антигена, основанное на специфичности связывания антигена, при расщеплении протеазой, распознающей расщепляемый пептид. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий домен предпочтительно слит с внутриклеточным доменом из одного или более из костимулирующей молекулы и дзета-цепи. В некоторых вариантах осуществления CTLA4-связывающий домен слит с одним или более внутриклеточными доменами, выбранными из группы сигнального домена CD137 (4-1BB), сигнального домена CD28, сигнального домена CD3-дзета и любой их комбинации.

В некоторых аспектах в данном документе предусмотрен маскированный химерный рецептор, содержащий а) лиганд-связывающий домен, содержащий первую цепь и вторую цепь, который связывается с CTLA4; б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, в) трансмембранный домен и д) внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальный домен, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с аминоконцом первой цепи и/или второй цепи лиганд-связывающего домена. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых из вариантов осуществления активируемых маскированных химерных рецепторов, описанных в данном документе, первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324.

В некоторых аспектах в данном документе предусмотрен маскированный химерный рецептор, содержащий а) лиганд-связывающий домен, содержащий первую цепь и вторую цепь, который связывается с CTLA4; б) маскирующий пептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, в) трансмембранный домен и д) внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальный домен, где маскирующий пептид соединен через линкер, содержащий расщепляемый пептид, с карбоксиконцом первой цепи и/или второй цепи лиганд-связывающего домена. В некоторых вариантах осуществления первая цепь представляет собой переменный домен легкой цепи, и вторая цепь представляет собой переменный домен тяжелой цепи. В некоторых из вариантов осуществления активируемых маскированных химерных рецепторов, описанных в данном документе, первая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 232, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 233. В некоторых вариантах осуществления первая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 321 или 322, и/или вторая цепь содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 323 или 324.

В некоторых из вариантов осуществления активируемых маскированных химерных рецепторов, описанных в данном документе, расщепляемый пептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер непосредственно соединен с N-концом и/или C-концом расщепляемого пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсерный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, но не более 20, 30, 40 или 50 аминокислот непосредственно соединены с N-концом маскирующего пептида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота представляет собой аланин (A) или глицин-аланин (GA). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой выявляемую метку. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна аминокислота, непосредственно соединенная с N-концом маскирующего пептида, представляет собой YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 398), DYKDDDDK (SEQ ID NO: 399), EQKLISEEDL (SEQ ID NO: 400) или GLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 401).

Иллюстративное активируемое маскированное антитело к CTLA4, описанное в данном документе, представляет собой антитело А. Антитело А содержит следующие последовательности CDR:

Антитело А	IMGT	Kabat
HCDR1	GYTFTNYF	NYFMN

HCDR2	VDPEQGRAD	RVDPEQGRADYAEKFKK
HCDR3	RRAMDNYGFAY	RAMDNYGFAY
LCDR1	SALSYM	SANSALSXY
LCDR2	GTS	GTSNLAS
LCDR3	HHWSNTQ	HHWSNTQWT

Варибельная легкая цепь антитела А:

EIVLTQSPDF QSVTPKEKVT ITCSANSALS YMYWYQQKPD QSPKLWVHGT
SNLASGVPSR FSGSGSGTDF TLTINSLEAE DAATYYCHHW SNTQWTFGGG TKVEIK

Легкая цепь антитела А:

ACPGKGLPSCGGGSSGGSGVPLSLYSGGEIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSANSA
LSYMYWYQQKPDQSPKLWVHGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYY
CHHWSNTQWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC

Варибельная тяжелая цепь антитела А:

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT NYFMNWVRQA PGQGLEWMGR
VDPEQGRADY AEKFKKRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRA
MDNYGFAYWG QGTLVTVSS

Тяжелая цепь антитела А:

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFT NYFMNWVRQA PGQGLEWMGR
VDPEQGRADY AEKFKKRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRA
MDNYGFAYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
YFPEPVTISW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTQTY
ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP DVFLFPPKPK
DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPEEKTISK AKGQPREPQV
YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KLSLSLSPGK

В некоторых вариантах осуществления активируемый CTLA4-связывающий белок предусматривает антитело А.

1. Аффинность связывания

Сила или аффинность взаимодействий при иммунологическом связывании, например, между антителом и антигеном, по отношению к которому антитело является специфическим, могут выражаться в виде равновесной константы диссоциации (K_D) взаимодействия, где более низкое значение K_D соответствует более высокой аффинности. Свойства иммунологического связывания белков могут количественно определяться с применением способов, хорошо известных из уровня техники. Например, один способ включает измерение показателей скорости образования и диссоциации комплекса антигенсвязывающий белок (например, антитело)/антиген, где данные показатели

скорости зависят от показателей концентрации партнеров комплекса, аффинности взаимодействия и геометрических параметров, которые в равной степени влияют на скорость в обоих направлениях. Как «константа скорости ассоциации» (K_{on}), так и «константа скорости диссоциации» (K_{off}) могут определяться посредством расчета показателей концентрации и фактических показателей скорости ассоциации и диссоциации. Соотношение K_{off}/K_{on} обеспечивает сокращение всех параметров, не относящихся к аффинности, и равняется равновесной константе диссоциации K_D . См. Davies et al., *Annual Rev Biochem.* 59:439-473, (1990).

В некоторых аспектах активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе, связывается с CTLA4 с приблизительно такой же или более высокой аффинностью при расщеплении протеазой по сравнению с исходным связывающим белком к CTLA4, который не содержит расщепляемый пептид. В определенных вариантах осуществления связывающий белок к CTLA4, предусмотренный в данном документе, характеризуется равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей ≤ 1 мкМ, ≤ 150 нМ, ≤ 100 нМ, ≤ 50 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-8} М или меньше, например от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах осуществления связывающий белок к CTLA4 (например, антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), предусмотренный в данном документе, связывается с целевым белком (например, белком CTLA4) с равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей от приблизительно 50 пМ до приблизительно 5 нМ. Анализы для оценки аффинности связывания хорошо известны из уровня техники.

В некоторых аспектах предусмотрены активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), которые демонстрируют желаемый коэффициент окклюзии. Применяемый в данном документе термин «коэффициент окклюзии» относится к соотношению (а) максимального выявленного уровня параметра при первой группе условий и (b) минимального выявленного уровня данного параметра при второй группе условий. Например, в контексте активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента коэффициент окклюзии относится к соотношению (а) максимального выявленного уровня связывания целевого белка (например, белка CTLA4) с активируемым маскированным антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом в присутствии по меньшей мере одной протеазы, способной к расщеплению расщепляемого пептида активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, и (b) минимального выявленного уровня связывания целевого белка (например, белка CTLA4) с активируемым маскированным антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом в отсутствие протеазы. Коэффициент окклюзии активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента можно

рассчитать в виде соотношения константы диссоциации активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента до расщепления протеазой и константы диссоциации активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента после расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления более высокий коэффициент окклюзии для активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента указывает на то, что связывание целевого белка (например, белка CTLA4) активируемым маскированным антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом происходит в большей степени (например, происходит преимущественно) в присутствии протеазы, способной к расщеплению расщепляемого пептида активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента, чем в отсутствие протеазы. В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрены активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 с оптимальным коэффициентом окклюзии. В некоторых вариантах осуществления оптимальный коэффициент окклюзии активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента указывает на то, что активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент обладают желательными свойствами, применимыми для способов или композиций, предусмотренных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, предусмотренный в данном документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, составляющий от приблизительно 20 до приблизительно 10000, например, от приблизительно 80 до приблизительно 100. В дополнительном варианте осуществления коэффициент окклюзии составляет от приблизительно 20 до приблизительно 7500, от приблизительно 20 до приблизительно 5000, от приблизительно 20 до приблизительно 2500, от приблизительно 20 до приблизительно 2000, от приблизительно 20 до приблизительно 1000, от приблизительно 20 до приблизительно 900, от приблизительно 20 до приблизительно 800, от приблизительно 20 до приблизительно 700, от приблизительно 20 до приблизительно 600, от приблизительно 20 до приблизительно 500, от приблизительно 20 до приблизительно 400, от приблизительно 20 до приблизительно 300, от приблизительно 20 до приблизительно 200, от приблизительно 20 до приблизительно 100, от приблизительно 20 до приблизительно 50, от приблизительно 30 до приблизительно 100, от приблизительно 40 до приблизительно 100, от приблизительно 50 до приблизительно 100, от приблизительно 60 до приблизительно 100, от приблизительно 70 до приблизительно 100, от приблизительно 80 до приблизительно 100 или от приблизительно 100 до приблизительно 1000. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, предусмотренный в данном документе, демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, составляющий от приблизительно 80 до приблизительно 100. В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, предусмотренный в данном документе,

демонстрирует оптимальный коэффициент окклюзии, составляющий от приблизительно 20 до приблизительно 1000. Связывание активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 с целевым белком (например, белком CTLA4) до расщепления и/или после расщепления протеазой можно определять с применением методик, хорошо известных из уровня техники, например, посредством ELISA.

В некоторых аспектах маскирующий пептид, описанный в данном документе, связывается со связывающим белком к CTLA4 (например, антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом) с более низкой аффинностью, чем аффинность между связывающим белком к CTLA4 и целевым белком (например, белком CTLA4). В определенных вариантах осуществления маскирующий пептид, предусмотренный в данном документе, связывается со связывающим белком к CTLA4 (например, антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом) с равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей ≤ 1 мМ, ≤ 1 мкМ, ≤ 150 нМ, ≤ 100 нМ, ≤ 50 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, $\leq 0,1$ нМ, $\leq 0,01$ нМ или $\leq 0,001$ нМ (например 10^{-5} М или меньше, например от 10^{-5} М до 10^{-13} М, например от 10^{-5} М до 10^{-7} М). В некоторых вариантах осуществления маскирующий пептид, предусмотренный в данном документе, связывается со связывающим белком к CTLA4 (например, антителом к CTLA4 или его антигенсвязывающим фрагментом) с равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей от приблизительно 50 нМ до приблизительно 50 мкМ. Анализы для оценки аффинности связывания хорошо известны из уровня техники, например, такие как ELISA и поверхностный плазменный резонанс (SPR).

2. Анализы биологической активности

В некоторых аспектах активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе, обеспечивает снижение объема опухоли на мышинной модели опухоли *in vivo*.

Pd1, белок запрограммированной гибели 1 (PD-1)

Белок запрограммированной гибели 1 (PD-1) (также известный как белок запрограммированной клеточной гибели 1) представляет собой трансмембранный белок I типа из 268 аминокислот, изначально идентифицированный посредством вычитающей гибридизации в линии Т-клеток мыши, претерпевающих апоптоз (Ishida et al., *Embo J.*, 11: 3887-95 (1992)). PD-1 является представителем семейства CD28/CTLA-4 Т-клеточных регуляторов и экспрессируется на активированных Т-клетках, В-клетках и клетках миелоидной линии дифференцировки (Greenwald et al., *Annu. Rev. Immunol.*, 23: 515-548 (2005) и Sharpe et al., *Nat. Immunol.*, 8: 239-245 (2007)). PD-1 является ингибирующим представителем семейства рецепторов CD28, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al., выше; Okazaki et al. (2002) *Curr. Opin. Immunol* 14:391779-82; Bennett et al. (2003) *J Immunol* 170:711-8).

Были идентифицированы два лиганда для PD-1, лиганд-1 для PD (PD-L1) и лиганд-2 для PD (PD-L2), оба принадлежащие к суперсемейству белка B7 (Greenwald et al., выше).

PD-L1 экспрессируется в ряде типов клеток, включая клетки легкого, сердца, тимуса, селезенки и почки (см., например, Freeman et al., *J. Exp. Med.*, 192(7): 1027-1034 (2000) и Yamazaki et al., *J. Immunol.*, 169(10): 5538-5545 (2002)). Экспрессия PD-L1 повышается на макрофагах и дендритных клетках (DC) в ответ на обработку липополисахаридом (LPS) и GM-CSF, и на Т-клетках и В-клетках при передаче сигнала через Т-клеточные и В-клеточные рецепторы. PD-L1 также экспрессируется в ряде линий мышинных опухолевых клеток (см., например, Iwai et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 99(9): 12293-12297 (2002) и Blank et al., *Cancer Res.*, 64(3): 1140-1145 (2004)). Напротив, PD-L2 демонстрирует более ограниченный паттерн экспрессии и экспрессируется преимущественно антигенпрезентирующими клетками (например, дендритными клетками и макрофагами) и некоторыми линиями опухолевых клеток (см., например, Latchman et al., *Nat. Immunol.*, 2(3): 261-238 (2001)). Высокий уровень экспрессии PD-L1 в опухолях, будь то в опухолевых клетках, строме или других клетках в пределах микроокружения опухоли, коррелирует с неблагоприятным клиническим прогнозом, предположительно за счет ингибирования эффекторных Т-клеток и активации регуляторных Т-клеток (Treg) в опухоли.

PD-1 негативно регулирует активацию Т-клеток, и эта ингибирующая функция связана с иммунорецепторным переключающим мотивом на основе тирозина (ITSM) в цитоплазматическом домене (см., например, Greenwald et al., выше; и Parry et al., *Mol. Cell. Biol.*, 25: 9543-9553 (2005)). Недостаточность PD-1 может привести к аутоиммунитету. Например, было показано, что у мышей C57BL/6 с нокаутом гена PD-1 развивается волчаночноподобный синдром (см., например, Nishimura et al., *Immunity*, 11: 141-1151 (1999)). У людей однонуклеотидный полиморфизм в гене PD-1 ассоциирован с более высокими показателями частоты возникновения системной красной волчанки, диабета 1 типа, ревматоидного артрита и прогрессирования рассеянного склероза (см., например, Nielsen et al., *Tissue Antigens*, 62(6): 492-497 (2003); Bertsias et al., *Arthritis Rheum.*, 60(1): 207-218 (2009); Ni et al., *Hum. Genet.*, 121(2): 223-232 (2007); Tahoori et al., *Clin. Exp. Rheumatol.*, 29(5): 763-767 (2011) и Kroner et al., *Ann. Neurol.*, 58(1): 50-57 (2005)). Аномальная экспрессия PD-1 также связана с дисфункцией Т-клеток при нескольких патологиях, таких как уклонение опухоли от распознавания иммунной системой и хронические вирусные инфекции (см., например, Barber et al., *Nature*, 439: 682-687 (2006) и Sharpe et al., выше).

Недавние исследования демонстрируют, что подавление Т-клеток, индуцированное PD-1, также играет роль в подавлении противоопухолевого иммунитета. Например, PD-L1 экспрессируется в ряде опухолей человека и мыши, и связывание PD-1 с PD-L1 в опухолях приводит к подавлению Т-клеток, уклонению опухоли от распознавания иммунной системой и защите (Dong et al., *Nat. Med.*, 8: 793-800 (2002)). Экспрессия PD-L1 опухолевыми клетками непосредственно ассоциирована с их устойчивостью к лизису с помощью противоопухолевых Т-клеток *in vitro* (Dong et al., выше; и Blank et al., *Cancer Res.*, 64: 1140-1145 (2004)). Мыши с нокаутом гена PD-1 являются устойчивыми к

стимуляции опухоли (Iwai et al., *Int. Immunol.*, 17: 133-144 (2005)), и Т-клетки от мышей с нокаутом гена PD-1 являются высокоэффективными в обеспечении отторжения опухоли при адаптивном переносе мышам, несущим опухоли (Blank et al., выше). Блокирование ингибирующих сигналов PD-1 с применением моноклонального антитела может потенцировать противоопухолевый иммунитет хозяина у мышей (Iwai et al., выше; и Hirano et al., *Cancer Res.*, 65: 1089-1096 (2005)), и высокие уровни экспрессии PD-L1 в опухолях ассоциированы с неблагоприятным прогнозом для многих типов рака человека (Hamanishi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 3360-3365 (2007), Brown et al., *J. Immunol.*, 170: 1257-1266 (2003) и Flies et al., *Yale Journal of Biology and Medicine*, 84(4): 409-421 (2011)).

На основании вышеизложенного были разработаны стратегии ингибирования активности PD-1 для лечения различных типов рака и для иммунопотенцирования (например, для лечения инфекционных заболеваний) (см., например, Ascierto et al., *Clin. Cancer Res.*, 19(5): 1009-1020 (2013)). В связи с этим для лечения рака были разработаны моноклональные антитела, нацеливающиеся на PD-1 (см., например, Weber, *Semin. Oncol.*, 37(5): 430-4309 (2010) и Tang et al., *Current Oncology Reports*, 15(2): 98-104 (2013)). Например, ниволумаб (также известный как BMS-936558) вызывал полные или частичные ответы при немелкоклеточном раке легкого, меланоме и почечно-клеточном раке в ходе клинических испытаний фазы I (см., например, Topalian, *New England J. Med.*, 366: 2443-2454 (2012)), и в настоящее время проходит фазу III клинических испытаний. MK-3575 представляет собой гуманизованное моноклональное антитело, направленное против PD-1, которое продемонстрировало данные противоопухолевой активности в клинических испытаниях фазы I (см., например, Patnaik et al., 2012 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Abstract # 2512). Кроме того, последние данные свидетельствуют о том, что виды терапии, которые направлены на PD-1, могут усиливать иммунный ответ против патогенов, таких как HIV (см., например, Porichis et al., *Curr. HIV/AIDS Rep.*, 9(1): 81-90 (2012)). Однако, несмотря на эти достижения, эффективность данных потенциальных видов терапии у людей может быть ограничена.

Средства, которые ингибируют передачу сигнала PD-1

В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения рака, которые включают введение композиций, которые доставляют средства регуляции сигнального пути белка запрограммированной гибели 1 (PD-1) в соответствии со схемами, которые могут обеспечить клиническую пользу.

Средства, которые ингибируют передачу сигнала PD-1, для применения в видах терапии по настоящему изобретению включают средства, которые связываются с рецепторами PD-1 на Т-клетках и блокируют их без запуска трансдукции ингибирующего сигнала, средства, которые связываются с лигандами PD-1, чтобы предотвратить их связывание с PD-1, средства, которые делают и то и другое, и средства, которые предотвращают экспрессию генов, которые кодируют либо PD-1, либо естественные лиганды PD-1. Соединения, которые связываются с естественными лигандами PD-1,

включают PD-1 как таковой, а также активные фрагменты PD-1 и, в случае лиганда В7-Н1, белки и фрагменты В7.1. Такие антагонисты включают белки, антитела, бессмысловые молекулы и низкомолекулярные органические вещества.

В настоящем изобретении описаны, по меньшей мере частично, средства, направленные против PD-1 (например, средства, направленные против PD-1, или средства, направленные против PD-L1), и различные композиции и способы, относящиеся к ним. В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 (например, средство на основе антитела к PD-1) связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с любым одним или более из его предполагаемых лигандов.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, для применения в видах комбинированной терапии по настоящему изобретению представляет собой средство на основе антитела. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с любым одним или более из его предполагаемых лигандов. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с двумя или более из его предполагаемых лигандов. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 связывает эпитоп белка PD-1, что блокирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Средства на основе антитела к PD-1 по настоящему изобретению могут содержать константную область (Fc) тяжелой цепи любого подходящего класса. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 содержит константную область тяжелой цепи, которая основана на антителах IgG1, IgG2 или IgG4 дикого типа или их вариантах.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, представляет собой антитело к PD-1 или его фрагмент. Моноклональные антитела, которые нацеливаются на PD-1, которые были протестированы в клинических исследованиях и/или получили разрешение продажи на рынке Соединенных Штатов Америки. Примеры средств на основе антител, которые нацеливаются на передачу сигнала PD-1, включают, например, любое из средств на основе антитела, перечисленных в следующей таблице 2.

Таблица 2. Средства на основе антитела к PD-1

Мишень средства на основе антитела (формат)
Ниволумаб Opdivo PD-1 (человеческий IgG4)
Пембролизумаб Keytruda PD-1 (гуманизированный IgG4)
Атезолизумаб Tecentriq PD-L1 (человеческий IgG1)

Дурвалумаб Imfinzi PD-L1 (человеческий IgG1)
Авелумаб Bavencio PD-L1 (человеческий IgG1)
PDR001 PD-1 (гуманизированный IgG4)
Цемиплимаб PD-1 (полностью человеческий IgG4)
BGB-A317 PD-1 (гуманизированный IgG4) сконструированный, чтобы не связывать FcγRI
LY3300054 PD-L1
BI 754091 (антитело к PD-1)
IBI308 (антитело к PD-1)
INCSHR-1210 (антитело к PD-1)
JNJ-63723283 (антитело к PD-1)
JS-001 (антитело к PD-1)
MEDI0680 (AMP-514) Антитело к PD-1 (гуманизированный IgG4)
MGA-012 (антитело к PD-1)
PF-06801591 (антитело к PD-1)
Достарлимаб (TSR-042) Антитело к PD-1 (гуманизированный IgG4)
CX-072 Антитело к PD-L1
FAZ053 Антитело к PD-L1

Милламоллекула к PD-L1

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, представляет собой атезолизумаб, авелумаб, BGB-A317, BI 754091, CX-072, дурвалумаб, FAZ053, IBI308, INC SHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаб, PDR001, пембролизумаб, PF-06801591, цемиплимаб, достарлимаб, любое из антител, раскрытых в WO 2014/179664, или их производные. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, представляет собой антитело к PD-1, выбранное из группы, состоящей из BGB-A317, BI 754091, CX-072, FAZ053, IBI308, INC SHR-1210, JNJ-63723283, JS-001, LY3300054, MEDI-0680, MGA-012, ниволумаба, милламоллекулы к PD-L1, PDR001, пембролизумаба, PF-06801591, цемиплимаба и достарлимаба. В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, представляет собой антитело к PD-1, выбранное из группы, состоящей из ниволумаба, пембролизумаба и достарлимаба.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 представляет собой пембролизумаб, ниволумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб, достарлимаб, PDR-001, тислелизумаб (BGB-A317), цемиплимаб (REGN2810), LY-3300054, JNJ-63723283, MGA012, BI-754091, IBI-308, камрелизумаб (HR-301210), BCD-100, JS-001, CX-072, BGB-A333, AMP-514 (MEDI-0680), AGEN-2034, CS1001, Sym-021, SHR-1316, PF-06801591, LZM009, KN-035, AB122, генолимзумаб (CBT-501), FAZ-053, СК-301, АК 104 или GLS-010, или любое из антител к PD-1, раскрытых в WO 2014/179664. В вариантах осуществления ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой ингибитор PD-1. В вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой средство регуляции сигнального пути PD-1 (например, антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой связывающее PD-L1 или PD-L2 средство, представляющее собой дурвалумаб, атезолизумаб, авелумаб, BGB-A333, SHR-1316, FAZ-053, СК-301 или милламоллекулу к PD-L1 или их производные.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, средство на основе антитела к PD-1), связывает эпитоп PD-1, что блокирует связывание PD-1 с двумя или более из его предполагаемых лигандов. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, средство на основе антитела к PD-1), связывает эпитоп белка PD-1, что блокирует связывание PD-1 с PD-L1 и/или PD-L2. Связывающие PD-1 средства (например, средства на основе антитела к PD-1) по настоящему изобретению могут содержать константную область (Fc) тяжелой цепи любого подходящего класса. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, средство на основе антитела к PD-1) содержит константную область тяжелой цепи, которая основана на антителах IgG1, IgG2 или IgG4 дикого типа или их вариантах. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой моноклональное антитело.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой гуманизированное моноклональное антитело (mAb) на основе иммуноглобулина G4 (IgG4) или содержит его. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство содержит человеческий полипептид IGHG4*01. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство предусматривает одну или более мутаций в пределах области тяжелой цепи IgG. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство содержит константную область тяжелой цепи IgG4, имеющую одну или более мутаций в константной области тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство содержит константную область тяжелой цепи IgG4, имеющую одну или более мутаций в шарнирной области. Предполагается, что в некоторых вариантах осуществления мутация в шарнирной области IgG4 может предотвращать обмен полумолекулами с другими молекулами IgG4. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций в шарнирной области IgG4 могут включать стабилизирующую мутацию серина на пролин, которая предотвращает обмен полумолекулами с другими молекулами IgG4. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций в шарнирной области IgG4 могут включать мутацию S228P. См., например, *J. Biol. Chem.* 2015; 290(9):5462-5469. Не желая быть связанными какой-либо теорией, предполагается, что эта точечная мутация служит для стабилизации шарнира тяжелой цепи антитела.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство представляет собой ниволумаб, пембролизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб или любое из антител, раскрытых в WO 2014/179664.

Пембролизумаб представляет собой моноклональное антитело к PD-1 («mAb») (также известное как MK-3475, SCH 9000475, Keytruda). Пембролизумаб представляет собой гуманизированное mAb изотипа иммуноглобулина G4/каппа. Механизм действия пембролизумаба заключается в связывании mAb с рецептором PD-1 лимфоцитов для блокирования взаимодействия PD-1 с лигандами PD-L1 и PD-L2, продуцируемыми другими клетками организма, включая опухолевые клетки определенных видов рака.

Подобно пембролизумабу, ниволумаб (также известный как BMS-936558, Opdivo) был впервые одобрен FDA в 2014 г. для лечения меланомы, которая не может быть удалена хирургическим путем или метастазировала после лечения ипилимумабом и, при необходимости, ингибитором BRAF.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе антитела к PD-1 представляет собой средство, раскрытое в публикации международной заявки на патент WO 2014/179664, полное содержание которой включено в данный документ.

В некоторых вариантах осуществления средство, направленное против PD-1, выбрано из средства, направленного против PD-1, предусмотренного в таблице 2.

Иллюстративные средства, направленные против PD-1, описаны в таблице 3.

В вариантах осуществления средство, направленное против PD-1, представляет собой любое из средств, направленных против PD-1, под номерами 1-94 из таблицы 3.

В некоторых вариантах осуществления средство, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, связывается с PD-1 человека. В некоторых вариантах осуществления средство, которое ингибирует передачу сигнала PD-1, связывается с PD-L1 человека.

Иллюстративные средства, направленные против PD-L1, описаны в таблице 4.

В вариантах осуществления средство, направленное против PD-L1, представляет собой любое из средств, направленных против PD-L1, под номерами 1-89 из таблицы 4.

Таблица 3 Средства, направленные против PD-1

Номер средства, направленного против PD-1	Название лекарственного средства и синонимы
1	Пембролизумаб Keytruda ламбролизумаб МК 3475 МК-3475 МК3475 SCH 900475 SCH-900475 SCH900475
2	Ниволумаб MAb к PD-1, Medarex MAb к PD-1, Оно BMS 936558 BMS-936558 MDX-1106 NSC 748726 NSC-748726 ONO 4538 ONO-4538 Opdivo
3	Триполибамаб моноклональное антитело к PD-1, Shanghai Junshi Biosciences JS 001 JS-001 JS001 TAB 001 TAB-001 TAB001
4	Синтилимаб MAb к PD1, Innovent Biologics IBI-308 IBI308
5	Цемиплимаб REGN 2810 REGN-2810 REGN2810 SAR-439684 SAR439684
6	Спартализумаб антитело к PD-1, CoStim антитело к PD-1, Novartis средства противораковой иммунотерапии, CoStim PDR-001 PDR001
7	Камрелизумаб HR-301210 HR301210 INCSHR-1210 INCSHR1210 SHR-1210 SHR1210
8	BGB-A317 BGB A317 BGBA317 MAb к PD-1, BeiGene тислелизумаб
9	BCD-100, Biocad моноклональное антитело к PD1, Biocad BCD100, Biocad
10	MGA-012 INCMGA 00012 INCMGA 0012 INCMGA-00012 INCMGA-0012 INCMGA00012 INCMGA0012 MGA 012 MGA012

11	MEDI-0680 AMP-514 AMP514 MEDI0680
12	JNJ-63723283 JNJ-3283 JNJ3283 JNJ63723283
13	Генолимзумаб СВТ-501 СВТ501 GB-226 GB226 рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к PD-1, Genor Biopharma
14	AGEN-2034 AGEN 2034 AGEN2034 антагонист PD-1, Agenus
15	ХmAb-20717 биспецифическое антитело к PD-1/CTLA-4, Xencor ХmAb20717
16	Достарлимаб
17	Sym-021 антитело к PD-1, Symphogen Sym021
18	PF-06801591 антитело к PD-1, Pfizer PF06801591
19	MGD-013 MGD013
20	LZM-009 LZM009
21	Т-клетки с eCAR к CD19 iPD1, Marino Biotechnology аутологичные Т-клетки с CAR 4-1BB к CD19, Marino Biotechnology
22	HX-008 HX008 рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к PD-1
23	HLX-10 моноклональное антитело к PD-1, Henlius HLX10
24	GLS-010 AB 122 AB-122 AB122 GLS 010 GLS010
25	Активируемое в цитоплазме средство терапии на основе Т-клеток с CAR19 к PD-1, Pregene Т-клетки

	с CAR19, несущие активируемое в цитоплазме средство терапии против PD1, Pregene
26	CS-1003 CS1003
27	BI-754091 моноклональное антитело к PD-1, Boehringer Ingelheim BI 754091
28	AK-105, Akeso Biopharma AK105, Akeso Biopharma
29	AK-104 AK104 антитело к PDCD1, Akeso
30	AK-103 AK103
31	ABBV-181 ABBV 181 ABBV181
32	XmAb-23104 антитело к CD278/PDCD1, Xencor XmAb 23104 XmAb23104
33	SNA-01 SNA 01 SNA01
34	Средство противораковой терапии sd-rxRNA, RXi Pharmaceuticals SD-RXRNA, RXi Pharmaceuticals
35	RXI-762 средства противораковой иммунотерапии, MirImmune средства противораковой иммунотерапии, RXi Pharmaceuticals RXI762
36	RB-M1 средство терапии на основе CAR-T к мезотелину, Refuge Biotech RB M1 RBM1
37	RB-H21 средство терапии на основе CAR-T к HER2, Refuge Biotech RB H21 RBH21
38	RB-1916 RB 1916 RB1916
39	PRS-332 антитело к PDCD1, Pieris PRS 332 PRS332

40	PEG-интерферон-альфа2b+ингибитор PD-1, PharmaEssentia P-1101+ингибитор PD-1, PharmaEssentia P1101+ингибитор PD-1, PharmaEssentia
41	Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа PD-1/PD-L1, ImmunoBrain Checkpoint ингибиторы контрольных точек иммунного ответа PD-1/PD-L1, Lundbeck
42	CAR с нокаутом гена PD-1, Cellular Biomedicine Group химерный антигенный рецептор с нокаутом гена PD-1, Cellular Biomedicine Group
43	Ингибиторы PD-1, Globavir
44	мимотопная вакцина, Imugene
45	MGD-019 MGD019 PD-1/CTLA4, MacroGenics
46	MCLA-134 MCLA134 антитело к PDCD1/HAVCR1, Merus
47	MAX-10129 MAX 10129 MAX10129
48	KF-082 KF 082 KF082 антитело к PD1, Akeso
49	JTX-4014 JTX4014
50	JBI-426 JBI 426 JBI426
51	Средство иммуноонкологической терапии, Olipass
52	ИКТ-202 ИКТ202

53	ENUM-388D4 антитела к PD-1, Enumeral Biomedical ENUM 388D4
54	Средство противораковой терапии на основе DARPin, Molecular Partners средство противораковой терапии на основе мульти-DARPin к PD-1/VEGF, Molecular Partners
55	CX-188 CX188 протела к PD-1, CytomX Therapeutics
56	CS-4100 CS 4100 CS4100
57	CAB-PD-1 CAB-PD 1 CABPD1
58	BH-2950 BH2950 антитело к PD-1/ERRB2, Hanmi
59	BH-2941 BsAb к PD-1/PD-L1, Hanmi BH2941 антитело к PD-1/PD-L1, Hanmi
60	AT-16201 AT 16201 AT16201
61	Средства противораковой терапии, Bristol-Myers Squibb средства противораковой терапии, Halozyme ниволумаб, Bristol-Myers Squibb ниволумаб, Halozyme
62	MAb к PD1, Aduro BioTech
63	scFv к PD-1+scFv к CTLA4, Anaeropharma scFv к CTLA4+scFv к PD-1, Anaeropharma
64	Антитело к PD-1, Тиксро
65	Антитело к PD-1/ТАА-3, Hanmi антитело к ТАА- 3/PD-1, Hanmi антитело к PD1/ТАА3, Hanmi
66	Антитело к PD-1/ТАА-2, Hanmi антитело к ТАА- 2/PD-1, Hanmi антитело к PD1/ТАА2, Hanmi

67	Антитело к PD-1/ТAA-1, Hanmi антитело к PD-1/ТAA-1, Innovent иммуноонкологическая программа, Hanmi
68	AM-0001 AM 0001 антитело к PD1, ARMO BioSciences
69	AK-123 AK 123 AK123 биспецифическое антитело к PD1, Akeso
70	AK-112 AK112 биспецифическое антитело к PD-1, Akeso
71	ENUM-244C8 противораковые MAб, Enumeral Biomedical ENUM 244C8
72	Sym-016 средства противораковой терапии, Symphogen-2 Sym016
73	STI-A1110 STI-1110 STI-A110X STI1110 STIA110X STIA1110
74	PEG-MP7 PEGMP7
75	Пептидные антагонисты PD-1, Aurigene Discovery Technologies
76	mAb B60-55 B60 55 B60-55 mAb B60 55
77	INDUS-903 INDUS903
78	Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, TheraVectys
79	IMM-1802 IMM 1802 IMM1802
80	Средства противораковой иммунотерапии, Immunotherapy Nantibody
81	Биспецифическое антитело к PD-1/OX40, Immune Pharmaceuticals антитело к TNFRSF4/PD1, Immune Pharmaceuticals

82	ВН-2922 ВН 2922 ВН2922 антитело к EGFR/PD-1, Hanmi
83	AUNP-12 AUNP 12 AUNP12 AUR 012 AUR-012 W-014A W014A
84	AP-106 AP106
85	Противораковые средства, ArQule противораковые средства, Beryllium
86	Антитело к PD1, Premier Biomedical
87	MAb к PD-1, PxBadia средство противораковой иммунотерапии, PxBadia
88	MAb к PD-1, Kadmon Pharmaceuticals
89	MAb к PD-1, Immunovo
90	Биспецифические антитела к PD-1, Innovent Biologics биспецифические антитела к PD-1, Eli Lilly биспецифические молекулы, Eli Lilly биспецифические молекулы, Innovent Biologics биспецифические антитела к PD-1, Innovent Biologics
91	MAb к PD-1, Mabquest MAb к PD-1, Cellectis
92	ANB-011 ANA-011 ANA011 ANB011
93	AN-2005 AN2005
94	AMP-224 AMP224 GSK 2661380 GSK-2661380 GSK2661380

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 представляет собой ингибитор PD-L1, предусмотренный в таблице 4.

Таблица 4 Ингибиторы PD-L1

Номер средства, направленного против PD-L1	Название лекарственного средства и синонимы
1	Дурвалумаб Imfinzi MEDI 4736 MEDI-4736 MEDI4736
2	Авелумаб антитело к PD-L1, Merck KGaA Bavencio MSB-0010718C MSB0010718C PF 06834635 PF- 06834635
3	Атезолизумаб MPDL-3280A MPDL3280A RG 7446 RG-7446 RG7446 RG7746 RO-5541267 RO5541267 Tecentriq
4	WBP- 3155 CS 1001 CS-1001 CS1001 WBP 3155
5	IO-103 IO 103 IO103
6	CX-072 CX072 протела к PD-L1, CytomX Therapeutics
7	CA-170 AUPM-170 AUPM170 ингибиторы PD-L1, Aurigene Discovery Technologies ингибиторы PD-L1, Curis
8	BGB-A333 MAb к PD-L1, BeiGene BGB A333 BGBA333
9	SHR-1316 HTI-1088 HTI1088 SHR1316
10	MSB-2311 MSB 2311 MSB2311
11	M-7824 M7824 MSB0011359C
12	LY-3300054 Mab к PD-L1, Eli Lilly LY 3300054 LY3300054
13	KN-035 3D-2-02-0015 KN035

14	FS-118 FS118 антитело к LAG3/CD274, f-star
15	FAZ-053 антитело к PD-L1, Novartis-2 FAZ053
16	СК-301 антитело к PD-L1, Checkpoint Therapeutics антитело к PD-L1, TG Therapeutics CK301
17	BMS-936559 антитело к PD-L1, Bristol-Myers Squibb BMS936559 MDX-1105 MDX1105
18	BCD-135 BCD135
19	АК-106, Akeso АК106, Akeso
20	Слитый белок трастузумаб/PD-L1, Avacta
21	STI-A1014 STI-1014 STI1014 STIA1014 ZKAB-001 ZKAB001
22	SNA-02 аптамер к PD-L1, Fountain BioPharma SNA 02 SNA02
23	Средство противораковой терапии sd-rxRNA, RXi Pharmaceuticals SD-RXRNA, RXi Pharmaceuticals
24	Слитый белок ритуксимаб/PD-L1, Avacta
25	Биспецифическая программа на основе PD-L1/LAG- 3, Avacta
26	Ингибиторы PD-L1, Hitgen ингибиторы PDL1, Hitgen
27	Средство генной терапии против PD-L1, enGene
28	PD-L1 CAR.TNK, Sorrento Therapeutics PDL1.taNK, NantKwest PDL1.taNK, Sorrento Therapeutics
29	Антагонист PD-L1, Arbutus Biopharma ингибиторы контрольных точек, Arbutus Biopharma

30	Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа PD-1/PD-L1, ImmunoBrain Checkpoint ингибиторы контрольных точек иммунного ответа PD-1/PD-L1, Lundbeck
31	OT-2 OT 2 OT2
32	ND-021 ND 021 ND021 антитело к PD-L1, Numab
33	MT-5050 MT 5050 MT5050
34	MEDI-1109 MEDI 1109 MEDI1109 антитело к TNFRSF4/PD-L1, AstraZeneca
35	MCLA-145 антитело к CD274, Merus MCLA145
36	MAX-10129 MAX 10129 MAX10129
37	KY-1043 KY1043
38	KY-1003 KY1003
39	KD-033 KD033
40	JS-003 антитело к CD274, Shanghai JS003
41	JBI-426 JBI 426 JBI426
42	Ипилимумаб/PD-L1, Аваста слитый белок ипилимумаб/PD-L1, Аваста
43	Средство иммуноонкологической терапии, Olipass
44	Иммуноонкологическая программа, Аваста

45	ИММ-25 IMM 25 IMM25
46	ИМС-2102 антитело к CD274, ImmuneOncia-2 ИМС 2102
47	ИМС-2101 биспецифическое антитело к CD274/U1, ImmuneOncia ИМС 2101
48	ИМС-001 ИМС 001 ИМС001 STI-A 1015 STI-A-1015 STI-A1015 STIA1015
49	ИКТ-703 ИКТ 703 ИКТ703
50	ИКТ-201 ИКТ201
51	HLX-20 HLX20
52	GX-P2 GXP2
53	FPT-155 CD80-Fc, Five Prime FPT155
54	CS-4100 CS 4100 CS4100
55	CBT-502 CBT502 TQB-2450 TQB2450
56	Средство противораковой терапии, VLP Therapeutics
57	ВН-2941 BsAb к PD-1/PD-L1, Hanmi ВН2941 антитело к PD-1/PD-L1, Hanmi
58	бевацизумаб/PD-L1, Avacta слитый белок бевацизумаб/PD-L1, Avacta
59	AVA-004 аффимеры к PD-L1, Avacta AVA004 Fc PDL1-182, Avacta
60	AUPM-327 AUPM327 CA-327 CA327 двойные ингибиторы PD-L1/TIM3, Aurigene двойные

	ингибиторы PD-L1/TIM3, Curis двойные ингибиторы TIM3/PD-L1, Aurigene двойные ингибиторы TIM3/PD-L1, Curis
61	AP-105, AP Biosciences AP105, AP Biosciences
62	RRV к PD-L1, Tascogen онкоселективные RRV, Tosagen
63	антитело к PD-L1, Ticro
64	ALPN-202 ALPN202
65	ALN-PDL siRNA PD-L1, Alnylam
66	Тройной модулятор, Fate Therapeutics
67	Тоса-531 Тоса 531
68	STI-B010X STIB010X
69	STI-A1010 STI-A100X STI-A1011 STI-A1012 STIA100X STIA1010 STIA1011 STIA1012
70	Ингибиторы лиганда белка запрограммированной гибели (PD-L1), Regeneron ингибиторы лиганда белка запрограммированной гибели (PD-L1), Sanofi
71	Антитела к контрольным точкам иммунного ответа PD-L1 x CTLA-4, IGM Biosciences
72	MAb к PD-L1, Kadmon Corporation MAb к PD-L1, Nantong Jinghua Pharmaceuticals
73	MAb к PD-L1, Abeome
74	Ингибитор PD-L1, Bristol-Myers Squibb

75	Антитела к контрольным точкам иммунного ответа PD-L1, IGM Biosciences
76	mAb B60-55 B60 55 B60-55 mAb B60 55
77	Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, TheraVectys
78	ИММ-2504 ИММ 2504 ИММ2504
79	ИММ-2503 ИММ 2503 ИММ2503
80	ИММ-2502 ИММ 2502 ИММ2502
81	НТИ-1316 НТИ1316
82	Средства противораковой иммунотерапии, Immunotherapy Nantibody
83	Биспецифическое антитело к PD-L1/BCMA, Immune Pharmaceuticals
84	ВИПИ иммуноцитомкин атезолизумаб/IL-2, Shanghai Zhangjiang Biotech
85	BGB-108 BGB108 МАб к PD-L1 МАб к PDL1
86	ВВИ-801 ВВИ801
87	Противораковые средства, ArQule противораковые средства, Beryllium
88	Антитело к PD-L1, CoStim антитело к PD-L1, Novartis
89	Биспецифическое антитело к c-Met/PD-L1, Sorrento Therapeutics антитело к MET/PD-L1, Sorrento

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство гликозилировано по одному или более сайтам. Применяемый в данном документе

«гликан» является компонентом гликопротеина, представляющим собой сахарный полимер (структурную единицу). Термин «гликан» охватывает свободные гликаны, включая гликаны, которые были отщеплены или иным образом высвобождены из гликопротеина. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрена композиция, содержащая одну или более гликоформ средства на основе тяжелой цепи, легкой цепи и/или антитела, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления гликан является N-соединенным с Fc-областью. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство гликозилировано по Asn297 (нумерация по Kabat).

Применяемый в данном документе термин «гликоформа» относится к конкретной форме гликопротеина. То есть, если гликопротеин содержит конкретный полипептид, который потенциально может соединяться с разными гликанами или наборами гликанов, то каждая разная версия гликопротеина (т. е. когда полипептид соединен с конкретным гликаном или набором гликанов) называется как «гликоформа». В некоторых вариантах осуществления предусмотренная композиция содержит множество гликоформ одного или более средств на основе тяжелой цепи, легкой цепи и/или антитела, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство с высокой аффинностью связывается с PD-1 человека и яванского макака. В некоторых вариантах осуществления связывание связывающего PD-1 средства можно охарактеризовать посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR). В некоторых вариантах осуществления результаты измерения SPR могут продемонстрировать или подтвердить связывание средства регуляции сигнального пути PD-1 с продуктом слияния PD-1 человека и/или яванского макака и Fc. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство связывает PD-1 человека и яванского макака с высокой скоростью ассоциации, медленной скоростью диссоциации и высокой аффинностью.

В некоторых вариантах осуществления антагонистическую активность связывающего PD-1 средства при блокировании взаимодействия PD-1/PD-L1 или PD-L2 можно подтвердить или определить с применением анализа на основе проточной цитометрии, в котором измеряют связывание меченых PD-L1 и PD-L2, экспрессированных в виде слитых с мышиной Fc IgG1 белков (PD-L1 mFc или PD-L2 mFc), с клетками, экспрессирующими PD-1. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство может эффективно блокировать связывание PD-1/PD-L1 и PD-1/PD-L2 по сравнению с изотипическим контролем на основе IgG4.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство может эффективно нейтрализовать активность PD-1 (например, может подавлять связывание PD-1 с PD-L1 и PD-L2). В некоторых вариантах осуществления функциональную антагонистическую активность связывающего PD-1 средства можно подтвердить или определить в реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), демонстрирующей усиленную продукцию интерлейкина (IL)-2 при добавлении связывающего PD-1 средства.

В некоторых вариантах осуществления анализ MLR можно проводить с применением первичных CD4⁺ Т-клеток человека в качестве респондеров и дендритных клеток человека в качестве стимуляторов.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 экспрессируется с вектора, содержащего одну или более последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих PD-1-связывающий полипептид переменного домена тяжелой цепи иммуноглобулина и/или PD-1-связывающий полипептид переменного домена легкой цепи иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 экспрессируется с вектора, содержащего одну или более последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих PD-1-связывающий полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и/или PD-1-связывающий полипептид легкой цепи иммуноглобулина. Вектор может представлять собой, например, плазмиду, эписому, космиду, вирусный вектор (например, ретровирусный или аденовирусный) или фаг. Подходящие векторы и способы получения векторов хорошо известны из уровня техники (см., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1994)).

В некоторых вариантах осуществления вектор(ы) для экспрессии связывающих PD-1 средств дополнительно содержит(-ат) последовательности контроля экспрессии, такие как промоторы, энхансеры, сигналы полиаденилирования, терминаторы транскрипции, участки внутренней посадки рибосомы (IRES) и т. п., которые обеспечивают экспрессию кодирующей последовательности в клетке-хозяине. Иллюстративные последовательности контроля экспрессии известны из уровня техники и описаны, например, в Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Vol. 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990).

Вектор(ы), содержащий(-ие) нуклеиновую(-ые) кислоту(-ы), кодирующую(-ие) связывающее PD-1 средство по настоящему изобретению, можно вводить в клетку-хозяина, которая способна экспрессировать кодируемые им(и) полипептиды, включая любую подходящую прокариотическую или эукариотическую клетку. Некоторые предпочтительные качества клеток-хозяев включают легкость и надежность выращивания, достаточно высокую скорость роста, наличие хорошо охарактеризованных систем экспрессии и/или легкость/эффективность трансформации или трансфекции.

В некоторых вариантах осуществления используют клетки млекопитающих. Ряд подходящих клеток-хозяев млекопитающих известен из уровня техники, и многие из них доступны из Американской коллекции типовых культур (ATCC, Манассас, Вирджиния). Примеры подходящих клеток млекопитающих включают без ограничения клетки яичника китайского хомячка (CHO) (ATCC № CCL61), DHFR-клетки CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 4216-4220 (1980)), клетки почки эмбриона человека (HEK) 293 или 293Т (№ в ATCC CRL1573) и клетки 3Т3 (№ в ATCC CCL92). Другими подходящими

линиями клеток млекопитающих являются линии клеток обезьян COS-1 (№ в ATCC CRL1650) и COS-7 (№ в ATCC CRL1651), а также линия клеток CV-1 (№ в ATCC CCL70).

Дополнительные иллюстративные клетки-хозяева млекопитающих включают линии клеток приматов и линии клеток грызунов, включая трансформированные линии клеток. Подходящими также являются нормальные диплоидные клетки, штаммы клеток, полученные из культуры первичной ткани *in vitro*, а также первичные эксплантаты. Другие подходящие линии клеток млекопитающих включают без ограничения клетки нейробластомы мыши N2A, HeLa, клетки мыши L-929 и линии клеток хомяков ВНК или НаК, все из которых доступны в ATCC. Способы отбора подходящих клеток-хозяев млекопитающих и способы трансформации, культивирования, амплификации, скрининга и очистки клеток известны из уровня техники.

В некоторых вариантах осуществления клетка млекопитающего представляет собой клетку человека. Например, клетка млекопитающего может представлять собой человеческую линию лимфоидных клеток или линию клеток лимфоидного происхождения, такую как линия клеток пре-В-лимфоцитарного происхождения. Примеры линий лимфоидных клеток человека включают без ограничения RAMOS (CRL-1596), Daudi (CCL-213), EB-3 (CCL-85), DT40 (CRL-2111), 18-81 (Jack et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 1581-1585 (1988)), клетки Raji (CCL-86) и их производные.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство составлено в виде фармацевтической композиции, содержащей одно моноклональное антитело или их комбинацию, или их антигенсвязывающую(-ие) часть(-и), в состав которой входит фармацевтически приемлемый носитель. Средство на основе антитела к PD-1 можно составлять отдельно или в комбинации с другими лекарственными средствами (например, в качестве адъюванта). Например, связывающее PD-1 средство можно вводить в комбинации с другими средствами для лечения или предупреждения раскрытых в данном документе заболеваний (например, рака).

Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композиция может быть составлена в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации лекарственного средства. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т. п.) и их подходящие смеси. Подходящую текучесть можно поддерживать, например, путем применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Во многих случаях может быть применимым включение в композицию изотонических средств, например сахаров, многоатомных спиртов, таких как маннит, сорбит, или хлорида натрия. Длительной абсорбции инъекционных композиций можно достичь путем включения в композицию средства, которое замедляет абсорбцию, например, моностеаратные соли и желатин.

Стерильные инъекционные растворы можно получить путем включения активного соединения в требуемом количестве в подходящий растворитель с одним или с комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизующей микрофильтрацией. Обычно дисперсии получают путем включения активного соединения в стерильную среду-носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов такие способы получения могут включать вакуумную сушку и сублимационную сушку (лиофилизацию) с получением порошка активного ингредиента плюс любой желаемый дополнительный ингредиент из ранее стерильно отфильтрованного его раствора.

В некоторых вариантах осуществления терапевтическая композиция составлена в виде стерильной жидкости. В некоторых вариантах осуществления композиция не содержит видимых частиц. В некоторых вариантах осуществления композиция составлена в буфере (например, цитратном буфере). В некоторых вариантах осуществления композиция содержит связывающее PD-1 средство и два или более из следующих: цитрат, аргинин, хлорид натрия и полисорбат 80.

В некоторых вариантах осуществления терапевтическую композицию по настоящему изобретению (например, связывающее PD-1 средство) асептически помещают в прозрачный стеклянный флакон. В некоторых вариантах осуществления такой стеклянный флакон закрывают пробкой из хлорбутилового эластомера, ламинированной фторполимером, и герметично закрывают алюминиевым обжимным колпачком.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 хранят при температуре 2-8°C. В некоторых вариантах осуществления лекарственный препарат по настоящему изобретению не содержит консервантов.

Общий протокол

Как описано в данном документе, предусмотренные способы включают введение средства регуляции сигнального пути PD-1 пациенту, субъекту или популяции субъектов в соответствии со схемой, которая обеспечивает достижение клинической пользы.

Предусмотренные способы могут обеспечить различные преимущества (например, клиническую пользу). В вариантах осуществления способ, описанный в данном документе, обеспечивает достижение клинической пользы. В вариантах осуществления клиническая польза представляет собой стабильное заболевание (SD). В вариантах осуществления клиническая польза представляет собой частичный ответ (PR). В вариантах осуществления клиническая польза представляет собой полный ответ (CR).

В вариантах осуществления комбинированная терапия обеспечивает достижение клинической пользы каждого средства терапии, вводимого пациенту. Например, комбинированная терапия может улучшить клиническую пользу, полученную с помощью ингибитора PD-1 (например, любого описанного в данном документе антитела к PD-1).

В вариантах осуществления пациент или субъект представляет собой животное. В вариантах осуществления пациент или субъект представляет собой человека.

В некоторых вариантах осуществления схема включает по меньшей мере одну исходную дозу связывающего PD-1 средства. В некоторых вариантах осуществления схема включает несколько исходных доз.

В некоторых вариантах осуществления исходная доза представляет собой количество средства регуляции сигнального пути PD-1 в пределах диапазона от приблизительно 5 до приблизительно 5000 мг (например, приблизительно 5 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1200 мг, приблизительно 1300 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 2000 мг, приблизительно 3000 мг, приблизительно 4000 мг, приблизительно 5000 мг или в пределах диапазона, определяемого любыми двумя из предыдущих значений). В некоторых вариантах осуществления исходная доза средства регуляции сигнального пути PD-1 составляет 500 мг или 1000 мг.

В некоторых вариантах осуществления доза представляет собой количество относительно веса тела. В некоторых вариантах осуществления исходная доза средства регуляции сигнального пути PD-1 находится в пределах диапазона от приблизительно 0,01 мг/кг до 100 мг/кг веса тела животного или человека; однако дозы ниже или выше данного иллюстративного диапазона попадают в пределы объема настоящего изобретения. Суточная доза для парентерального введения может составлять от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг общего веса тела (например, приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 12 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг или в диапазоне, определяемом любыми двумя из предыдущих значений).

В некоторых вариантах осуществления композицию, которая доставляет связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1), вводят пациенту в дозе, составляющей приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг, один раз в две недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг, один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1, 3 или 10 мг/кг, один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в

связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 800 мг, один раз в восемь недель.

В некоторых вариантах осуществления композицию, которая доставляет связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1), вводят пациенту в дозе, составляющей приблизительно 1000 мг. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в четыре недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в пять недель. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в шесть недель. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в семь недель. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в восемь недель. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в девять недель.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 500 мг, один раз в три недели. В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют дозу, составляющую приблизительно 1000 мг, один раз в шесть недель.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства в течение первых 2-6 циклов введения доз (например, первых 3, 4 или 5 циклов введения доз), и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства в течение последующих циклов введения доз до тех пор, пока терапия не будет прекращена (например, вследствие прогрессирования заболевания, или неблагоприятного эффекта, или по указанию врача). В некоторых вариантах осуществления продолжительность первого набора из 2-6 циклов введения доз (например, первых 3, 4 или 5 циклов введения доз) отличается от продолжительности последующих

циклов введения доз. В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства один раз в три недели в течение первых трех циклов введения доз, и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель или больше в течение остальных циклов введения доз (например, вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель в течение остальных циклов введения доз). В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства один раз в три недели в течение первых четырех циклов введения доз, и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель или больше в течение остальных циклов введения доз (например, вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель в течение остальных циклов введения доз). В вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства один раз в три недели в течение первых пяти циклов введения доз, и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель или в течение остальных циклов введения доз (например, вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель в течение остальных циклов введения доз). В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства один раз в три недели в течение первых 2-6 циклов введения доз (например, первых 3, 4 или 5 циклов введения доз), и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель или до тех пор, пока терапия не будет прекращена (например, вследствие прогрессирования заболевания, или неблагоприятного эффекта, или по указанию врача). В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, при которой доставляют первую дозу связывающего PD-1 средства один раз в три недели в течение первых 3, 4 или 5 циклов введения доз (например, первых 4 циклов введения доз), и затем доставляют вторую дозу связывающего PD-1 средства один раз в шесть недель или больше до тех пор, пока терапия не будет прекращена (например, вследствие прогрессирования заболевания, или неблагоприятного эффекта, или по указанию врача). В вариантах осуществления способ включает доставку второй дозы средства регуляции сигнального пути PD-1 один раз в шесть недель до тех пор, пока терапия не будет прекращена.

В некоторых вариантах осуществления первая и/или вторая доза связывающего PD-1 средства (например, антитела к PD-1) составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 2000 мг (например, приблизительно 100 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1200 мг,

приблизительно 1300 мг, приблизительно 1400 мг, приблизительно 1500 мг, приблизительно 1600 мг, приблизительно 1700 мг, приблизительно 1800 мг, приблизительно 1900 мг или приблизительно 2000 мг). В некоторых вариантах осуществления первая доза и вторая доза являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления первая доза и вторая доза являются разными. В вариантах осуществления первая доза составляет приблизительно 500 мг связывающего PD-1 средства (например, антитела к PD-1). В вариантах осуществления первая доза составляет приблизительно 1000 мг связывающего PD-1 средства (например, антитела к PD-1).

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, которая предусматривает введение дозы, составляющей приблизительно 500 мг, один раз в 3 недели для четырех доз с последующим введением по меньшей мере одной дозы, составляющей приблизительно 1000 мг, один раз в шесть недель после четвертой дозы, составляющей приблизительно 500 мг. В некоторых вариантах осуществления дополнительные дозы, составляющие приблизительно 1000 мг, вводят один раз в шесть недель после первой дозы, составляющей приблизительно 1000 мг, до тех пор, пока не будет достигнута дополнительная клиническая польза. В некоторых конкретных вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 (например, антитело к PD1) вводят в соответствии со схемой введения доз, которая включает 500 мг в течение 4 циклов Q3W, а затем 1000 мг Q6W.

В некоторых вариантах осуществления связывающее PD-1 средство (например, антитело к PD-1) вводят в соответствии со схемой, которая предусматривает введение дозы, составляющей 400 мг, один раз в 3 недели для четырех доз с последующим введением по меньшей мере одной дозы, составляющей 800 мг, один раз в шесть недель после четвертой дозы, составляющей 400 мг. В некоторых вариантах осуществления дополнительные дозы, составляющие 800 мг, вводят один раз в шесть недель после первой дозы, составляющей 800 мг, до тех пор, пока не будет достигнута дополнительная клиническая польза. В некоторых конкретных вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 (например, антитело к PD1) вводят в соответствии со схемой введения доз, которая включает 400 мг в течение 4 циклов Q3W, а затем 800 мг Q6W.

Терапевтическую или профилактическую эффективность можно контролировать путем периодической оценки пациентов, подвергаемых лечению. Для повторных введений на протяжении нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение можно повторять до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако могут быть применимы и другие схемы введения дозировок, и эти схемы находятся в пределах объема настоящего изобретения.

Желаемая дозировка может быть доставлена путем одного болюсного введения композиции, путем нескольких болюсных введений композиции или путем непрерывного инфузионного введения композиции.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 вводят пациенту или популяции субъектов, которые продемонстрировали ответ на предыдущую терапию. В некоторых вариантах осуществления пациент или популяция субъектов продемонстрировали ответ на предыдущую противораковую терапию.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 вводят пациенту или популяции субъектов, которые не продемонстрировали ответ на предыдущую терапию. В некоторых вариантах осуществления пациент или популяция субъектов не получили или не продемонстрировали ответ на предыдущую противораковую терапию.

В вариантах осуществления субъект является устойчивым в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1. В вариантах осуществления субъект является рефрактерным в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1. В вариантах осуществления описанный в данном документе способ сенсibiliзирует субъекта в отношении лечения с помощью средства, которое ингибирует PD-1.

Комбинированная терапия

В данном документе предусмотрены способы, которые включают введение первого терапевтического средства (например, ингибитора контрольных точек иммунного ответа) в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами.

В вариантах осуществления средство терапии, направленное против PD-1, описанное в данном документе, вводят в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами (например, терапевтическими средствами, описанными в данном документе). То есть субъект подвергается лечению средством терапии, направленным против PD-1, и субъекту вводят одно или более дополнительных средств терапии, так что субъект получает каждое из средств терапии.

В вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой хирургическое вмешательство. В вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой радиотерапию. В вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой химиотерапию. В вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой иммунотерапию.

В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 вводят одновременно или последовательно с дополнительным терапевтическим средством, таким как, например, другое средство на основе антитела (например, средство на основе антитела, которое связывает ингибитор контрольной точки, и/или химиотерапевтическое средство). В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 вводят до введения дополнительного терапевтического средства, во время или после него. В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 вводят до введения химиотерапевтического средства, во время или после него.

Средство на основе антитела к PD-1 можно вводить отдельно или в комбинации с другими лекарственными средствами (например, в качестве адьюванта). Например, связывающее PD-1 средство можно вводить в комбинации с другими средствами для лечения или предупреждения раскрытых в данном документе заболеваний (например, рака). При этом связывающее PD-1 средство можно применять в комбинации с по меньшей мере одним другим противораковым средством, включая, например, любое химиотерапевтическое средство, известное из уровня техники; ионизирующее излучение; низкомолекулярные противораковые средства; противораковые вакцины; биологические средства терапии (например, другие моноклональные антитела, уничтожающие рак вирусы, генная терапия и адаптивный перенос Т-клеток) и/или хирургическое вмешательство.

Введение средства регуляции сигнального пути PD-1 одновременно или последовательно с дополнительным терапевтическим средством упоминается в данном документе как «комбинированная терапия». При комбинированной терапии средство регуляции сигнального пути PD-1 можно вводить нуждающемуся в этом субъекту до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно с (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введением дополнительного терапевтического средства или после него. В некоторых вариантах осуществления средство регуляции сигнального пути PD-1 и дополнительное терапевтическое средство вводят с разницей в 1 минуту, с разницей в 10 минут, с разницей в 30 минут, с разницей менее 1 часа, с разницей от 1 часа до 2 часов, с разницей от 2 часов до 3 часов, с разницей от 3 часов до 4 часов, с разницей от 4 часов до 5 часов, с разницей от 5 часов до 6 часов, с разницей от 6 часов до 7 часов, с разницей от 7 часов до 8 часов, с разницей от 8 часов до 9 часов, с разницей от 9 часов до 10 часов, с разницей от 10 часов до 11 часов, с разницей от 11 часов до 12 часов, с разницей не более 24 часов или с разницей не более 48 часов.

Ингибиторы контрольных точек

В вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой иммунотерапию. В вариантах осуществления иммунотерапия предусматривает введение одного или более дополнительных ингибиторов контрольных точек иммунного ответа (например, введение одного, двух, трех, четырех или более дополнительных ингибиторов контрольных точек иммунного ответа).

Иллюстративные мишени контрольных точек иммунного ответа для ингибирования включают PD-1 (например, ингибирование путем средств терапии, направленных против PD-1, PD-L1 или PD-L2), CTLA-4, TIM-3, TIGIT, LAG (например, LAG-3), CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), VISTA, BTLA, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 или CD270), KIR,

A2aR, MHC класса I, MHC класса II, GALS, аденозин, TGFR (например, TGFR-бета), B7-H1, B7-H4 (VTCN1), OX-40, CD137, CD40, IDO и CSF-1R. Соответственно, средства, которые ингибируют любую из этих молекул, можно применять в комбинации с описанным в данном документе средством терапии, направленным против PD-1.

В вариантах осуществления ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4 (например, антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл или токсин. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой малую молекулу. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой связывающее CTLA-4 средство. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой антитело к CTLA-4, описанное в данном документе. В вариантах осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (Yervoy), AGEN1884 или тремелиумаб.

В вариантах осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, полипептид (например, антитело), углевод, липид, металл, токсин или связывающее средство. В вариантах осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

В вариантах осуществления ингибитор контрольных точек иммунного ответа представляет собой средство, которое ингибирует TIM-3, CTLA-4, LAG-3, TIGIT, IDO или CSF1R.

Для пациентов женского пола с потенциалом деторождения предпочтительно, чтобы у пациента был отрицательный результат исследования сыворотки крови на беременность в течение 72 часов до даты введения первой дозы связывающего средства к PD-1. Также предпочтительно, чтобы пациенты женского пола с потенциалом деторождения и пациенты мужского пола согласились применять 2 адекватных способа контрацепции со своим партнером. В некоторых вариантах осуществления пациент соглашается применять 2 способа контрацепции, начиная со скринингового визита и до 150 дней после последней дозы исследуемого средства терапии.

Получение маскированного связывающего белка к CTLA4

Маскированные связывающие белки к CTLA4, описанные в данном документе, получают с применением методик, доступных из уровня техники, иллюстративные способы которых описаны более подробно в следующих разделах.

1. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Фрагменты антител

Настоящее изобретение охватывает фрагменты антител в виде маскированных связывающих белков к CTLA4. Маскированные фрагменты антител можно получать традиционными способами, такими как ферментативное расщепление, или посредством

методик на основе рекомбинации. В определенных обстоятельствах существуют преимущества применения маскированных фрагментов антител, а не целых антител. Обзор определенных фрагментов антител см. в Hudson et al. (2003) Nat. Med. 9:129-134.

Были разработаны различные методики для получения фрагментов антител. Традиционно данные фрагменты получали посредством протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992); и Brennan et al., Science, 229:81 (1985)). Однако в настоящее время данные фрагменты можно получать непосредственно с помощью рекомбинантных клеток-хозяев. Все из фрагментов антител Fab, Fv и ScFv могут экспрессироваться в *E. coli* и других типах клеток, и секретироваться из них, обеспечивая таким образом возможность легкого получения больших количеств данных маскированных фрагментов. В качестве альтернативы маскированные фрагменты Fab'-SH можно непосредственно извлекать из среды для культивирования и химически обеспечивать образование их пар с образованием фрагментов F(ab')₂ (Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992)). Согласно другому подходу маскированные фрагменты F(ab')₂ можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Маскированные фрагменты Fab и F(ab')₂ с увеличенным периодом полужизни *in vivo*, содержащие остатки эпитопа связывания FcRN/рецептора реутилизации, описаны в патенте США № 5869046. Другие методики для получения маскированных фрагментов антител будут очевидны практикующему специалисту в данной области техники. В определенных вариантах осуществления маскированное антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). См. WO 93/16185; патенты США №№ 5571894 и 5587458. Fv и scFv являются единственными видами с интактными комбинирующими сайтами, которые лишены константных областей; таким образом, они могут быть подходящими для снижения неспецифического связывания при применении *in vivo*. Слитые белки scFv можно конструировать так, чтобы обеспечить слияние эффекторного белка на amino-, либо на карбоксиконце scFv. См. Antibody Engineering, под ред. Vorebaeck, выше. Кроме того, в качестве биспецифического антитела могут применяться бивалентные scFv, содержащие два scFv, соединенные посредством полипептидного линкера. В качестве альтернативы, поливалентный scFv, содержащий три или более scFv, можно применять в качестве полиспецифического антитела.

Настоящее изобретение включает линейное антитело (например, как описано в патенте США № 5641870) или одноцепочечный иммуноглобулин, содержащий последовательности тяжелой и легкой цепи антитела, соединенные через соответствующий линкер. Такие линейные антитела или иммуноглобулины могут являться моноспецифическими или биспецифическими. Такой одноцепочечный иммуноглобулин можно димеризовать с обеспечением таким образом сохранения структуры и видов активности, сходных с таковыми для антитела, которое изначально представляет собой тетрамер. Также антитело по настоящему изобретению может представлять собой антитело, которое содержит одну переменную область тяжелой цепи

и не содержит последовательность легкой цепи. Такое антитело называется однодоменным антителом (sdAb) или нанотелом. Данные антитела также охватываются понятием функционального фрагмента антитела по настоящему изобретению.

2. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Гуманизированные антитела

Настоящее изобретение охватывает маскированные гуманизированные антитела. Гуманизированные антитела маскируют в соответствии с руководством, предусмотренным в данном документе. Различные способы гуманизации антител, отличных от человеческих, известны из уровня техники. Например, гуманизированное антитело может содержать один или более аминокислотных остатков, введенных в него из донора, отличного от человека. Данные аминокислотные остатки, отличные от человеческих, часто называют «импортными» остатками, которые, как правило, получают из «импортного» варибельного домена. Гуманизацию можно выполнять главным образом согласно способу Уинтера (Jones et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann et al. (1988) *Nature* 332:323-327; Verhoeven et al. (1988) *Science* 239:1534-1536), посредством замены последовательностей гиперварибельной области на соответствующие последовательности из антитела человека. Соответственно, такие «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), где по существу менее чем интактный варибельный домен человека был заменен на соответствующую последовательность от вида, отличного от человека. На практике гуманизированные антитела, как правило, представляют собой антитела человека, где некоторые остатки гиперварибельной области и возможно некоторые остатки FR заменены на остатки из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

3. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Человеческие антитела

Человеческие антитела к CTLA4 по настоящему изобретению могут быть сконструированы посредством комбинирования последовательности(ей) варибельного домена Fv-клона, выбранной(ых) из библиотек фагового дисплея, полученных от человека, с известной(ыми) последовательность(ями) константного домена человека. В качестве альтернативы, человеческие моноклональные антитела к CTLA4 по настоящему изобретению могут быть получены гибридным способом. Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мыши-человека для получения моноклональных антител человека описаны, например, в Kozbor J. *Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, стр. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Нью-Йорк, 1987 г.); и Voerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).

Человеческие антитела маскируют в соответствии с руководством, предусмотренным в данном документе.

4. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Биспецифические антитела

Биспецифические антитела представляют собой моноклональные антитела, которые характеризуются специфичностями связывания в отношении по меньшей мере двух разных антигенов. В определенных вариантах осуществления биспецифические

антитела представляют собой человеческие или гуманизированные антитела. В определенных вариантах осуществления одна из специфичностей связывания предназначена для CTLA4, а другая предназначена для любого другого антигена. В определенных вариантах осуществления биспецифические антитела могут связываться с двумя разными эпитопами CTLA4. Биспецифические антитела можно также применять для направленной доставки цитотоксических средств к клеткам, которые экспрессируют CTLA4. Биспецифические антитела можно получать в виде полноразмерных антител или фрагментов антител (например, биспецифических антител F(ab')₂). Биспецифические антитела маскируют в соответствии с руководством, предусмотренным в данном документе.

Способы получения биспецифических антител известны из уровня техники. См. Milstein и Cuello, *Nature*, 305: 537 (1983), WO 93/08829, опубликованной 13 мая 1993 года, Traunecker et al., *EMBO J.*, 10: 3655 (1991); Kontermann and Brinkmann, *Drug Discovery Today*, 20(7):838-847. Подробную информацию по получению биспецифических антител см., например, в Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986). Биспецифические антитела включают поперечносшитые или «гетероконъюгатные» антитела. Например, одно из антител в гетероконъюгате может образовывать пару с авидином, второе - с биотином. Гетероконъюгатные антитела можно получать с применением любого удобного способа поперечного сшивания. Подходящие средства для поперечного сшивания хорошо известны из уровня техники и раскрыты в патенте США № 4676980 вместе с рядом методик поперечного сшивания.

5. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Однодоменные антитела

В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело маскируют в соответствии с руководством, предусмотренным в данном документе. Однодоменное антитело представляет собой одну полипептидную цепь, содержащую целый переменный домен тяжелой цепи антитела или его часть или целый переменный домен легкой цепи антитела или его часть. В определенных вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой однодоменное антитело человека (Domantis, Inc., Уолтем, Массачусетс; см., например, патент США № 6248516 B1). В одном варианте осуществления однодоменное антитело состоит из целого переменного домена тяжелой цепи антитела или его части.

6. Маскированный связывающий белок к CTLA4. Варианты антител

В некоторых вариантах осуществления предусмотрена(ы) модификация(и) аминокислотной последовательности маскированных антител, описанных в данном документе. Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства маскированного антитела. Варианты аминокислотной последовательности антитела можно получать посредством введения соответствующих изменений в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или посредством синтеза пептида. Такие модификации включают, например, делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в пределах аминокислотной последовательности антитела. Чтобы

добиться получения конечной конструкции, может осуществляться любая комбинация делеции, вставки и замены, при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками. Аминокислотные изменения можно вводить в аминокислотную последовательность антитела субъекта во время получения последовательности.

Применимый способ идентификации определенных остатков или областей антитела, которые являются предпочтительными участками для мутагенеза, называется «аланиновым сканирующим мутагенезом», как описано в Cunningham и Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. Здесь, остаток или группа целевых остатков идентифицируются (например, заряженные остатки, такие как Arg, Asp, His, Lys и Glu) и замещаются нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (например, аланином или полиаланином) для воздействия на взаимодействие аминокислот с антигеном. Те аминокислотные положения, которые демонстрируют функциональную восприимчивость к заменам, затем корректируют посредством введения дополнительных или других вариантов в сайтах замены или вместо них. Таким образом, несмотря на то, что сайт для введения вариации аминокислотной последовательности является предопределенным, нет необходимости в непосредственной предопределенности природы мутации. Например, для анализа характеристики мутации в заданном сайте в целевом кодоне или целевой области проводят аланин-сканирующий или случайный мутагенез, и экспрессированные иммуноглобулины подвергают скринингу в отношении необходимой активности.

Вставки в аминокислотную последовательность предусматривают последовательности, слитые с амино-концом и/или карбокси-концом, длина которых находится в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или больше остатков, а также вставки одного или нескольких аминокислотных остатков внутри последовательности. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком. Другие варианты вставок в молекулу антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом или полипептидом, которое обеспечивает увеличение периода полужизни антитела в сыворотке крови.

В некоторых вариантах осуществления мутации FcRn, которые обеспечивают улучшение фармакокинетики, включают без ограничения M428L, T250Q/M428L, M252Y/S254T/T256E, P257I/N434H, D376V/N434H, P257I/Q3111, N434A, N434W, M428L/N434S, V259I/V308F, M252Y/S254T/T256E, V259I/V308F/M428L, T307Q/N434A, T307Q/N434S, T307Q/E380A/N434A, V308P/N434A, N434H, V308P. В некоторых вариантах осуществления такие мутации обеспечивают усиление связывания антитела с FcRn при низком значении pH, однако не изменяют аффинность антитела при нейтральном значении pH.

В определенных вариантах осуществления антитело по настоящему изобретению изменено для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела. Гликозилирование полипептидов, как правило, является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного компонента к боковой

цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-Х-серин и аспарагин-Х-треонин, где Х представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводной структурной единицы к боковой цепи аспарагина. Таким образом, наличие любой из данных трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. О-гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров, представляющих собой N-ацетилгалактозамин, галактозу или ксилозу, к гидроксикаминокислоте, наиболее часто к серину или треонину, хотя также могут применяться 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

Добавление или делеция сайтов гликозилирования в маскированном антителе без труда осуществляются посредством изменения аминокислотной последовательности таким образом, что создается или удаляется одна или более из вышеописанных трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования). Изменение можно также осуществлять посредством добавления, делеции или замены одного или более сериновых или треониновых остатков в последовательности исходного антитела (для сайтов O-связанного гликозилирования).

В случае если антитело содержит Fc-область, углевод, присоединенный к ней, может быть изменен. Например, антитела со зрелой углеводной структурой, в которой отсутствует фукоза, присоединенная к Fc-области антитела, описаны в заявке на патент США № US 2003/0157108 (Presta, L.). См. также US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Антитела с N-ацетилглюкозамин (GlcNAc) в точках ветвления в углеводе, присоединенном к Fc-области антитела, упоминаются в WO 2003/011878, Jean-Mairet et al. и патенте США № 6602684, Umana et al. Об антителах с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенном к Fc-области антитела, сообщается в WO 1997/30087, Patel et al. См. также WO 1998/58964 (Raju, S.) и WO 1999/22764 (Raju, S.), касающиеся антител с измененным углеводом, присоединенным к их Fc-области. См. также US 2005/0123546 (Umana et al.) в отношении антигенсвязывающих молекул с модифицированным гликозилированием.

В определенных вариантах осуществления, вариант гликозилирования предусматривает Fc-область, где углеводная структура, присоединенная к Fc-области, не содержит фукозу или характеризуется сниженным содержанием фукозы. Такие варианты характеризуются улучшенной функцией ADCC. Fc-область в своем составе необязательно дополнительно содержит одну или более аминокислотных замен, что обеспечивает дополнительное улучшение ADCC, например, замены в положениях 298, 333 и/или 334 Fc-области (нумерация остатков EU). Примеры публикаций, связанных с «афукозилированными», «дефукозилированными» или «фукозодефицитными» антителами, включают: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-

Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Примеры линий клеток, продуцирующих дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Lec13, дефицитные в отношении фукозилирования белка (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L и WO 2004/056312 A1, Adams et al., особенно в примере 11), и линии клеток с нокаутом генов, такие как клетки CHO с нокаутом гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8 (Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)), и клетки со сверхэкспрессией β -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnT-III) и μ -маннозидазы II (ManII) в комплексе Гольджи.

В любом из вариантов осуществления в данном документе маскированные связывающие белки к CTLA4 могут быть сконструированы для обеспечения улучшения активности антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности (ADCC). В некоторых вариантах осуществления маскированный связывающий белок к CTLA4 можно получать в линии клеток, характеризующейся нокаутом гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы (Fut8). В некоторых дополнительных вариантах осуществления маскированный связывающий белок к CTLA4 можно получать в линии клеток со сверхэкспрессией β -1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnT-III). В дополнительных вариантах осуществления линия клеток дополнительно характеризуется сверхэкспрессией μ -маннозидазы II (ManII) в комплексе Гольджи. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе маскированный связывающий белок к CTLA4 может содержать по меньшей мере одну аминокислотную замену в Fc-области, которая обеспечивает улучшение ADCC-активности.

В одном варианте осуществления маскированное антитело изменяют для улучшения его периода полужизни в сыворотке крови. Для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке крови можно включать эпитоп связывания FcRN/рецептора реутилизации в антитело (в особенности, фрагмент антитела), как описано, например, в патенте США № 5739277. Применяемый в данном документе термин «эпитоп связывания рецептора реутилизации» относится к эпитопу Fc-области молекулы IgG (например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), который отвечает за увеличение периода полужизни молекулы IgG в сыворотке крови *in vivo* (US 2003/0190311, патент США № 6821505; патент США № 6165745; патент США № 5624821; патент США № 5648260; патент США № 6165745; патент США № 5834597).

Другой тип варианта представляет собой вариант с аминокислотной заменой. Данные варианты характеризуются наличием в молекуле антитела по меньшей мере одного аминокислотного остатка, замененного на другой остаток. Сайты, представляющие интерес с точки зрения заместительного мутагенеза, включают гипервариабельные области, однако также предусмотрены изменения FR. Консервативные замены показаны в таблице 5 под заголовком «Предпочтительные замены». Если такие замены приводят к обеспечению необходимого изменения в биологической активности, то можно вводить более существенные изменения, обозначенные в таблице 5 как «иллюстративные замены»,

или дополнительно описанные ниже в отношении классов аминокислот, и проводить скрининг продуктов.

Таблица 5. Аминокислотные замены

Исходный остаток	Иллюстративные 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)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; 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 осуществляют посредством отбора замен, которые значительно различаются по их эффекту в отношении сохранения структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде листовой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (c) объемности боковой цепи. Аминокислоты можно группировать в соответствии со сходствами свойств их боковых цепей (в А. Л. Lehninger, в Biochemistry, второе изд., стр. 73-75, Worth Publishers, Нью-Йорк (1975)):

- (1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)
- (2) незаряженные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
- (3) кислотные: Asp (D), Glu (E)
- (4) основные: Lys (K), Arg (R), His (H).

В качестве альтернативы встречающиеся в природе остатки можно подразделять на группы на основании общих свойств боковых цепей:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислотные: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативные замены подразумевают замену представителя одного из данных классов представителем другого класса. Такие замененные остатки также можно вводить в консервативные сайты замены или в остальные (неконсервативные) сайты.

Один тип варианта замены включает замену одного или более остатков гипервариабельной области исходного антитела (например, гуманизированного антитела или антитела человека). В целом, полученный вариант(варианты), выбранный для дальнейшей разработки, будет обладать модифицированными (например, улучшенными) биологическими свойствами по сравнению с исходным антителом, из которого он был получен. Удобный способ получения таких заместительных вариантов включает созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, несколько сайтов гипервариабельной области (например, 6-7 сайтов) подвергаются мутации с получением всех возможных аминокислотных замен в каждом сайте. Антитела, полученные таким образом, представляют на нитевидных фаговых частицах в виде продуктов слияния с по меньшей мере частью белка оболочки фага (например, продукта гена III из M13), упакованных в каждой частице. Представленные с помощью фагового дисплея варианты затем подвергаются скринингу в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания). С целью идентификации сайтов гипервариабельной области, являющихся кандидатами для модификации, можно выполнять сканирующий мутагенез (например, аланиновое сканирование) для идентификации остатков гипервариабельной области, оказывающих значительное влияние на связывание антигена. В качестве альтернативы или дополнительно целесообразным может являться проведение анализа кристаллической структуры комплекса антиген-антитело для идентификации точек контакта между антителом и антигеном. Такие контактирующие остатки и соседние остатки являются кандидатами для замены согласно методикам, известным из уровня техники, включающим таковые, подробно описанные в данном документе. После получения таких вариантов панель вариантов подвергают скринингу с применением методик, известных из уровня техники, включающих таковые, описанные в данном

документе, и антитела с превосходными свойствами по результатам одного или более соответствующих анализов могут быть выбраны для дальнейшей разработки.

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей варианты аминокислотной последовательности маскированного антитела, получают посредством ряда способов, известных из уровня техники. Данные способы включают без ограничения выделение из природного источника (в случае встречающихся в природе вариантов аминокислотной последовательности) или получение посредством олигонуклеотид-опосредованного (или сайт-направленного) мутагенеза, мутагенеза с помощью ПЦР и кассетного мутагенеза полученного ранее варианта или версии антитела, не являющейся его вариантом.

Желательным может являться введение одной или более аминокислотных модификаций в Fc-область антител по настоящему изобретению, с получением таким образом варианта Fc-области. Вариант Fc-области может предусматривать последовательность Fc-области человека (например, Fc-области IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека), содержащую аминокислотную модификацию (например, замену) в одном или более аминокислотных положениях, в том числе аминокислотную модификацию цистеина шарнирной области.

В некоторых вариантах осуществления активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, или активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4), предусмотренный в данном документе, относится к изотипу IgG1 с усиленной эффекторной функцией. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент являются афукозилированными. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 является афукозилированным. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют повышенный уровень структурных единиц маннозы. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент имеют повышенный уровень разветвленных гликановых структурных единиц. В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4 имеет повышенный уровень структурных единиц маннозы. В некоторых вариантах осуществления IgG1 содержит аминокислотные мутации.

В некоторых вариантах осуществления активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент, или активируемое маскированное биспецифическое антитело к CTLA4, предусмотренные в данном документе, относятся к изотипу IgG1 (например, изотипу IgG1 человека). В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S298A, E333A и K334A, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены S239D и I332E, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления

IgG1 содержит аминокислотные замены S239D, A330L и I332E, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены P247I и A339D или A339Q, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены D280H, K290S и S298D или S298V или без них, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены F243L, R292P и Y300L, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены F243L, R292P, Y300L и P396L, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены F243L, R292P, Y300L, V305I и P396L, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены G236A, S239D и I332E, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены K326A и E333A, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены K326W и E333S, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat. В одном варианте осуществления IgG1 содержит аминокислотные замены K290E или K290N, S298G, T299A и K326E, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat.

Согласно данному описанию и сведениям из уровня техники предусматривается, что в некоторых вариантах осуществления антитело по настоящему изобретению может содержать одно или более изменений по сравнению с эквивалентным антителом дикого типа, например, в Fc-области. Эти антитела, тем не менее, будут сохранять по существу такие же характеристики, требуемые для терапевтического применения, по сравнению с их эквивалентами дикого типа. Например, предполагается, что в Fc-области можно осуществлять определенные изменения, которые будут приводить к измененному (т. е. либо улучшенному, либо сниженному) связыванию C1q и/или комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC), например, как описано в WO 99/51642. См. также Duncan и Winter Nature 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821 и WO 94/29351, касающиеся других примеров вариантов Fc-области. В WO00/42072 (Presta) и WO 2004/056312 (Lowman) описаны варианты антитела с улучшенным или сниженным связыванием с FcR. Содержание данных патентных публикаций конкретно включено в данный документ посредством ссылки. См. также Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001). Антитела с увеличенными периодами полужизни и улучшенным связыванием с неонатальным Fc-рецептором (FcRn), который отвечает за перенос материнских IgG к плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) и Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)), описаны в US 2005/0014934A1 (Hinton et al.). Данные антитела содержат Fc-область с

одной или более заменами, которые обеспечивают улучшение связывания Fc-области с FcRn. Варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области и повышенной или сниженной способностью к связыванию C1q описаны в патенте США № 6194551B1, WO 99/51642. Содержание данных патентных публикаций конкретно включено в данный документ посредством ссылки. См. также Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

7. Конъюгаты маскированное антитело-лекарственное средство

В настоящем изобретении также предусмотрены конъюгаты маскированное антитело-лекарственное средство (ADC), содержащие активированный маскированный связывающий белок к CTLA4, предусмотренный в данном документе, конъюгированный с одним или более цитотоксическими средствами, такими как химиотерапевтические средства или лекарственные средства, средства, подавляющие рост, токсины (например, белковые токсины, ферментативно активные токсины бактериального, грибного, растительного или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивные изотопы.

В одном варианте осуществления одно или более лекарственных средств, конъюгированных с получением конъюгата антитело-лекарственное средство, включают без ограничения майтанзиноид (см. патенты США №№ 5208020, 5416064 и европейский патент EP 0 425 235 B1); ауристин, как, например, компоненты DE и DF лекарственного средства на основе монометилауристина (ММАЕ и ММАФ) (см. патенты США №№ 5635483, и 5780588, и 7498298); доластатин; калихеамицин или его производное (см. патенты США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 и 5877296; Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); и Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)); антрациклин, такой как дауномицин или доксорубицин (см. Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002) и патент США № 6630579); метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел; трихотецен и CC1065.

В другом варианте осуществления одно или более лекарственных средств, конъюгированных с получением конъюгата антитело-лекарственное средство, включают без ограничения ингибитор полимеризации тубулина (например, майтанзиноиды и ауристатины), средства, повреждающие ДНК (например, димеры пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицины, дуокармицины и димеры индолинобензодиазепина), и ингибиторы синтеза ДНК (например, производное экзатекана Dxd).

В другом варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело, как описано в данном документе, конъюгированное с ферментативно активным токсином или его фрагментом, включая без ограничения А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающиеся активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь

экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, белки из *Aleurites fordii*, белки диантины, белки из *Phytolaca americana* (РАPI, РАPII и РАР-S), ингибитор из *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор из *Sarcodonia officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены.

В другом варианте осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело, как описано в данном документе, конъюгированное с радиоактивным атомом с образованием радиоконъюгата. Ряд радиоактивных изотопов доступен для получения радиоконъюгатов. Примеры включают At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 и радиоактивные изотопы Lu. Если радиоконъюгат применяется для выявления, он может содержать радиоактивный атом для скинтиграфических исследований, например tc99m или I123, или спиновую метку для ядерной магнитно-резонансной визуализации (ЯМР) (также известной как магнитно-резонансная визуализация, MRI), такую как йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо.

Конъюгаты активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) и цитотоксического средства можно получить с применением ряда бифункциональных средств, обеспечивающих образование связи с белком, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), иминотиолан (IT), бифункциональные производные имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин, представляющий собой рицин, можно получать, как описано в Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). Меченная углеродом-14 1-изотиоцианатбензил-3-метилдиэтилентриаминопентауксусная кислота (MX-DTPA) представляет собой иллюстративное хелатирующее средство для конъюгации радионуклеотида с антителом. См. WO 94/11026. Линкер может представлять собой «расщепляемый линкер», обеспечивающий высвобождение цитотоксического лекарственного средства в клетке. Например, можно применять кислотолабильный линкер, пептидазочувствительный линкер, фотолабильный линкер, диметиловый линкер или дисульфид-содержащий линкер (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); патент США № 5208020).

ADC в данном документе явным образом предусматривают, без ограничения такими конъюгатами, полученные с помощью поперечносшивающих реагентов, включая без ограничения BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфид-EMCS, сульфид-GMBS, сульфид-KMUS, сульфид-MBS,

сульфо-SIAB, сульфо-SMCC и сульфо-SMPB, и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат), которые являются коммерчески доступными (например, от Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, Иллинойс, США).

8. Векторы, клетки-хозяева и способы на основе рекомбинации

Для получения активируемых маскированных связывающих белков к CTLA4 по настоящему изобретению посредством рекомбинации кодирующую их нуклеиновую кислоту выделяют и вставляют в реплицируемый вектор для дальнейшего клонирования (амплификации ДНК) или для экспрессии. ДНК, кодирующую антитело, можно легко выделить и секвенировать с применением общепринятых процедур (например, с применением олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела). Доступно множество векторов. Выбор вектора частично зависит от клетки-хозяина, которую будут применять. Обычно клетки-хозяева имеют либо прокариотическое, либо эукариотическое (обычно от млекопитающих) происхождение. Будет понятно, что для данной цели можно применять константные области любого изотипа, включая константные области IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, и что такие константные области можно получать от человека или любого вида животных.

9. Получение связывающих белков с применением прокариотических клеток-хозяев

Конструкция вектора

Полинуклеотидные последовательности, кодирующие полипептидные компоненты активируемых маскированных связывающих белков к CTLA4 по настоящему изобретению, можно получать с применением стандартных методик на основе рекомбинации. Желаемые полинуклеотидные последовательности можно выделять и секвенировать из клеток, продуцирующих антитела, таких как гибридомные клетки. В качестве альтернативы полинуклеотиды можно синтезировать с применением устройства для синтеза нуклеотидов или ПЦР-методик. После получения последовательности, кодирующие полипептиды, вставляют в рекомбинантный вектор, обладающий способностью к репликации и экспрессии гетерологичных полинуклеотидов в прокариотических хозяевах. Для цели настоящего изобретения можно применять множество векторов, которые являются доступными и известными в данной области техники. Выбор соответствующего вектора будет зависеть в основном от размера нуклеиновых кислот, подлежащих вставке в вектор, и конкретной клетки-хозяина, подлежащей трансформации с помощью вектора. Каждый вектор содержит различные компоненты в зависимости от его функции (амплификации или экспрессии гетерологичного полинуклеотида, или и того, и другого) и его совместимости с конкретной клеткой-хозяином, в которой он располагается. Компоненты вектора обычно включают без ограничения точку начала репликации, селективный маркерный ген, промотор, участок связывания с рибосомой (RBS), сигнальную последовательность,

вставку гетерологичной нуклеиновой кислоты и последовательность терминации транскрипции.

В целом, плазмидные векторы, содержащие репликон и контрольные последовательности, которые получают от вида, совместимого с клеткой-хозяином, применяются в отношении данных хозяев. Вектор, как правило, несет сайт репликации, а также маркерные последовательности, которые способны обеспечивать фенотипическую селекцию в трансформированных клетках. Например, *E. coli*, как правило, трансформируют с применением pBR322, - плазмиды, полученной из вида *E. coli*. pBR322 содержит гены, кодирующие устойчивость к ампициллину (Amp) и тетрациклину (Tet), и, таким образом, обеспечивает легкий способ выявления трансформированных клеток. pBR322, ее производные или другие микробные плазмиды или бактериофаг могут также содержать, или могут быть модифицированы таким образом, чтобы они содержали промоторы, которые могут применяться микробным организмом для экспрессии эндогенных белков. Примеры производных pBR322, применяемых для экспрессии конкретных антител, подробно описаны в Carter et al., патенте США № 5648237.

Кроме того, фаговые векторы, содержащие репликон и контрольные последовательности, которые совместимы с микроорганизмом-хозяином, можно применять в качестве трансформирующих векторов в отношении данных хозяев. Например, бактериофаг, такой как λ GEM.TM.-11, можно использовать в получении рекомбинантного вектора, который можно применять для трансформации восприимчивых клеток-хозяев, таких как *E. coli* LE392.

Вектор экспрессии по настоящему изобретению может содержать две или более пар промотор-цистрон, кодирующих каждый из полипептидных компонентов. Промотор представляет собой нетранслируемую регуляторную последовательность, расположенную выше (5') цистрона, которая модулирует его экспрессию. Прокариотические промоторы, как правило, относятся к двум классам, - индуцируемому и конститутивному. Индуцируемый промотор представляет собой промотор, который стимулирует повышение уровней транскрипции цистрона, находящегося под его контролем, в ответ на изменения условий культивирования, например наличие или отсутствие питательного вещества или изменение температуры.

Хорошо известно большое число промоторов, распознаваемых рядом потенциальных клеток-хозяев. Выбранный промотор может быть функционально связан с ДНК цистрона, кодирующей легкую или тяжелую цепь, посредством удаления промотора из ДНК источника путем расщепления рестрикционным ферментом и вставки выделенной последовательности промотора в вектор по настоящему изобретению. Для управления амплификацией и/или экспрессией целевых генов можно применять как нативную последовательность промотора, так и множество гетерологичных промоторов. В некоторых вариантах осуществления используются гетерологичные промоторы, поскольку они обычно обеспечивают более высокий уровень транскрипции и более

высокий выход экспрессируемого целевого гена по сравнению с нативным промотором целевого полипептида.

Промоторы, подходящие для применения с прокариотическими хозяевами, включают промотор PhoA, промоторные системы на основе β -галактамазы и лактозы, промоторную систему на основе триптофана (Trp) и гибридные промоторы, такие как промотор tac или trc. Однако другие промоторы, которые являются функциональными у бактерий (такие как другие известные бактериальные или фаговые промоторы), также являются подходящими. Их нуклеотидные последовательности были опубликованы, что обеспечивает возможность квалифицированному специалисту функционально лигировать их с цистронами, кодирующими целевые легкие и тяжелые цепи (Siebenlist et al. (1980) Cell 20: 269), с применением линкеров или адаптеров для обеспечения любых требуемых сайтов рестрикции.

В одном аспекте настоящего изобретения каждый цистрон в пределах рекомбинантного вектора содержит компонент секреторной сигнальной последовательности, который управляет перемещением экспрессируемых полипептидов через мембрану. В целом, сигнальная последовательность может представлять собой компонент вектора или она может представлять собой часть ДНК целевого полипептида, которая вставлена в вектор. Сигнальная последовательность, выбранная для цели настоящего изобретения, должна представлять собой таковую, которая распознается и процессируется (т. е. расщепляется сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. Для прокариотических клеток-хозяев, которые не распознают и не процессируют сигнальные последовательности, нативные по отношению к гетерологичным полипептидам, сигнальную последовательность заменяют прокариотической сигнальной последовательностью, выбранной, например, из группы, состоящей из щелочной фосфатазы, пенициллиназы, Ipp или лидерных последовательностей термостабильного энтеротоксина II (STII), LamB, PhoE, PelB, OmpA и MBP. В одном варианте осуществления настоящего изобретения сигнальные последовательности, применяемые в обоих цистронах системы экспрессии, представляют собой сигнальные последовательности STII или их варианты.

В другом аспекте получение иммуноглобулинов в соответствии с настоящим изобретением может происходить в цитоплазме клетки-хозяина и, таким образом, не требует присутствия секреторных сигнальных последовательностей в пределах каждого цистрона. В этой связи легкая и тяжелая цепи иммуноглобулина экспрессируются с последовательностями для маскирующего пептида, линкерной последовательности и т. д. или без них, сворачиваются и собираются с образованием функциональных иммуноглобулинов в цитоплазме. Определенные штаммы-хозяева (например, штаммы E. coli trxB) обеспечивают условия в цитоплазме, которые являются благоприятными для образования дисульфидной связи, тем самым обеспечивая надлежащее сворачивание и сборку экспрессируемых белковых субъединиц. Proba и Pluckthun Gene, 159:203 (1995).

Активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 по настоящему изобретению можно также получать посредством применения системы экспрессии, где количественное соотношение экспрессируемых полипептидных компонентов можно модулировать с целью максимизации выхода секретируемых и надлежащим образом собранных антител по настоящему изобретению. Такая модуляция осуществляется по меньшей мере частично посредством одновременного модулирования показателей интенсивности трансляции для полипептидных компонентов.

Прокариотические клетки-хозяева, подходящие для экспрессии активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 по настоящему изобретению, включают *Archaeobacteria* и *Eubacteria*, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы. Примеры применимых бактерий включают бактерии рода *Escherichia* (например, *E. coli*), *Bacilli* (например, *B. subtilis*), *Enterobacteria*, видов рода *Pseudomonas* (например, *P. aeruginosa*), *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, бактерии рода *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella*, *Rhizobia*, *Vitreoscilla* или *Paracoccus*. В одном варианте осуществления применяются грамотрицательные клетки. В одном варианте осуществления для настоящего изобретения в качестве хозяев применяют клетки *E. coli*. Примеры штаммов *E. coli* включают штамм W3110 (Bachmann, Cellular and Molecular Biology, том 2 (Вашингтон: Американское общество микробиологии, 1987 г.), стр. 1190-1219; номер депонирования в ATCC 27325) и его производные, в том числе штамм 33D3, имеющий генотип W3110 Δ fhuA (Δ tonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompTA(nmpc-fepE) degP41 kanR (патент США № 5639635). Также подходящими являются другие штаммы и их производные, такие как *E. coli* 294 (номер депонирования в ATCC 31446), *E. coli* B, *E. coli* λ 1776 (номер депонирования в ATCC 31537) и *E. coli* RV308 (номер депонирования в ATCC 31608). Данные примеры являются иллюстративными, а не ограничивающими. Способы конструирования производных любых из вышеупомянутых бактерий, имеющих определенные генотипы, известны из уровня техники и описаны, например, в Bass et al., Proteins, 8:309-314 (1990). В общем случае необходимо выбрать соответствующую бактерию, принимая во внимание способность репликона к репликации в клетках бактерии. Например, если для обеспечения репликона применяют хорошо известные плазмиды, такие как pBR322, pBR325, pACYC177 или pKN410, в качестве хозяина можно соответствующим образом применять виды *E. coli*, *Serratia* или *Salmonella*. Как правило, клетка-хозяин должна секретировать минимальные количества протеолитических ферментов, и по желанию в культуру клеток можно включать дополнительные ингибиторы протеазы.

Получение связывающего белка

Клетки-хозяева трансформируют с помощью вышеописанных векторов экспрессии и культивируют в общепринятых питательных средах, модифицированных соответствующим образом для стимуляции промоторов, селекции трансформантов или амплификации генов, кодирующих требуемые последовательности.

Трансформация означает введение ДНК в прокариотического хозяина таким образом, чтобы ДНК могла реплицироваться либо в виде внехромосомного элемента, либо посредством интегрированного в хромосому элемента. В зависимости от применяемой клетки-хозяина трансформацию осуществляют с применением стандартных методик, соответствующих таким клеткам. Обработку кальцием с использованием хлорида кальция обычно используют для бактериальных клеток, которые содержат существенные барьеры в виде клеточной стенки. В другом способе трансформации используется полиэтиленгликоль/DMSO. Еще одна другая применяемая методика представляет собой электропорацию.

Прокариотические клетки, применяемые для получения активируемых маскированных связывающих белков к CTLA4 по настоящему изобретению, выращивают в средах, известных из уровня техники и подходящих для культивирования выбранных клеток-хозяев. Примеры подходящих сред включают среду Лурия (LB) с необходимыми питательными добавками. В некоторых вариантах осуществления среды также содержат селективное средство, выбранное на основе конструкции вектора экспрессии, для обеспечения селективного роста прокариотических клеток, содержащих вектор экспрессии. Например, в среды для выращивания клеток, экспрессирующих ген устойчивости к ампициллину, добавляют ампициллин.

Любые необходимые добавки, помимо источников углерода, азота и неорганического фосфата, также можно включать в соответствующих концентрациях, вводимых по отдельности или в виде смеси с другой добавкой или средой, такой как комплексный источник азота. Среда для культивирования может необязательно содержать одно или более восстанавливающих средств, выбранных из группы, состоящей из глутатиона, цистеина, цистамина, тиогликолята, дитиоэритритола и дитиотреитола.

Прокариотические клетки-хозяева культивируют при подходящих значениях температуры. В определенных вариантах осуществления для выращивания *E. coli* значения температуры для выращивания находятся в диапазоне от приблизительно 20°C до приблизительно 39°C; от приблизительно 25°C до приблизительно 37°C или приблизительно 30°C. Значение pH среды может представлять собой любое значение pH в диапазоне от приблизительно 5 до приблизительно 9, что главным образом зависит от организма-хозяина. В определенных вариантах осуществления для *E. coli* значение pH составляет от приблизительно 6,8 до приблизительно 7,4 или приблизительно 7,0.

Если в векторе экспрессии по настоящему изобретению применяется индуцируемый промотор, экспрессию белка индуцируют в условиях, подходящих для активации промотора. В одном аспекте настоящего изобретения для контроля транскрипции полипептидов применяют промоторы PhoA. Соответственно, трансформированные клетки-хозяева культивируют в среде для индукции, содержащей ограниченное количество фосфата. В определенных вариантах осуществления среда, содержащая ограниченное количество фосфата, представляет собой среду C.R.A.P. (см., например, Simmons et al., *J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147). Можно применять ряд

других индуцирующих средств в соответствии с используемой конструкцией вектора, как известно из уровня техники.

В одном варианте осуществления экспрессируемые активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 по настоящему изобретению секретируются в периплазму клеток-хозяев и извлекаются из нее. Извлечение белка, как правило, включает разрушение микроорганизма, обычно посредством способов, таких как осмотический шок, обработка ультразвуком или лизис. После разрушения клеток клеточный детрит или цельные клетки можно удалять посредством центрифугирования или фильтрации. Белки можно подвергать дополнительной очистке, например, посредством хроматографии на аффинных смолах. В качестве альтернативы белки можно переносить в среды для культивирования и выделять из них. Клетки можно удалять из культуры, и надсадочную жидкость культуры можно фильтровать и концентрировать для дополнительной очистки полученных белков. Экспрессируемые полипептиды можно дополнительно выделять и идентифицировать с применением общеизвестных способов, таких как электрофорез на полиакриламидном геле (PAGE) и анализ методом вестерн-блоттинга.

В одном аспекте настоящего изобретения получение активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 проводят в большом количестве посредством процесса ферментации. Для получения рекомбинантных белков доступны различные крупномасштабные периодические процедуры ферментации с подпиткой. Крупномасштабные процедуры ферментации характеризуются производительностью, составляющей по меньшей мере 1000 литров, и в определенных вариантах осуществления характеризуются емкостью, составляющей от приблизительно 1000 до 100000 литров. В таких ферментерах применяются лопастные мешалки для распределения кислорода и питательных веществ, в частности глюкозы. Мелкомасштабная ферментация в общем случае относится к ферментации в ферментере, объемная производительность которого составляет не более чем приблизительно 100 литров и может находиться в диапазоне от приблизительно 1 литра до приблизительно 100 литров.

В процессе ферментации индукцию экспрессии белка, как правило, начинают после того, как клетки вырастают при подходящих условиях до необходимой плотности, например OD550, составляющей приблизительно 180-220, на данной стадии клетки находятся в ранней стационарной фазе. Можно применять ряд индуцирующих средств в соответствии с используемой конструкцией вектора, как известно из уровня техники и описано выше. Клетки можно выращивать в течение более коротких периодов перед индукцией. Клетки обычно индуцируют в течение приблизительно 12-50 часов, хотя можно применять более длительное или более короткое время индукции.

Для улучшения выхода продукции и качества полипептидов по настоящему изобретению можно модифицировать различные условия ферментации. Например, для обеспечения улучшения в отношении надлежащей сборки и сворачивания секретируемых полипептидов антител можно применять дополнительные векторы со сверхэкспрессией белков-шаперонов, таких как белки Dsb (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD и/или DsbG) или FkpA

(пептидилпролил-цис, транс-изомераза с активностью шаперона) для совместной трансформации прокариотических клеток-хозяев. Было продемонстрировано, что белки-шапероны облегчают надлежащее сворачивание и растворимость гетерологичных белков, продуцируемых в бактериальных клетках-хозяевах. Chen et al. (1999) *J. Biol. Chem.* 274:19601-19605; Georgiou et al., патент США № 6083715; Georgiou et al., патент США № 6027888; Bothmann и Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105; Ramm и Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113; Arie et al. (2001) *Mol. Microbiol.* 39:199-210.

Для минимизации протеолиза экспрессируемых гетерологичных белков (в особенности, таковых, чувствительных к протеолизу) для настоящего изобретения можно применять определенные штаммы-хозяева, дефицитные в отношении протеолитических ферментов. Например, штаммы клеток-хозяев можно модифицировать с получением генетической мутации(мутаций) в генах, кодирующих известные бактериальные протеазы, такие как протеаза III, OmpT, DegP, Tsp, протеаза I, протеаза Mi, протеаза V, протеаза VI и их комбинации. Некоторые штаммы *E. coli*, дефицитные в отношении протеазы, являются доступными и описаны, например, в Joly et al. (1998), выше; Georgiou et al., патенте США № 5264365; Georgiou et al., патент США № 5508192; Hara et al., *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996).

В одном варианте осуществления штаммы *E. coli*, дефицитные в отношении протеолитических ферментов и трансформированные с помощью плазмид со сверхэкспрессией одного или более белков-шаперонов, применяют в качестве клеток-хозяев в системе экспрессии по настоящему изобретению.

Очистка связывающего белка

В одном варианте осуществления маскированный белок антитела, полученный в данном документе, подвергают дополнительной очистке с получением препаратов, которые являются по существу гомогенными, для дальнейших анализов и вариантов применения. Можно использовать стандартные способы очистки белка, известные из уровня техники. Следующие способы приведены в качестве примера подходящих процедур очистки: фракционирование на иммуноаффинных или ионообменных колонках, осаждение этанолом, HPLC с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния или катионообменной смоле, такой как DEAE, хроматофокусирование, SDS-PAGE, осаждение сульфатом аммония и гель-фильтрация с применением, например, Sephadex G-75.

В одном аспекте белок А, иммобилизованный на твердой фазе, применяют для иммуноаффинной очистки продуктов на основе антитела по настоящему изобретению. Белок А представляет собой белок клеточной стенки массой 41 кДа из *Staphylococcus aureus*, который связывается с высокой аффинностью с Fc-областью антител. Lindmark et al (1983) *J. Immunol. Meth.* 62:1-13. Твердая фаза, на которой иммобилизован белок А, может представлять собой колонку, содержащую стеклянную или кремнеземную поверхность или стеклянную колонку с контролируемым размером пор или колонку с кремниевой кислотой. В некоторых вариантах применения колонку покрывают реагентом, таким как глицерин, для предотвращения неспецифической адгезии примесей.

В качестве первой стадии очистки препарат, полученный из культуры клеток, как описано выше, можно помещать на твердую фазу с иммобилизованным белком А для обеспечения специфического связывания антитела, представляющего интерес, с белком А. Затем твердую фазу промывают для удаления примесей, неспецифически связанных с твердой фазой. Наконец, антитело, представляющее интерес, извлекают из твердой фазы посредством элюирования.

10. Получение связывающих белков с применением эукариотических клеток-хозяев

Вектор для применения в эукариотической клетке-хозяине обычно содержит один или более из следующих неограничивающих компонентов: сигнальная последовательность, точка начала репликации, один или более маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции.

Вектор для применения в эукариотической клетке-хозяине может также содержать сигнальную последовательность или другой полипептид, содержащие специфический сайт расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида, представляющих интерес. Выбранная гетерологичная сигнальная последовательность может представлять собой таковую, распознаваемую и процессируемую (т. е. расщепляемую сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. Для экспрессии в клетках млекопитающих доступны сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные секреторные лидерные последовательности, например gD-сигнал вируса простого герпеса. ДНК для области такого предшественника лигируют в рамке считывания с ДНК, кодирующей антитело.

Точка начала репликации

Обычно компонент, представляющий собой точку начала репликации, не является необходимым для векторов экспрессии млекопитающих. Например, точку начала репликации SV40, как правило, можно применять только потому, что она содержит ранний промотор.

Компонент, представляющий собой селективный ген

Векторы для экспрессии и клонирования могут содержать селективный ген, также называемый селективируемым маркером. Типичные селективные гены кодируют белки, которые (а) придают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, например ампициллину, неомицину, метотрексату или тетрациклину, (b) обеспечивают восполнение видов ауксотрофной недостаточности, где это применимо, или (с) обеспечивают жизненно важные питательные вещества, которые не доступны в комплексных средах.

В одном примере схемы селекции используется лекарственное средство для остановки роста клетки-хозяина. Те клетки, которые были успешно трансформированы с помощью гетерологичного гена, продуцируют белок, придающий устойчивость к лекарственному средству, и, таким образом, выживают в режиме селекции. В примерах такой доминантной селекции применяются лекарственные средства, представляющие собой неомицин, микофеноловую кислоту и гигромицин.

Другим примером подходящих селективируемых маркеров для клеток млекопитающих являются маркеры, которые обеспечивают идентификацию клеток, компетентных в отношении поглощения нуклеиновой кислоты, кодирующей активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, такие как DHFR, тимидинкиназы, металлотионеина I и II, металлотионеина приматов, аденозиндезаминаза, орнитиндекарбоксилаза и т. п.

Например, в некоторых вариантах осуществления клетки, трансформированные с помощью селективного гена DHFR, сначала идентифицируют посредством культивирования всех трансформантов в среде для культивирования, которая содержит метотрексат (Mtx), конкурентный антагонист DHFR. В некоторых вариантах осуществления соответствующая клетка-хозяин для использования DHFR дикого типа представляет собой линию клеток яичника китайского хомяка (CHO), дефицитную в отношении активности DHFR (например, номер депонирования в ATCC CRL-9096).

В качестве альтернативы клетки-хозяева (в частности, хозяева дикого типа, которые содержат эндогенный DHFR), трансформированные или совместно трансформированные с помощью последовательностей ДНК, кодирующих активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, белок DHFR дикого типа и другой селективируемый маркер, такой как аминогликозид-3'-фосфотрансфераза (APH), можно подвергать селекции посредством выращивания клетки в среде, содержащей селективное средство для селективируемого маркера, такое как аминогликозидный антибиотик, например, канамицин, неомицин или G418. См. патент США № 4965199. Клетки-хозяева могут включать NS0, в том числе линии клеток, дефицитные в отношении глутаминсинтетазы (GS). Способы применения GS в качестве селективируемого маркера для клеток млекопитающих описаны в патенте США № 5122464 и патенте США № 5891693.

Компонент, представляющий собой промотор

Векторы для экспрессии и клонирования обычно содержат промотор, который распознается организмом-хозяином и функционально связан с нуклеиновой кислотой, кодирующей активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, представляющий интерес. Промоторные последовательности для эукариот являются известными. Например, практически все гены эукариот содержат область, богатую AT, расположенную на примерно 25-30 оснований выше от сайта, где начинается транскрипция. Другая последовательность, находящаяся на 70-80 оснований выше от старта транскрипции во многих генах, представляет собой область CNCAAT, где N может представлять собой любой нуклеотид. На 3'-конце большинства генов эукариот располагается последовательность AATAAA, которая может представлять собой сигнал для добавления хвоста поли(А) к 3'-концу кодирующей последовательности. В определенных вариантах осуществления любую или все из данных последовательностей можно подходящим образом вставлять в эукариотические векторы экспрессии.

Транскрипция с векторов в клетках-хозяевах млекопитающих контролируется, например, промоторами, полученными из геномов вирусов, таких как вирус полиомы,

вирус оспы птиц, аденовирус (такой как аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и вирус обезьян 40 (SV40), из гетерологичных промоторов млекопитающих, например, промотора актина или промотора иммуноглобулина, из промоторов белков теплового шока, при условии, что такие промоторы совместимы с системами клетки-хозяина.

Ранние и поздние промоторы вируса SV40 удобно получать в виде рестрикционного фрагмента SV40, который также содержит вирусную точку начала репликации SV40. Немедленно-ранний промотор цитомегаловируса человека удобно получать в виде рестрикционного фрагмента, обеспечиваемого HindIII E. Система для обеспечения экспрессии ДНК у хозяев-млекопитающих с применением вируса папилломы крупного рогатого скота в качестве вектора раскрыта в патенте США № 4419446. Модификация данной системы описана в патенте США № 4601978. См. также Reyes et al., *Nature* 297:598-601 (1982), в которой описана экспрессия кДНК β -интерферона человека в клетках мыши под контролем промотора тимидинкиназы из вируса простого герпеса. В качестве альтернативы длинный концевой повтор вируса саркомы Рауса можно применять в качестве промотора.

Компонент, представляющий собой энхансерный элемент

Транскрипция ДНК, кодирующей антитело по настоящему изобретению, у высших эукариот часто повышается посредством вставки энхансерной последовательности в вектор. В настоящее время известно множество энхансерных последовательностей из генов млекопитающих (генов глобина, эластазы, альбумина, α -фетопротеина и инсулина). Однако, как правило, применяют энхансер из вируса эукариотических клеток. Примеры включают энхансер SV40 на участке позднего начала репликации (100-270 п. о.), энхансер раннего промотора цитомегаловируса человека, энхансер раннего промотора цитомегаловируса мыши, энхансер вируса полиомы на участке позднего начала репликации и энхансеры аденовируса. См. также Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982), в которой описаны энхансерные элементы для активации эукариотических промоторов. Энхансер может быть сплайсирован в векторе в положении, находящемся в направлении 5' или 3' по отношению к последовательности, кодирующей полипептид антитела, но обычно он располагается в сайте, расположенном в направлении 5' от промотора.

Компонент, представляющий собой последовательность терминации транскрипции

Векторы экспрессии, применяемые в эукариотических клетках-хозяевах, могут также содержать последовательности, необходимые для терминации транскрипции и стабилизации мРНК. Такие последовательности обычно расположены в 5'- и иногда в 3'-нетранслируемых областях эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Данные области содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой части мРНК, кодирующей антитело. Один применимый компонент, представляющий собой последовательность терминации транскрипции, представляет собой область полиаденилирования гормона роста крупного рогатого скота. См. WO 94/11026 и вектор экспрессии, раскрытый в ней.

Отбор и трансформация клеток-хозяев

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии ДНК в векторах в данном документе включают клетки высших эукариот, описанные в данном документе, включая клетки-хозяева позвоночных. Размножение клеток позвоночных в культуре (культуре тканей) стало обычной процедурой. Примеры пригодных линий клеток-хозяев млекопитающих представляют собой линию клеток почки мартышки CV1, трансформированную SV40 (COS-7, номер депонирования в ATCC CRL 1651); линию клеток почки эмбриона человека (293 или клетки 293, субклонированные для выращивания в суспензионной культуре, Graham et al., *J. Gen. Virol.* 36:59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (ВНК, номер депонирования в ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); клетки Сертоли мыши (TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1, номер депонирования в ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, номер депонирования в ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, номер депонирования в ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, номер депонирования в ATCC CCL 34); клетки печени крыс линии Буффало (BRL 3A, номер депонирования в ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, номер депонирования в ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, HB 8065); опухоль молочной железы мыши (MMT 060562, номер депонирования в ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)); клетки MRC 5; клетки FS4 и линию клеток гепатомы человека (Hep G2).

Клетки-хозяева трансформируют с помощью вышеописанных векторов для экспрессии или клонирования для получения активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 и культивируют в общепринятых питательных средах, модифицированных соответствующим образом для стимуляции промоторов, селекции трансформантов или амплификации генов, кодирующих желаемые последовательности.

Культивирование клеток-хозяев

Клетки-хозяева, применяемые для получения активируемых маскированных связывающих белков к CTLA4 по настоящему изобретению, можно культивировать в ряде сред. Коммерчески доступные среды, такие как среда Хэма F10 (Sigma), минимальная питательная среда ((MEM), Sigma), RPMI-1640 (Sigma) и среда Игла в модификации Дульбекко ((DMEM), Sigma) подходят для культивирования клеток-хозяев. Кроме того, любые из сред, описанных в Ham et al., *Meth. Enz.* 58:44 (1979), Barnes et al., *Anal. Biochem.* 102:255 (1980), патентах США № 4767704; 4657866; 4927762; 4560655 или 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195; или патенте США № Re. 30,985, можно применять в качестве сред для культивирования для клеток-хозяев. В любую из данных сред по мере необходимости можно добавлять гормоны и/или другие факторы роста (такие как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), соли (такие как хлорид натрия, соли кальция, магния и фосфат), буферы (такие как HEPES), нуклеотиды (такие как аденозин и тимидин), антибиотики (такие как лекарственное средство GENTAMYCIN™),

микроэлементы (определяемые как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях в микромолярном диапазоне) и глюкозу или эквивалентный источник энергии. Можно также включать любые другие добавки в соответствующих концентрациях, которые будут известны специалисту в данной области техники. Условия культивирования, такие как температура, рН и т. п., представляют собой условия, которые применяли ранее для клетки-хозяина, выбранной для экспрессии, и они будут очевидны для специалиста средней квалификации в данной области техники.

i) Очистка связывающего белка

При применении методик на основе рекомбинации активируемые маскированные связывающие белки к CTLA4 могут продуцироваться внутриклеточно или могут непосредственно секретироваться в среду. Если антитело продуцируется внутриклеточно, то в качестве первой стадии дебрис в виде частиц, либо клетки-хозяина, либо полученные в результате лизиса фрагменты можно удалять, например, посредством центрифугирования или ультрафильтрации. Если активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 секретируется в среду, то образцы надосадочной жидкости из таких систем экспрессии, как правило, сначала концентрируют с применением коммерчески доступного фильтра для концентрирования белка, например, комплекта для ультрафильтрации Amicon или Millipore Pellicon. На любой из вышеописанных стадий можно включать ингибитор протеазы, такой как PMSF, для ингибирования протеолиза, и можно включать антибиотики для предотвращения роста посторонних примесей.

Композицию на основе антитела, полученную из клеток, можно подвергать очистке с применением, например, хроматографии на гидроксипатите, гель-электрофореза, диализа и аффинной хроматографии, при этом аффинная хроматография представляет собой удобную методику. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изоформа Fc-домена иммуноглобулина, который присутствует в антителе. Белок А можно применять для очистки антител, которые получены на основе тяжелых цепей $\gamma 1$, $\gamma 2$ или $\gamma 4$ человека (Lindmark et al., *J. Immunol. Methods* 62:1-13 (1983)). Белок G рекомендован для всех изоформ мыши и для $\gamma 3$ человека (Guss et al., *EMBO J.* 5:1567-1575 (1986)). Матрица, к которой присоединен аффинный лиганд, может представлять собой агарозу, однако доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдивинил)бензол, обеспечивают возможность применения более высоких скоростей потока и более короткого времени обработки, чем таковые, которых можно достичь при использовании агарозы. Если антитело содержит CH3-домен, для очистки применима смола Wakerbond АВХ™ (J. T. Waker, Филлипсбург, Нью-Джерси). Также доступны другие методики для очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, HPLC с обращенной фазой, хроматография на кремнеземе, хроматография на гепарине, хроматография SEPHAROSE™ на анионообменной или катионообменной смоле (например, на колонке с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование,

SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония, в зависимости от антитела, подлежащего извлечению.

После любой предварительной стадии(ий) очистки смесь, содержащую маскированный связывающий белок, представляющий интерес, и примеси, можно подвергать дополнительной очистке, например, посредством хроматографии гидрофобного взаимодействия при низком значении рН с применением буфера для элюирования при значении рН, составляющем от приблизительно 2,5 до 4,5, которую проводят при низких концентрациях соли (например, от приблизительно 0 М до 0,25 М соли).

В целом, различные методики получения антител для применения в научно-исследовательской работе, тестирования и клинического применения хорошо известны из уровня техники, согласуются с вышеописанными методиками и/или сочтены целесообразными специалистом в данной области техники для конкретного антитела, представляющего интерес.

Композиции

В некоторых аспектах в данном документе также предусмотрены композиции (например, фармацевтическая композиция), содержащие любые из активируемых маскированных связывающих белков к CTLA4, описанных в данном документе.

Терапевтические составы получают для хранения посредством смешивания активного ингредиента, характеризующегося желаемой степенью чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20-е изд., Lippincott Williams & Wilkins, Pub., под ред. Gennaro, Филадельфия, Пенсильвания, 2000). Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту, метионин, витамин Е, метабисульфит натрия; консерванты, изотонирующие средства, стабилизаторы, комплексы с металлами (например, комплексы Zn-белок); хелатирующие средства, такие как EDTA, и/или неионогенные поверхностно-активные вещества.

Буферы можно применять для регуляции рН в диапазоне, который оптимизирует терапевтическую эффективность, в особенности, если стабильность является зависимой от рН. Буферы могут присутствовать в концентрациях, находящихся в диапазоне от приблизительно 20 мМ до приблизительно 250 мМ. Подходящие буферные средства для применения с настоящим изобретением включают как органические, так и неорганические кислоты и их соли. Например, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, фумарат, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Кроме того, буферы могут состоять из солей гистидина и триметиламина, как, например, Tris.

Консерванты можно добавлять для предупреждения роста микроорганизмов, и они, как правило, присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,2% до 1,0% (вес/об.). Подходящие консерванты для применения в настоящем изобретении включают хлорид

октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; галогениды бензалкония (например, хлорид, бромид, йодид), хлорид бензетония; тимеросал, фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехин; резорцин; циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол.

Средства, регулирующие тоничность, иногда известные как «стабилизаторы», могут присутствовать для коррекции или поддержания тоничности жидкости в композиции. При применении с крупными заряженными биомолекулами, такими как белки и антитела, они часто называются «стабилизаторами», поскольку они могут взаимодействовать с заряженными группами боковых цепей аминокислот, тем самым снижая потенциал межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий. Средства, регулирующие тоничность, могут присутствовать в любом количестве от приблизительно 0,1% до приблизительно 25% по весу или от приблизительно 1% до приблизительно 5% по весу с учетом относительных количеств других ингредиентов. В некоторых вариантах осуществления средства, регулирующие тоничность, включают многоатомные сахарные спирты, трехатомные или высшие сахарные спирты, такие как глицерин, эритрит, арабит, ксилит, сорбит и маннит.

Дополнительные вспомогательные вещества включают средства, которые могут служить в качестве одного или более из следующего: (1) объемобразующие средства, (2) средства, улучшающие растворимость, (3) стабилизаторы и (4) средства, предупреждающие денатурацию или адгезию к стенке контейнера. Такие вспомогательные вещества включают многоатомные сахарные спирты (перечисленные выше); аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, лизин, орнитин, лейцин, 2-фенилаланин, глутаминовая кислота, треонин и т. д.; органические сахара или сахарные спирты, такие как сахароза, лактоза, лактит, трегалоза, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибит, миоинизитоза, миоинизит, галактоза, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстанавливающие средства, такие как мочевины, глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, α -монотиоглицерин и тиосульфат натрия; белки с низкой молекулярной массой, такие как сывороточный альбумин человека, бычий сывороточный альбумин, желатин или другие иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; моносахариды (например, ксилозу, маннозу, фруктозу, глюкозу); дисахариды (например, лактозу, мальтозу, сахарозу); трисахариды, такие как раффиноза; и полисахариды, такие как декстрин или декстран.

Неионогенные поверхностно-активные вещества или детергенты (также известные как «смачивающие средства») могут присутствовать для облегчения солюбилизации терапевтического средства, а также защиты терапевтического белка от агрегации, индуцированной перемешиванием, что также делает возможным избегание денатурации активного терапевтического белка или антитела при воздействии на состав напряжения поверхностного трения. Неионогенные поверхностно-активные вещества присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,05 мг/мл до приблизительно 1,0 мг/мл или от

приблизительно 0,07 мг/мл до приблизительно 0,2 мг/мл. В некоторых вариантах осуществления неионогенные поверхностно-активные вещества присутствуют в диапазоне от приблизительно 0,001% до приблизительно 0,1% вес/об., или от приблизительно 0,01% до приблизительно 0,1% вес/об., или от приблизительно 0,01% до приблизительно 0,025% вес/об.

Подходящие неионогенные поверхностно-активные вещества предусматривают полисорбаты (20, 40, 60, 65, 80 и т. д.), полиоксамеры (184, 188 и т. д.), полиолы PLURONIC®, TRITON®, моноэфиры полиоксиэтиленсорбитана (TWEEN®-20, TWEEN®-80 и т. п.), лауромакрогол 400, стеарат полиоксила 40, полиоксиэтилен-гидрогенизированное касторовое масло 10, 50 и 60, моностеарат глицерина, сложный эфир сахарозы и жирной кислоты, метилцеллюлозу и карбоксиметилцеллюлозу. Анионные детергенты, которые можно применять, включают лаурилсульфат натрия, диоктилсульфосукцинат натрия и диоктилсульфонат натрия. Катионные детергенты включают хлорид бензалкония или хлорид бензетония.

Для того, чтобы составы применялись для введения *in vivo*, они должны быть стерильными. Состав можно сделать стерильным посредством фильтрации через мембраны для стерилизующей фильтрации. Терапевтические композиции в данном документе обычно помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например пакет или флакон для раствора для внутривенного введения с пробкой, которую можно проколоть иглой для подкожной инъекции.

Путь введения соответствует известным и принятым способам, например, введение осуществляется посредством одного или нескольких болюсных введений или посредством инфузии в течение длительного времени подходящим способом, например, посредством инъекции или инфузии подкожным, внутривенным, внутривенным, внутривенным, внутримышечным, внутриартериальным, внутриочаговым или внутрисуставным путем, посредством местного введения, ингаляции, или посредством способов, предусматривающих замедленное высвобождение или пролонгированное высвобождение.

Активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4, описанный в данном документе (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), можно применять отдельно или в комбинации с другими терапевтическими средствами, такими как в способах, описанных в данном документе. Термин «в комбинации с» охватывает два или более терапевтических средства (например, активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 и терапевтическое средство), которые включены в один и тот же или в отдельные составы. В некоторых вариантах осуществления термин «в комбинации с» относится к «одновременному» введению, в данном случае введение активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 по настоящему изобретению происходит одновременно с введением одного или более дополнительных терапевтических средств (например, в одно и то же время или в пределах одного часа между введением(ями) активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 и введением одного или более дополнительных терапевтических средств). В

некоторых вариантах осуществления термин «в комбинации с» относится к последовательному введению, в данном случае введение активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 по настоящему изобретению происходит до и/или после введения одного или более дополнительных терапевтических средств (например, более чем один час между введением(ями) активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 и введением одного или более дополнительных терапевтических средств). Средства, предусмотренные в данном документе, включают без ограничения цитотоксическое средство, цитокин, средство, направленное на молекулу контрольных точек иммунного ответа, средство, направленное на молекулу иммуностимулятора, или средство, подавляющее рост.

Состав в данном документе может также содержать более чем одно активное соединение, в зависимости от того, что необходимо для конкретного показания, в отношении которого осуществляется лечение, предпочтительно таковые с комплементарными видами активности, которые не влияют друг на друга нежелательным образом. В качестве альтернативы или дополнительно композиция может содержать цитотоксическое средство, цитокин, средство, направленное на молекулу контрольных точек иммунного ответа или молекулу стимулятора, или средство, подавляющее рост. Такие молекулы соответственно присутствуют в комбинации в количествах, которые являются эффективными для предусмотренной цели.

Изделия или наборы

В другом аспекте предусмотрено изделие или набор, которые содержат активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент), описанный в данном документе. Изделие или набор могут дополнительно содержать инструкции по применению связывающих белков в способах по настоящему изобретению. Таким образом, в определенных вариантах осуществления изделие или набор содержат инструкции по применению активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента) в способах лечения или предупреждения нарушения (например, рака) у индивидуума, включающих введение индивидууму эффективного количества активируемого маскированного связывающего белка к CTLA4 (например, активируемого маскированного антитела к CTLA4 или его антигенсвязывающего фрагмента). В определенных вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления индивидуум страдает заболеванием, выбранным из группы, состоящей из лейкоза, лимфомы, рака головы и шеи, колоректального рака, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, меланомы, рака молочной железы, нейроblastомы, рака легкого, рака яичника, остеосаркомы, рака мочевого пузыря, рака шейки матки, рака печени, рака почек, рака кожи или рака яичка.

Изделие или набор могут дополнительно содержать контейнер. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы (например, двухкамерные флаконы), шприцы (такие как однокамерные или двухкамерные шприцы) и пробирки. Контейнер может быть изготовлен из ряда материалов, таких как стекло или пластик. В контейнере содержится состав. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой лиофилизированный состав.

Изделие или набор могут дополнительно содержать этикетку или листок-вкладыш в упаковку, которые находятся на контейнере или ассоциированы с ним, в которых могут быть указаны инструкции по восстановлению и/или применению состава. На этикетке или в листке-вкладыше в упаковку может быть дополнительно указано, что состав является применимым или предназначен для подкожного, внутривенного или других путей введения для лечения или предупреждения нарушения (например, рака) у индивидуума. Контейнер, в котором содержится состав, может представлять собой флакон для одноразового применения или флакон для многократного применения, который обеспечивает возможность повторных введений восстановленного состава. Изделие или набор могут дополнительно содержать второй контейнер, содержащий подходящий разбавитель. Изделие или набор могут дополнительно содержать другие материалы, необходимое с коммерческой, терапевтической и пользовательской точки зрения, в том числе другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и листки-вкладыши в упаковку с инструкциями по применению.

В конкретном варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает наборы для единицы для однократного введения дозы. Такие наборы содержат контейнер с жидким составом на основе терапевтического антитела, включая предварительно заполненные шприцы с одной или несколькими камерами. Иллюстративные предварительно заполненные шприцы доступны от Vetter GmbH, Равенсбург, Германия.

Изделие или набор в данном документе необязательно дополнительно содержат контейнер, содержащий второй лекарственный препарат, где активируемый маскированный связывающий белок к CTLA4 (например, активируемое маскированное антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент) представляет собой первый лекарственный препарат, и где изделие или набор на этикетке или в листке-вкладыше в упаковку дополнительно содержат инструкции для лечения субъекта с помощью второго лекарственного препарата в эффективном количестве.

В другом варианте осуществления в данном документе предусмотрено изделие или набор, содержащие составы, описанные в данном документе, для введения в устройстве для аутоинъекций. Аутоинъектор можно описать как устройство для инъекций, которое после активации будет доставлять его содержимое без необходимости дополнительного действия со стороны пациента или лица, осуществляющего введение. Они особенно подходят для самостоятельного введения терапевтических составов, где скорость доставки должна быть постоянной и время доставки составляет более чем несколько мгновений.

ПРИМЕРЫ

Более полное понимание настоящего изобретения будет достигаться с помощью ссылки на следующие примеры. Однако их не следует толковать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Понятно, что примеры и варианты осуществления, описанные в данном документе, предназначены лишь для иллюстративных целей и что с их учетом специалистам в данной области техники будут предложены различные модификации или изменения, и они подлежат включению в сущность и сферу действия данной заявки, а также объема прилагаемой формулы изобретения.

Пример 1. Эффективность *in vivo* средства регуляции сигнального пути CTLA-4 и PD-1 у мышей B-hCTLA4

Настоящий пример демонстрирует *in vivo* терапевтическую эффективность маскированного антитела к CTLA-4 (например, антитела А) и средства регуляции сигнального пути PD-1 (например, RMP1-14) у мышей B-hCTLA4, несущих распространенные опухоли MC38.

Клетки карциномы толстой кишки мыши MC38 поддерживали в асептических условиях в среде Игла в модификации Дульбекко (DMEM) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 0,1 мМ заменимых аминокислот, 1 мМ пирувата натрия и 10 мМ NEPES в увлажненном инкубаторе при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂. По достижении 50-70% слияния клетки пассировали в общей сложности в течение трех пассажей перед имплантацией *in vivo*.

Самкам мышей B-hCTLA4 (возраст 13-14 недель) подкожно вводили путем инъекции опухолевые клетки MC38 ($0,5 \times 10^6$) в 0,1 мл бессывороточной среды в правый бок для развития опухоли. Животных, несущих опухоли, рандомизировали в 8 исследуемых групп по 8 мышей, когда средний размер опухоли достигал приблизительно 150 мм³. Как обобщено в таблице 6, включены следующие группы: изотипический контроль (G1: 10 мг/кг), монотерапия с помощью антитела А в 2 дозах (G2: 0,3 мг/кг, G3: 1,0 мг/кг), монотерапия с помощью RMP1-14 (G4: 10 мг/кг), комбинированная терапия с RMP1-14 (10 мг/кг) с 2 дозами антитела А (G5: 0,3 мг/кг, G6: 1,0 мг/кг) и монотерапия с помощью ипилимумаба в 2 дозах (G7: 0,3 мг/кг, G8: 1,0 мг/кг). Изотипический контроль, антитело А и ипилимумаб вводили животным в виде одной внутривенной инъекции IV, тогда как RMP1-14 вводили Q3D три раза путем внутрибрюшинной инъекции.

Таблица 6. Исследуемые группы и схемы лечения

Группа	Тестируемое изделие	ROA	Уровень дозы	Схема введения доз
1	Изотипический контроль	I.V	10 мг/кг	День 0
2	Антитело А	I.V	0,3 мг/кг	День 0
3	Антитело А	I.V	1 мг/кг	День 0

4	RMP1-14	I.P	10 мг/кг	День 0, 3, 6
5	Антитело А	I.V	0,3 мг/кг	День 0
	RMP1-14	I.P	10 мг/кг	День 0, 3, 6
6	Антитело А	I.V	1 мг/кг	День 0
	RMP1-14	I.P	10 мг/кг	День 0, 3, 6
7	Ипилимумаб*	I.V	0,3 мг/кг	День 0
8	Ипилимумаб*	I.V	1 мг/кг	День 0

*Ипилимумаб, используемый в этом эксперименте, представляет собой состав для клинического применения, полученный из аптеки.

Объем опухоли (TV) и вес тела (BW) измеряли и регистрировали 2-3 раза в неделю на протяжении всего исследования. После фазы введения доз за животными наблюдали до конечной точки исследования (день 55), и отдельных животных подвергали эвтаназии, когда каждое достигало TV, составляющего 2000 мм³, или любой другой гуманной конечной точки. Дату окончания исследования для каждого животного регистрировали для анализа выживаемости (фиг. 4А - 4D).

В день 14 исследования TV (среднее значение ± стандартная ошибка среднего) у животных в контрольной группе G1 составил 1445,78 ± 131,99 мм³. Значительную противоопухолевую эффективность по сравнению с контролем наблюдали в G3 (антитело А, 1,0 мг/кг), G5 (RMP1-14+антитело А, 0,3 мг/кг) и G6 (RMP1-14+антитело А, 1,0 мг/кг), приводящую к TGI, составляющему 61%, 82,3% и 53% соответственно, с TV (среднее значение ± стандартная ошибка среднего), составляющим 648,70 ± 178,44 мм³, 374,27 ± 125,36 мм³ и 756,14 ± 282,52 мм³ соответственно в день 14 (P < 0,02, P=0,0002 и P < 0,015, критерий Крускала-Уоллиса). Обработка G3 (антитело А, 1,0 мг/кг) также привела к полной регрессии 1 из 8 (12,5%) опухолей, отсутствие опухоли сохранялось до последнего дня наблюдения (день 55). Вышеупомянутые 3 обработки также продемонстрировали значительное преимущество в выживаемости по сравнению с контролем (P=0,00221, 0,0008, 0,0063 соответственно; логарифмический ранговый критерий (критерий Мантеля-Кокса)).

Таблица 6. Подавление роста опухоли в день 14.

Тестируемое изделие	Уровень дозы	% TGI (День 14)	P-значения* (День 14)
Изотипический контроль	10 мг/кг	Нет данных	
Антитело А	0,3 мг/кг	34	0,0220
Антитело А	1 мг/кг	61	0,0034
RMP1-14	10 мг/кг	40	0,1079

Антитело А RMP1-14	0,3 мг/кг 10 мг/кг	82	0,003
Антитело А RMP1-14	1 мг/кг 10 мг/кг	54	0,0684
Ипилимумаб	0,3 мг/кг	23	0,3953
Ипилимумаб	1 мг/кг	48	0,0123

Для определения статистической значимости обработки по сравнению с изотипическим контролем проводили двухфакторный ANOVA с пост-тестом множественных сравнений Даннета (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; **** $P < 0,0001$).

Изменения веса тела в группах не различались на протяжении всего исследования, что свидетельствует о хорошей переносимости всех видов обработки (фиг. 2В и 3В). Во время исследования не было отмечено никаких неожиданных клинических наблюдений или летальных исходов, за исключением случаев эвтаназии вследствие конечной точки размера опухоли или тяжелого изъязвления опухоли.

В этом исследовании, даже когда обработка была начата на более поздней стадии развития опухоли, наблюдалась значительная противоопухолевая эффективность по сравнению с изотипическим контролем при монотерапии антителом А в дозе, составляющей 1,0 мг/кг, и комбинированной терапии с помощью RMP1-14 и антитела А (как в дозе 0,3 мг/кг (фиг. 2А), так и 1,0 мг/кг (фиг. 3А), что также приводило к преимуществу в выживаемости. Обработка опухолеселективным антителом к CTLA4 индуцировала сильную противоопухолевую активность. Антитело А показало лучшую противоопухолевую активность по сравнению с ипилимумабом. У всех мышей в контрольной группе развились опухоли, которые быстро росли, тогда как обработка антителом А в комбинации с блокирующими антителами к mPD-1 приводила к замедлению роста опухоли. При дозе, составляющей 0,3 мкг/кг антитела А, наблюдался синергетический эффект в комбинации с антителом к mPD-1 (RMP1-14) на модели опухоли MC38. Все обработки хорошо переносились.

Пример 2. Антитело А в комбинации с антителом к PD1 приводит к активации иммунитета.

В этом примере активацию иммунитета измеряли после комбинированной обработки маскированным антителом А к CTLA4 и антителом к PD1, описанной в примере 1. После обработки измеряли соотношение CD8/Treg в опухоли (фиг. 5А), CD4+ICOS+ в дренирующих опухоль лимфатических узлах (TDLN) (фиг. 5В) и CD4+Ki-67+ в периферической крови (фиг. 5С). Комбинация антитела А с антителом к PD1 усиливает опухолеселективную PD и способствует активации CD4+ в дренирующих опухоль лимфатических узлах.

SEQ ID NO	Последовательность
1	Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys
2	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
3	Cys Lys His Ala Pro Tyr Ala Leu Cys
4	Cys Pro Phe Pro Ala Lys Ile Leu Cys
5	Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys
6	Asn Trp Leu Gly Glu Trp Leu Pro Pro Gly Lys Val
7	Gln Phe Ile Glu Cys Pro Asn Phe Pro Arg Gln Cys Pro Gly Lys Asn
8	Val Arg Gln Gln Cys Ser Leu Asn Pro Gly Arg Cys Pro Tyr Leu Val
9	Val Trp Gln Glu Cys His Thr Ala Pro Gln Leu Cys Pro Gly Lys Ile
10	Asp Ser Tyr Thr Cys Arg Gly Pro Thr Trp Met Cys Ala Gly Asn Met
11	Phe Asn His Asp Cys Ser Gly His Trp Met Arg Cys Leu Asp Gln Gln
12	Asn Lys Ser Pro Cys Arg Pro Lys Met Val Ala Cys Tyr Gly Ile Leu
13	Pro Thr Pro Gln Cys Trp Asn Gln Tyr Tyr Glu Cys Trp Ile Pro Ser
14	Ser Gln Lys Cys Pro Trp Thr Lys Glu Thr Cys Met His Tyr Met
15	Trp His Leu Ser Met Tyr Pro Lys Pro Pro Ala Glu
16	Trp His Thr Asp Gly Phe Tyr Thr Arg Leu Pro Ala
17	Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys
18	Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys
19	Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys
20	Cys Thr Lys Pro Ala Lys Ala Leu Cys
21	Asp Thr Ala Thr Cys Tyr Thr Thr Thr Gly Trp Cys Glu Gly Met Val
22	Asn Ser Asp Asn Cys Gly Pro Ala Lys Ser Thr Cys Met Tyr Asn Asp
23	Pro Pro Gly Lys Cys Thr Gln Pro His Arg Cys Pro Pro Leu Asn

24 Asp Asp Pro Val Cys Trp Asp Ser Asn Pro Thr Cys Gln Thr Ile Ala
25 Ile Ser Asp Gln Cys Ser Val Leu Phe Leu Ser Cys Asn Thr Arg Val
26 Ala Cys His Phe Pro His Pro Glu Gly Cys
27 Cys Leu Pro Pro Phe Pro Thr Lys Cys
28 Cys Pro Asp His Val Phe Pro Lys Cys
29 Cys Trp Leu Pro Lys Pro Asp Met Cys
30 Cys Trp Ser Trp Pro Ser Lys Ala Cys
31 Cys Tyr Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Cys
32 Ala Leu Thr Pro Ala Lys Trp Leu Pro Ala Asp Asp
33 Asp Asp Lys Glu Cys Asp Trp Met His Phe Ala Cys Thr Gly Pro Gln
34 Asp Glu Met Lys Cys Ala Trp Ser Leu Glu Met Cys Val Arg Thr Ser
35 Asp Pro Ile Leu Cys Pro Asn Thr Arg Met Ser Cys Asp Asn Gln Thr
36 Gly Asn Ala Leu Tyr Asp Ser Pro Gly Thr Met Leu
37 Lys Asn Tyr Glu Cys Arg Glu Val Met Pro Pro Cys Glu Pro Asn Thr
38 Asn Ser Tyr Thr Ser Pro Tyr Trp Leu Pro Asp Ser
39 Ser Leu Thr Pro Pro Tyr Trp Ile Pro Arg Glu Trp
40 Ser Pro Leu Thr Pro His Asp Arg Pro Ser Phe Leu
41 Thr Ala Asp Val Phe Ser Ser Ser Arg Tyr Thr Arg
42 Thr Asp Leu Gln Cys Pro Pro Ser Ser Pro Ile Cys Gln Ile Glu His
43 Thr Lys Cys His Cys Asp Gly Asn Cys Val Met Cys Tyr Gln Met Gln
44 Thr Leu Ala Tyr Glu Thr Pro Leu Leu Trp Leu Pro
45 Thr Asn Trp His Cys Asn Asn Asp Gly Ser Ser Cys Asn Val Arg Ala
46 Cys Asn Leu Ile Val Gln Gly His Cys
47 Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro

48 Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala
49 Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe
50 Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr
51 Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro
52 Thr Ser Glu Phe Val Phe Ala Pro Asp Gln
53 Lys Leu Val Leu Pro Val Leu Pro
54 Lys Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu
55 Ala Asn Gln Leu Lys Gly
56 Gln Ser Gln Leu Lys Glu
57 His Glu Gln Leu Thr Val
58 Pro Ala Asn Leu Val Ala Pro Asp Pro
59 Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro Gly Pro
60 Ala Pro Ala Gly Leu Ile Val Pro Tyr Asn
61 Pro Gln Ala Leu Val Ala
62 Val Gly Asn Leu Asn Phe
63 Val Ala Asn Leu Leu Tyr Glu
64 Val Tyr Asn Leu Met Asp
65 Thr Phe Asn Ile Lys Gln
66 Asp Leu Trp Lys Leu Leu Pro
67 Pro Gly Ser Thr Lys Arg Ala
68 Gln Gln Tyr Arg Ala Leu Lys Ser
69 Tyr Val Pro Arg Ala Val Leu
70 Gly Val Asn Lys Trp Pro Thr

71 Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser
72 Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro
73 Asp Leu Leu Ala Val Val Ala Ala Ser
74 Val Gln Thr Val Thr Trp Pro Asp
75 Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro
76 Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
77 Val His His Gln Lys Leu Val Phe
78 Ile Arg Arg Val Ser Tyr Ser Phe
79 Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu
80 Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro
81 Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Leu Val Leu Pro Val Leu Pro
82 Thr Ser Glu Phe Val Phe Ala Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe
83 Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg
84 Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Gly
85 Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro His
86 Val Pro Leu Ser Leu Tyr
87 Thr Ser Ala Ser Gly Ala Ser Ala Ser Ala Ala
88 Pro Ser Ser Pro Gly Gly Gly Ser Ser Pro
89 Gly Gly Ser
90 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser
91 Gly Gly Ser Gly Gly
92 Gly Gly Gly Ser
93 Gly Ser
94 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser

95	Gly Ser Ser Gly Gly Ser
96	Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly
97	Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ser
98	Gly His Ser
99	Gly Pro Ser
100	Gly Ala Ser
101	Ser Gly Gly Gly
102	Ser Gly Gly
103	Ser Gly Gly Ser Gly Gly
104	Ser Ser Gly
105	Gly Gly Gly Ser Gly Gly
106	Gly Gly
107	Gly Gly Gly
108	Gly Gly Gly Ser
109	Ser His Gly Gly
110	His Gly Gly Gly
111	Ser Gly Ala Ala
112	Ser Gly Pro Ala
113	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
114	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Gly Gly Gly
115	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Ser
116	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Ala Ser

- Gly Ala Ser Ala Ser Ala Ala Gly Gly Ser
- 117 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ser Ser
Pro Gly Gly Gly Ser Ser Pro
- 118 Asp Asp Pro Val Cys Trp Asp Ser Asn Pro Thr Cys Gln Thr Ile Ala
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 119 Ile Ser Asp Gln Cys Ser Val Leu Phe Leu Ser Cys Asn Thr Arg Val
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 120 Ala Cys His Phe Pro His Pro Glu Gly Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 121 Ala Cys Leu Pro Pro Phe Pro Thr Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 122 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 123 Ala Cys Pro Asp His Val Phe Pro Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 124 Ala Cys Trp Leu Pro Lys Pro Asp Met Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 125 Ala Cys Trp Ser Trp Pro Ser Lys Ala Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 126 Ala Cys Tyr Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser
- 127 Ala Leu Thr Pro Ala Lys Trp Leu Pro Ala Asp Asp Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 128 Asp Asp Lys Glu Cys Asp Trp Met His Phe Ala Cys Thr Gly Pro Gln
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala

- Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 129 Asp Glu Met Lys Cys Ala Trp Ser Leu Glu Met Cys Val Arg Thr Ser
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 130 Asp Pro Ile Leu Cys Pro Asn Thr Arg Met Ser Cys Asp Asn Gln Thr
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 131 Gly Asn Ala Leu Tyr Asp Ser Pro Gly Thr Met Leu Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 132 Lys Asn Tyr Glu Cys Arg Glu Val Met Pro Pro Cys Glu Pro Asn Thr
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 133 Asn Ser Tyr Thr Ser Pro Tyr Trp Leu Pro Asp Ser Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 134 Ser Leu Thr Pro Pro Tyr Trp Ile Pro Arg Glu Trp Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 135 Ser Pro Leu Thr Pro His Asp Arg Pro Ser Phe Leu Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 136 Thr Ala Asp Val Phe Ser Ser Ser Arg Tyr Thr Arg Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 137 Thr Asp Leu Gln Cys Pro Pro Ser Ser Pro Ile Cys Gln Ile Glu His
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 138 Thr Lys Cys His Cys Asp Gly Asn Cys Val Met Cys Tyr Gln Met Gln
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 139 Thr Leu Ala Tyr Glu Thr Pro Leu Leu Trp Leu Pro Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
Gly Gly Ser
- 140 Thr Asn Trp His Cys Asn Asn Asp Gly Ser Ser Cys Asn Val Arg Ala

- Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser
- 141 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val
Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
Gly
- 142 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu
Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
- 143 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Ala Cys Asn Leu Ile
Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly
Gly Gly
- 144 Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly
Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
- 145 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val
Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro
Arg Gly Gly Ser
- 146 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu
Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg
Gly Gly Ser
- 147 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Ala Cys Asn Leu Ile
Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
Pro Arg Gly Gly Ser
- 148 Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly
Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser
Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Ser
- 149 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Met Pro Tyr
Asp Leu Tyr His Pro Ser Gly Gly Gly
- 150 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ile
Gly Gln Leu Thr Ala Ser Gly Gly Gly
- 151 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Gly
Arg Phe Gln Thr Phe Ser Gly Gly Gly
- 152 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Ser Gly
Gly Phe Met Leu Thr Ser Gly Gly Gly
- 153 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Val

- Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly
- 154 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Glu
Phe Val Phe Ala Pro Asp Gln Ser Gly Gly Gly
- 155 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Lys Leu Val
Leu Pro Val Leu Pro Ser Gly Gly Gly
- 156 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Lys Pro Ile
Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly Gly
- 157 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Asn Gln
Leu Lys Gly Ser Gly Gly Gly
- 158 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gln Ser Gln
Leu Lys Glu Ser Gly Gly Gly
- 159 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser His Glu Gln
Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly
- 160 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ala Asn
Leu Val Ala Pro Asp Pro Ser Gly Gly Gly
- 161 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ala Pro
Gly Val Tyr Pro Gly Pro Ser Gly Gly Gly
- 162 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Pro Ala
Gly Leu Ile Val Pro Tyr Asn Ser Gly Gly Gly
- 163 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Gln Ala
Leu Val Ala Ser Gly Gly Gly
- 164 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Gly Asn
Leu Asn Phe Ser Gly Gly Gly
- 165 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Ala Asn
Leu Leu Tyr Glu Ser Gly Gly Gly
- 166 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Tyr Asn
Leu Met Asp Ser Gly Gly Gly
- 167 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Phe Asn
Ile Lys Gln Ser Gly Gly Gly
- 168 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Trp
Lys Leu Leu Pro Ser Gly Gly Gly

- 169 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Gly Ser
Thr Lys Arg Ala Ser Gly Gly Gly
- 170 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gln Gln Tyr
Arg Ala Leu Lys Ser Ser Gly Gly Gly
- 171 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Tyr Val Pro
Arg Ala Val Leu Ser Gly Gly Gly
- 172 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Val Asn
Lys Trp Pro Thr Ser Gly Gly Gly
- 173 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Leu Ala Gln
Ala Val Arg Ser Ser Ser Gly Gly Gly
- 174 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Arg Ala Ala
Ala Val Lys Ser Pro Ser Gly Gly Gly
- 175 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Leu
Ala Val Val Ala Ala Ser Ser Gly Gly Gly
- 176 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Gln Thr
Val Thr Trp Pro Asp Ser Gly Gly Gly
- 177 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Ile Pro
Met Ser Ile Pro Pro Ser Gly Gly Gly
- 178 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Tyr Glu
Val His His Gln Lys Ser Gly Gly Gly
- 179 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val His His
Gln Lys Leu Val Phe Ser Gly Gly Gly
- 180 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ile Arg Arg
Val Ser Tyr Ser Phe Ser Gly Gly Gly
- 181 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Met Pro Tyr
Asp Leu Tyr His Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly Gly
- 182 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ile
Gly Gln Leu Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly
- 183 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Ser Gly
Gly Phe Met Leu Thr Leu Val Leu Pro Val Leu Pro Ser Gly Gly Gly
- 184 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Glu
Phe Val Phe Ala Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Ser Gly Gly

	Gly
185	Ala Cys Asn Leu Ile Val Gln Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
186	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser His Gly Gly
187	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser His Gly Gly
188	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
189	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr His Gly Gly Gly
190	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr His Gly Gly Gly
191	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Pro Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Ala Ala
192	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Pro Ala
193	Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Pro Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Pro Ala
194	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
195	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Gly Ser Gly Gly Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
196	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
197	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
198	Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly

- 199 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
Ser Gly Gly
- 200 Ala Cys Lys His Ala Pro Tyr Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 201 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Lys Ile Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 202 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 203 Asn Trp Leu Gly Glu Trp Leu Pro Pro Gly Lys Val Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly
- 204 Gln Phe Ile Glu Cys Pro Asn Phe Pro Arg Gln Cys Pro Gly Lys Asn
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 205 Val Arg Gln Gln Cys Ser Leu Asn Pro Gly Arg Cys Pro Tyr Leu Val
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 206 Val Trp Gln Glu Cys His Thr Ala Pro Gln Leu Cys Pro Gly Lys Ile
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 207 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Gly Ser Ser Gly
- 208 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro His Ser Gly Gly
- 209 Asp Ser Tyr Thr Cys Arg Gly Pro Thr Trp Met Cys Ala Gly Asn Met
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 210 Phe Asn His Asp Cys Ser Gly His Trp Met Arg Cys Leu Asp Gln Gln
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 211 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
Gly Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Ser Gly Gly

- 212 Asn Lys Ser Pro Cys Arg Pro Lys Met Val Ala Cys Tyr Gly Ile Leu
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 213 Pro Thr Pro Gln Cys Trp Asn Gln Tyr Tyr Glu Cys Trp Ile Pro Ser
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 214 Ser Gln Lys Cys Pro Trp Thr Lys Glu Thr Cys Met His Tyr Met Gly
Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
Pro Arg Ser Gly Gly
- 215 Trp His Leu Ser Met Tyr Pro Lys Pro Pro Ala Glu Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly
- 216 Trp His Thr Asp Gly Phe Tyr Thr Arg Leu Pro Ala Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly
- 217 Ala Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 218 Ala Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 219 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 220 Ala Cys Thr Lys Pro Ala Lys Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 221 Asp Thr Ala Thr Cys Tyr Thr Thr Thr Gly Trp Cys Glu Gly Met Val
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 222 Asn Ser Asp Asn Cys Gly Pro Ala Lys Ser Thr Cys Met Tyr Asn Asp
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 223 Pro Pro Gly Lys Cys Thr Gln Pro His Arg Cys Pro Pro Leu Asn Gly
Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
Pro Arg Ser Gly Gly
- 224 Ala Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys Gly Ser Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly

- 225 Ala Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys Gly Ser Ser Gly Gly Ser
Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 226 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
Ser Gly Gly
- 227 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Thr Ser
Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 228 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Gly Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
- 229 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser
Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 230 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Ser Thr Ser Thr
Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
- 231 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Thr Ser
Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly
- 232 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
Ser His Val Pro
- 233 Glu Ala Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
Gly Val Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Tyr Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
Ile Thr Val Ser Ser Ala
- 234 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala
Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser
Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp
Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val
Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser
Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

- 235 Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp
 Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
 Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser
 Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr
 Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile
 Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro
 Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
 Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val
 Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe
 Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu
 Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
 Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser
 Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met
 Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro
 Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn
 Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
 Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser
 Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr
 Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
- 236 Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly Asp
 Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe
 Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Ser
 Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Met Ser
 Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr
 Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys Leu
 Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys Lys
 Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser Val
 Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Thr
 Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
 Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
 Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser
 Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
 Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile
 Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro
 Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu
 Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn
 Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser
 Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys
 Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu
 Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
- 237 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
 Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
 Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
 Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

238 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

239 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Gly Gly
 Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln
 Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu
 Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
 Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 Asn Arg Asn Glu Cys

- 240 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 241 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Ala Ser Gly Ala Ser Ala Ser Ala Ala Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 242 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ser Ser Pro Gly Gly Gly Ser Ser Pro Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr

Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

243 Asp Asp Pro Val Cys Trp Asp Ser Asn Pro Thr Cys Gln Thr Ile Ala
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

244 Ile Ser Asp Gln Cys Ser Val Leu Phe Leu Ser Cys Asn Thr Arg Val
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

245 Ala Cys His Phe Pro His Pro Glu Gly Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

246 Ala Cys Leu Pro Pro Phe Pro Thr Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

247 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

248 Ala Cys Pro Asp His Val Phe Pro Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly

Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

249 Ala Cys Trp Leu Pro Lys Pro Asp Met Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

250 Ala Cys Trp Ser Trp Pro Ser Lys Ala Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

- 251 Ala Cys Tyr Pro Phe Gly Lys Tyr Glu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Lys Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 252 Ala Leu Thr Pro Ala Lys Trp Leu Pro Ala Asp Asp Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 253 Asp Asp Lys Glu Cys Asp Trp Met His Phe Ala Cys Thr Gly Pro Gln
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val

Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

254 Asp Glu Met Lys Cys Ala Trp Ser Leu Glu Met Cys Val Arg Thr Ser
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

255 Asp Pro Ile Leu Cys Pro Asn Thr Arg Met Ser Cys Asp Asn Gln Thr
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

256 Gly Asn Ala Leu Tyr Asp Ser Pro Gly Thr Met Leu Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile

Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

257 Lys Asn Tyr Glu Cys Arg Glu Val Met Pro Pro Cys Glu Pro Asn Thr
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

258 Asn Ser Tyr Thr Ser Pro Tyr Trp Leu Pro Asp Ser Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

- 259 Ser Leu Thr Pro Pro Tyr Trp Ile Pro Arg Glu Trp Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 260 Ser Pro Leu Thr Pro His Asp Arg Pro Ser Phe Leu Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 261 Thr Ala Asp Val Phe Ser Ser Ser Arg Tyr Thr Arg Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly

Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

262 Thr Asp Leu Gln Cys Pro Pro Ser Ser Pro Ile Cys Gln Ile Glu His
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

263 Thr Lys Cys His Cys Asp Gly Asn Cys Val Met Cys Tyr Gln Met Gln
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

264 Thr Leu Ala Tyr Glu Thr Pro Leu Leu Trp Leu Pro Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

265 Thr Asn Trp His Cys Asn Asn Asp Gly Ser Ser Cys Asn Val Arg Ala
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

266 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val
 Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
 Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

267 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu

Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
 Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
 Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
 Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

268 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Ala Cys Asn Leu Ile
 Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly
 Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser
 Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val
 His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly
 Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe
 Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
 Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser
 Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn
 Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser
 Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys
 Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu
 Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser
 Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

269 Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly
 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr

Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

270 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val
 Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro
 Arg Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro
 Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
 Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys
 Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe
 Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr
 Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro
 Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp
 Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys
 Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys
 Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

271 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu
 Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg
 Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly
 Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

272 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Ala Cys Asn Leu Ile
 Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
 Pro Arg Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu
 Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
 Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln
 Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
 Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr
 Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe
 Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys
 Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile
 Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
 Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His
 Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

273

Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Gly
 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser
 Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
 Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu
 Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
 Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 Asn Arg Asn Glu Cys

274

Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Met Pro Tyr
 Asp Leu Tyr His Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

275

Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ile
 Gly Gln Leu Thr Ala Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

276 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Gly
 Arg Phe Gln Thr Phe Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

277 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Ser Gly
 Gly Phe Met Leu Thr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

- 278 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Val
 Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys
- 279 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Glu
 Phe Val Phe Ala Pro Asp Gln Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr
 Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile
 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
 Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 280 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Lys Leu Val
 Leu Pro Val Leu Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr

Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

281 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Lys Pro Ile
 Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

282 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Asn Gln
 Leu Lys Gly Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

283 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gln Ser Gln
 Leu Lys Glu Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser

- Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys
- 284 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser His Glu Gln
 Leu Thr Val Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys
- 285 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ala Asn
 Leu Val Ala Pro Asp Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln
 Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu
 Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
 Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 Asn Arg Asn Glu Cys
- 286 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Ala Pro
 Gly Val Tyr Pro Gly Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln
 Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu
 Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
 Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 Asn Arg Asn Glu Cys

287

Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Pro Ala
 Gly Leu Ile Val Pro Tyr Asn Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr
 Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile
 Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala
 Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
 Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
 Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
 Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
 Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
 Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
 Phe Asn Arg Asn Glu Cys

288

Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Gln Ala
 Leu Val Ala Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

289

Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Gly Asn

Leu Asn Phe Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

290 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Ala Asn
 Leu Leu Tyr Glu Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr
 Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg
 Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp
 Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val
 Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
 Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly
 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val
 Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser
 Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys
 Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp
 Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu
 Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu
 Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg
 Asn Glu Cys

291 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Tyr Asn
 Leu Met Asp Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala

Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
Glu Cys

292 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Phe Asn
Ile Lys Gln Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
Glu Cys

293 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Trp
Lys Leu Leu Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr
Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg
Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp
Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val
Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val
Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser
Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys
Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp
Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu
Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu
Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg
Asn Glu Cys

294 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Pro Gly Ser
Thr Lys Arg Ala Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr
Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg
Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp
Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val
Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val
Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser

Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys
 Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp
 Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu
 Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu
 Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg
 Asn Glu Cys

295 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gln Gln Tyr
 Arg Ala Leu Lys Ser Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

296 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Tyr Val Pro
 Arg Ala Val Leu Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr
 Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg
 Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp
 Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val
 Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
 Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly
 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val
 Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser
 Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys
 Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp
 Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu
 Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu
 Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg
 Asn Glu Cys

297 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Val Asn
 Lys Trp Pro Thr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr
 Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg
 Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp
 Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val
 Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu
 Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly
 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val
 Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser
 Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys
 Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp
 Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu
 Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu
 Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg
 Asn Glu Cys

298 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Leu Ala Gln
 Ala Val Arg Ser Ser Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

299 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Arg Ala Ala
 Ala Val Lys Ser Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

300 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Leu Leu
 Ala Val Val Ala Ala Ser Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln

Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser
 Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu
 Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro
 Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly
 Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn
 Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn
 Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr
 Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe
 Asn Arg Asn Glu Cys

301 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Gln Thr
 Val Thr Trp Pro Asp Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

302 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ala Ile Pro
 Met Ser Ile Pro Pro Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
 Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
 Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
 Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
 Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
 Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn

Arg Asn Glu Cys

- 303 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Tyr Glu
Val His His Gln Lys Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
Arg Asn Glu Cys
- 304 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val His His
Gln Lys Leu Val Phe Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val
Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
Arg Asn Glu Cys
- 305 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Ile Arg Arg
Val Ser Tyr Ser Phe Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr
Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys
Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly
Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp
Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr
Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala
Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val

Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser
 Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr
 Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys
 Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn
 Arg Asn Glu Cys

306 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Met Pro Tyr
 Asp Leu Tyr His Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly Gly Asp
 Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp
 Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn
 Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser
 Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser
 His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

307 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ile
 Gly Gln Leu Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly Gly Asp
 Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp
 Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn
 Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser
 Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser
 His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
 Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
 His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
 Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

308 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Asp Ser Gly
 Gly Phe Met Leu Thr Leu Val Leu Pro Val Leu Pro Ser Gly Gly Gly
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

- Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
 Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
 Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
 Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 309 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Thr Ser Glu
 Phe Val Phe Ala Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Ser Gly Gly
 Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu
 Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His
 Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln
 Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
 Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
 Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
 Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
 Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
- 310 Ala Cys Asn Leu Ile Val Gln Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys
- 311 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser His Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser

Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

312 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser His Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

313 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

- 314 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Gly Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr His Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys
- 315 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly His Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr His Gly Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys
- 316 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Pro Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Ala Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr

Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

317 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Ala Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Pro Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

318 Ala Cys Asn Leu Ile Val Glu Gly His Cys Gly Pro Ser Val Pro Leu
 Ser Leu Tyr Ser Gly Pro Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr Leu
 Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
 Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr
 Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly
 Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser
 Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val
 Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp
 Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr
 Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala
 Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn
 Glu Cys

319 Glu Ala Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 Gly Val Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Tyr Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 Ile Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
 Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser
 Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp
 Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
 Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
 Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
 Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
 Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
 Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
 Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
 Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
 Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
 Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
 Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
 Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser
 Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
 Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
 His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

320

Glu Ala Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 Gly Val Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Tyr Tyr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 Ile Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu
 Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
 Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
 Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser
 Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp
 Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
 Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn
 Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu
 Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val
 Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val
 Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser
 Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met
 Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser
 Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro
 Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser
 Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr
 Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu

Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn
Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser
Arg Ser Pro Gly Lys

- 321 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro
Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
Arg
- 322 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
- 323 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
- 324 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
- 325 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

- 326 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
- 327 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 328 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile

Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

329 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Ser Gly Gly Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg
 Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
 Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser
 Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

330 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr
 Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu
 Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly
 Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val
 Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
 Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
 Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
 Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

331 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly
 Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro
 Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn
 Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln

- Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val
 Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
 Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln
 Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 332 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro
 Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
 Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 333 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
 Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
 Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser
 Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 334 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

335 Ala Cys Lys His Ala Pro Tyr Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

336 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Lys Ile Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

- 337 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys
- 338 Asn Trp Leu Gly Glu Trp Leu Pro Pro Gly Lys Val Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr
 Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser
 Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp
 Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu
 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln
 Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 339 Gln Phe Ile Glu Cys Pro Asn Phe Pro Arg Gln Cys Pro Gly Lys Asn
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe
 Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn
 Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser
 Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp
 Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

- Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 340 Val Arg Gln Gln Cys Ser Leu Asn Pro Gly Arg Cys Pro Tyr Leu Val
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe
Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn
Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser
Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp
Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 341 Val Trp Gln Glu Cys His Thr Ala Pro Gln Leu Cys Pro Gly Lys Ile
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe
Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn
Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser
Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp
Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 342 Asp Ser Tyr Thr Cys Arg Gly Pro Thr Trp Met Cys Ala Gly Asn Met
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
Asn Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys
Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val

- Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys
- 343 Phe Asn His Asp Cys Ser Gly His Trp Met Arg Cys Leu Asp Gln Gln
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
 Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
 Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys
 Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
 Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys
- 344 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly Val Pro
 Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
 Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 345 Asn Lys Ser Pro Cys Arg Pro Lys Met Val Ala Cys Tyr Gly Ile Leu
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala

Asn Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
 Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
 Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys
 Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
 Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

346 Pro Thr Pro Gln Cys Trp Asn Gln Tyr Tyr Glu Cys Trp Ile Pro Ser
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser
 Leu Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
 Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu
 Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys
 Leu Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
 Tyr Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

347 Ser Gln Lys Cys Pro Trp Thr Lys Glu Thr Cys Met His Tyr Met Gly
 Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
 Pro Arg Ser Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
 Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
 Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln
 Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu
 Gly Ser Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
 Tyr Cys Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

348 Trp His Leu Ser Met Tyr Pro Lys Pro Pro Ala Glu Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr
 Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu
 Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly
 Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val
 Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
 Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
 Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
 Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

349 Trp His Thr Asp Gly Phe Tyr Thr Arg Leu Pro Ala Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr
 Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu
 Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser Gly
 Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val
 Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
 Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
 Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
 Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

350 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

351 Ala Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

352 Ala Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr
 Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser
 Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp
 Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu
 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln
 Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

353 Ala Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

354 Ala Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys Gly Ser Ser Gly Gly Ser
 Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile
 Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys
 Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp
 Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr
 Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala
 Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly
 Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
 Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
 Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
 Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
 Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
 Gly Glu Cys

355 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys

356 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Gly
 Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val

- Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu
 Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu
 Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
 Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu
 Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr
 Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 357 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Thr Ser
 Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys
- 358 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Gly Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

- 359 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Ser Thr Ser Thr Ser
 Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln
 Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr
 Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys
 Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala
 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
 Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
 Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
 Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
 Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 360 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Ser Thr Ser Thr
 Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr
 Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile
 Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln
 Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu
 Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 361 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Thr Ser
 Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr
 Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile
 Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln
 Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu
 Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

- 362 Ala Cys Thr Lys Pro Ala Lys Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His
 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 Asn Arg Gly Glu Cys
- 363 Asp Thr Ala Thr Cys Tyr Thr Thr Thr Gly Trp Cys Glu Gly Met Val
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe
 Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn
 Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser
 Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp
 Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
- 364 Asn Ser Asp Asn Cys Gly Pro Ala Lys Ser Thr Cys Met Tyr Asn Asp
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe
 Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn
 Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser
 Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp
 Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

365 Pro Pro Gly Lys Cys Thr Gln Pro His Arg Cys Pro Pro Leu Asn Gly
 Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
 Pro Arg Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln
 Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser
 Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro
 Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
 Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser
 Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

366 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
 Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys

367 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr
 His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro
 Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
 Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr
 Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val
 Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

368 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Ser Gly Gly Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg
 Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile
 Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly
 Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn
 Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
 Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 Leu Ser Pro Gly Lys

369

Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
 Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr
 Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met
 Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 Ser Pro Gly Lys

370 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly
 Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
 Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser
 Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu
 Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 Pro Gly Lys

371 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
 Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys

372

Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile
 Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly
 Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn
 Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
 Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
 Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
 Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
 Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
 Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
 Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 Leu Ser Pro Gly Lys

373 Ala Cys Lys His Ala Pro Tyr Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

374 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Lys Ile Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

375

Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

376 Asn Trp Leu Gly Glu Trp Leu Pro Pro Gly Lys Val Gly Gly Gly Ser
 Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
 Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
 Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
 Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu
 Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr
 Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 Pro Gly Lys

377 Gln Phe Ile Glu Cys Pro Asn Phe Pro Arg Gln Cys Pro Gly Lys Asn
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu

Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala
 Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

378 Val Arg Gln Gln Cys Ser Leu Asn Pro Gly Arg Cys Pro Tyr Leu Val
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala
 Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

379

Val Trp Gln Glu Cys His Thr Ala Pro Gln Leu Cys Pro Gly Lys Ile
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala
 Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

380

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
Lys

381 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Gly Ser Ser Gly
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys

382 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro His Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
 Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys

383 Asp Ser Tyr Thr Cys Arg Gly Pro Thr Trp Met Cys Ala Gly Asn Met

Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr
 His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro
 Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
 Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr
 Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val
 Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

384 Phe Asn His Asp Cys Ser Gly His Trp Met Arg Cys Leu Asp Gln Gln
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr
 His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro
 Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
 Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr
 Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val
 Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

385 Met Gln Thr Arg Cys Lys Glu Tyr Pro Arg Trp Cys Glu His Trp Leu
 Gly Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
 Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys

- 386 Asn Lys Ser Pro Cys Arg Pro Lys Met Val Ala Cys Tyr Gly Ile Leu
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr
 His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro
 Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
 Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr
 Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val
 Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
- 387 Pro Thr Pro Gln Cys Trp Asn Gln Tyr Tyr Glu Cys Trp Ile Pro Ser
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr
 His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro
 Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
 Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr
 Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val
 Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

388

Ser Gln Lys Cys Pro Trp Thr Lys Glu Thr Cys Met His Tyr Met Gly
 Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
 Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu
 Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His
 Thr Ile Thr Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly
 Lys Gly Met Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn
 Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser
 Lys Asn Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met
 Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

389 Trp His Leu Ser Met Tyr Pro Lys Pro Pro Ala Glu Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr
Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met
Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
Ser Pro Gly Lys

390 Trp His Thr Asp Gly Phe Tyr Thr Arg Leu Pro Ala Gly Gly Gly Ser
Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser
Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro
Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr
Ser Gly Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met
Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro
Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
Tyr Cys Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 Ser Pro Gly Lys

391

Ala Cys Ile His Ala Pro Tyr Ala Lys Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

392 Ala Cys Pro Ala Lys Ile Gly Gln Glu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

393 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

394

Ala Cys Thr Lys Pro Ala Lys Ala Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro Arg Ser Gly Gly
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys

395 Asp Thr Ala Thr Cys Tyr Thr Thr Thr Gly Trp Cys Glu Gly Met Val
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala
 Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

396 Asn Ser Asp Asn Cys Gly Pro Ala Lys Ser Thr Cys Met Tyr Asn Asp
 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala
 Asn Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala
 Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

397

Pro Pro Gly Lys Cys Thr Gln Pro His Arg Cys Pro Pro Leu Asn Gly
 Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ser Thr Ser Gly Arg Ser Ala Asn
 Pro Arg Ser Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
 Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
 Thr Phe Thr Asn Tyr Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
 Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp
 Tyr Ala Glu Lys Phe Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser
 Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys

- 398 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
- 399 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
- 400 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
- 401 Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
- 402 Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
- 403 Leu Val Ser
- 404 Val Gln Gly Thr His Asp Pro
- 405 Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly Tyr
- 406 Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr
- 407 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala
- 408 Ser Ala Leu Ser Tyr Met
- 409 Gly Thr Ser
- 410 His His Trp Ser Asn Thr Gln
- 411 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Phe
- 412 Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp
- 413 Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr
- 414 Gly Ser Gly Gly Ser Gly
- 415 Gly Gly Ser Gly Gly Ser
- 416 Gly Gly Pro Gly Ser Ser Pro

- 417 Gly Gly Ser Ser Pro Pro
- 418 Ser Ser Pro Ser Pro Ser Gly Gly
- 419 Gly Ser Pro Gly Ser Pro
- 420 Ser Ser Gly Gly Ser Gly Pro
- 421 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 Phe Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe
 Lys Lys Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 Lys
- 422 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Ser Ser Gly Gly Ser Gly
 Pro Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile

Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

423 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

424 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser
 Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys
 Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

425 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Pro Gly Ser Ser
 Pro Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

426 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
 His Glu Gln Leu Thr Val Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser
 Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys
 Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

427 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
 Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu
 Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr
 Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln
 Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn
 Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr
 Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
 Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
 Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
 Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
 Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 Cys

428 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Ser Ser Pro Ser Pro Ser
 Gly Gly Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala Ser Gly Gly Glu Ile Val
 Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val

Thr Ile Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr
 Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser
 Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
 Thr Tyr Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
 Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
 Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
 Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
 Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
 Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
 Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
 Glu Cys

429 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
 Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr
 Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile
 Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln
 Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu
 Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

430 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
 Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr
 Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr Ile
 Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln
 Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu
 Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

431 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Ser Pro Gly Ser Pro

Lys Pro ile Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly Glu ile Val Leu Thr
 Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys Glu Lys Val Thr ile
 Thr Cys Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln
 Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Trp Val His Gly Thr Ser Asn Leu
 Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 Phe Thr Leu Thr ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr
 Tyr Cys His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 Lys Val Glu ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe ile Phe
 Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
 Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
 Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
 Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

432 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Tyr

433 Leu Val Ser Lys Leu Gly Ser

434 Val Gln Gly Thr His Asp Pro Trp Thr

435 Ser Gly Tyr Asp Trp Thr

436 Tyr ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

437 Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala

438 Ser Ala Asn Ser Ala Leu Ser Tyr Met Tyr

439 Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser

440 His His Trp Ser Asn Thr Gln Trp Thr

441 Asn Tyr Phe Met Asn

442 Arg Val Asp Pro Glu Gln Gly Arg Ala Asp Tyr Ala Glu Lys Phe Lys
Lys

443 Arg Ala Met Asp Asn Tyr Gly Phe Ala Tyr

444 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Ser Ser Gly Gly Ser Gly
Pro Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Ser Gly Gly

445 Ala Cys Pro Gly Lys Gly Leu Pro Ser Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly

446 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Gly Gly Ser

- Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
- 447 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Pro Gly Ser Ser
Pro Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Ser Gly Gly
- 448 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
His Glu Gln Leu Thr Val Ser Gly Gly
- 449 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Gly Ser Ser Gly
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly
- 450 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Ser Ser Pro Ser Pro Ser
Gly Gly Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala Ser Gly Gly
- 451 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro Ser Gly Gly
- 452 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Gly Ser Ser Pro Pro
Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly Gly
- 453 Ala Cys Pro Phe Pro Ala Leu Glu Leu Cys Gly Ser Pro Gly Ser Pro
Lys Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly Gly
- 454 Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser
Gly Gly
- 455 Ser Ser Gly Gly Ser Gly Pro Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Ser
Gly Gly
- 456 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly
- 457 Gly Gly Pro Gly Ser Ser Pro Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Ser
Gly Gly
- 458 Gly Gly Ser Ser Pro Pro His Glu Gln Leu Thr Val Ser Gly Gly
- 459 Ser Ser Pro Ser Pro Ser Gly Gly Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala
Ser Gly Gly
- 460 Gly Gly Ser Ser Pro Pro Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro Ser Gly
Gly
- 461 Gly Gly Ser Ser Pro Pro Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Ser Gly
Gly
- 462 Gly Ser Pro Gly Ser Pro Lys Pro Ile Leu Phe Phe Arg Leu Ser Gly
Gly

- 463 Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
- 464 Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His
- 465 Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp
 Asn His
- 466 Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly
- 467 Arg Gln Ala Arg Val Val Gly
- 468 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro
- 469 Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Arg Gln Ala Arg Val Val Gly
- 470 Lys Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His
- 471 Arg Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser
 Asp Asn His
- 472 Arg Gly Gly Val Pro Leu Ser Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Lys
- 473 Arg Gly Gly Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Gly Gly Lys
- 474 Arg Gly Gly Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Gly Gly Lys

- 475 Arg Gly Ser Gly His Glu Gln Leu Thr Val Gly Gly Ser Lys
- 476 Gly Ser Gly Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro Gly Ser Lys
- 477 Gly Ser Gly Arg Gln Ala Arg Val Val Gly Gly Gly Ser Lys
- 478 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Tyr His Thr Ile Thr Ser Gly
 Tyr Asp Trp Thr Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Ser Met Met Val Pro His Tyr Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 Gly Lys
- 479 Ile Pro Glu Ser Leu Arg Ala Gly
- 480 Ile Pro Val Ser Leu Arg Ser Gly
- 481 Ile Tyr Asp Gln Lys Thr
- 482 Ala His Asn Tyr Lys Thr
- 483 Met Met Asp Gln Ala Asn
- 484 Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu

485 Gly Leu Val Ala Leu Arg Gly Ala
486 Lys Glu His Lys Tyr Lys Ala Glu
487 Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser
488 Leu Gly Gly Ser Gly Arg Ser Asn Ala Gln Val Arg Leu Glu
489 Leu Gly Gly Ser Gly Arg Lys Ala Ser Leu Ser Leu Glu
490 Ser Gly Arg Ile Gly Phe Leu Arg Thr Ala
491 Ser Gly Ala Ile Gly Phe Leu Arg Thr Ala
492 Arg Pro Ala Arg Ser Gly Arg Ser Ala Gly Gly Ser Val Ala
493 Val Thr Gly Arg Gly Asp Ser Pro Ala Ser Ser
494 Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly
495 Leu Ser Gly Arg Ile Gly Phe Leu Arg Thr Ala
496 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala
497 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Val Pro Leu Ser Leu Tyr
498 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr
499 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala His Glu Gln Leu Thr Ala
500 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro
501 Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro
502 Val Pro Leu Ser Leu Tyr Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
503 Asp Ser Gly Gly Phe Met Leu Thr Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
504 Gly Gly Ile Gly Gln Leu Thr Ala Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
505 Met Pro Tyr Asp Leu Tyr His Pro Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
506 His Glu Gln Leu Thr Val Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
507 Arg Ala Ala Ala Val Lys Ser Pro Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala
508 Thr Ser Val Leu Met Ala Ala Pro Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ala

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту:
 - (а) маскированного антитела к CTLA4, содержащего маскирующий пептид, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 1-46, и расщепляемый пептидный линкер, и
 - (b) ингибитора PD-1 или PD-L1.
2. Способ по п. 1, где расщепляемый пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 47-88, 464-469 и 479-508.
3. Способ по п. 1 или п. 2, где расщепляемый пептидный линкер содержит спейсер, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, соединенный с аминоконцом расщепляемого пептидного линкера, и спейсер, выбранный из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 89-112 и 415-420, соединенный с карбоксиконцом расщепляемого пептидного линкера.
4. Способ по любому из предыдущих пунктов, где расщепляемый пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 454-462.
5. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей под SEQ ID NO: 113-231 и 444-453.
6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 представляет собой гуманизированное антитело, химерное антитело, человеческое антитело или их антигенсвязывающий фрагмент.
7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 содержит CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (vH), содержащую NYFMN, CDR2 vH, содержащую RVDPEQGRADYAEKFKK, CDR3 vH, содержащую RAMDNYGFAY, и CDR1 вариабельной области легкой цепи (vL), содержащую SANSALSYMY, CDR2 vL, содержащую GTSNLAS, CDR3 vL, содержащую HHWSNTQWT.
8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 вводят в эффективной дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг/кг до 20 мг/кг.
9. Способ по п. 8, где эффективная доза маскированного антитела к CTLA4 выбрана из 0,1 мг/кг, 0,3 мг/кг, 1 мг/кг, 3 мг/кг, 10 мг/кг и 20 мг/кг.
10. Способ по любому из предыдущих пунктов, где эффективная доза маскированного антитела к CTLA4 составляет от приблизительно 1 мг до 1000 мг.
11. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотные замены S239D или I332E, или и то, и другое, где аминокислотные остатки пронумерованы в соответствии с EU-индексом по Kabat.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 содержит vH, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности под SEQ ID NO: 324.

13. Способ по любому из предыдущих пунктов, где маскированное антитело к CTLA4 содержит vL, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности под SEQ ID NO: 322.

14. Способ по предыдущим пунктам, где маскированное антитело к CTLA4 является афукозилированным или фукозодефицитным.

15. Способ по любому из предыдущих пунктов, где антитело к CTLA4 или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы со средством.

16. Способ по п. 15, где средство представляет собой ингибитор полимеризации тубулина, средство, повреждающее ДНК, или ингибитор синтеза ДНК.

17. Способ по п. 15, где средство представляет собой майтанзиноид, ауристин, димер пирролобензодиазепина (PBD), калихеамицин, дуокармицин, димер индолинобензодиазепина или производное экзатекана Dxd.

18. Способ по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор PD-1 или PD-L1 представляет собой антитело.

19. Способ по п. 18, где ингибитор PD-1/PD-L1 представляет собой антитело к PD-1.

20. Способ по п. 19, где антитело к PD-1 выбрано из ниволумаба, пембролизумаба и цемиплимаба.

21. Способ по п. 19 или п. 20, где эффективная доза антитела к PD-1 составляет от 1 мг/кг до 10 мг/кг.

22. Способ по п. 21, где эффективная доза антитела к PD-1 составляет 10 мг/кг.

23. Способ по п. 21 или п. 22, где антитело к PD-1 вводят в эффективной дозе, составляющей 4-1000 мг.

24. Способ по п. 23, где антитело к PD-1 вводят в эффективной дозе, составляющей 200 мг.

25. Способ по любому из предыдущих пунктов, где антитело к PD-1 вводят еженедельно, один раз в две недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 5 недель, один раз в 6 недель, ежемесячно.

26. Способ по любому из предыдущих пунктов, где антитело к PD-1 вводят один раз в 3 недели.

27. Способ по п. 18, где ингибитор PD-1/PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1.

28. Способ по п. 27, где антитело к PD-L1 выбрано из атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба.

29. Способ по п. 28, где антитело к PD-L1 вводят в эффективной дозе, составляющей от 200 мг до 2000 мг.

30. Способ по любому из пп. 27-29, где антитело к PD-L1 вводят еженедельно,

один раз в две недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель или ежемесячно.

31. Способ по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены для внутривенного введения.

32. Способ по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены совместно в одной и той же композиции.

33. Способ по любому из пп. 1-31, где ингибитор PD1 или PD-L1 и маскированное антитело к CTLA4 составлены по-отдельности.

34. Способ по любому из предыдущих пунктов, где ингибитор PD1 или PD-L1 вводят одновременно с маскированным антителом к CTLA4.

35. Способ по любому из предыдущих пунктов, где рак представляет собой лейкоз, лимфому, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланому, миелому, рак молочной железы, нейробластому, рак легкого, рак яичника, остеосаркому, рак мочевого пузыря, рак шейки матки, рак печени, рак почки, рак кожи, рак яичка или плоскоклеточную карциному кожи (CSCC).

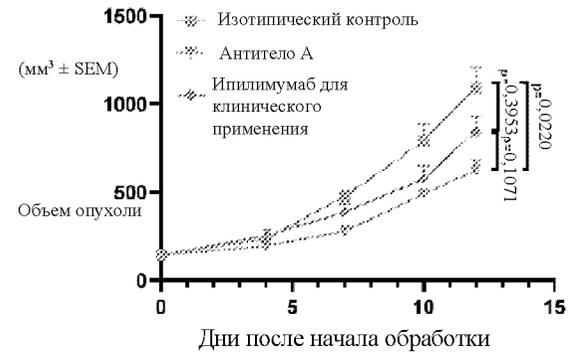
36. Способ по п. 35, где рак представляет собой рак легкого.

37. Способ по п. 36, где рак легкого представляет собой мелкоклеточную карциному легкого (SCLC) или немелкоклеточную карциному легкого (NSCLC).

38. Способ по п. 35, где рак представляет собой меланому.

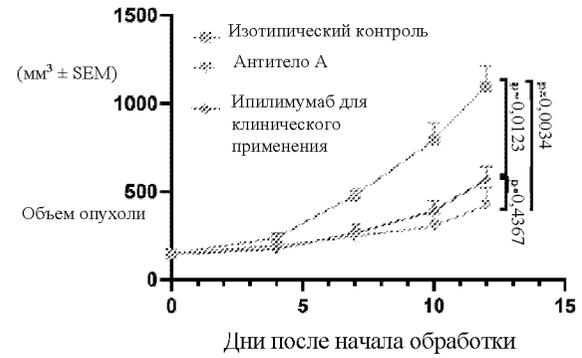
По доверенности

Доза, составляющая 0,3 мг/кг



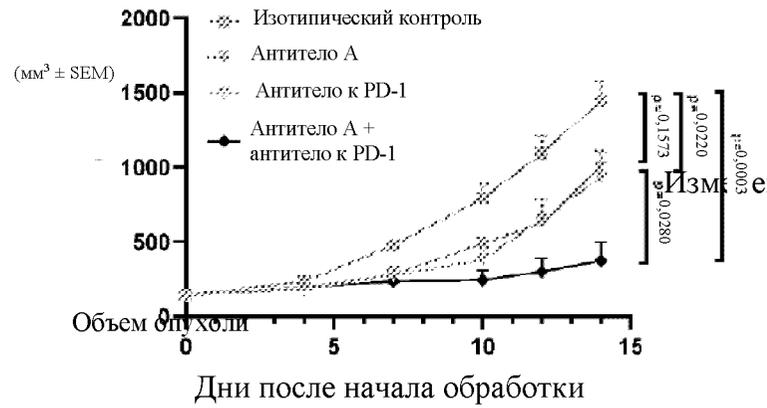
Фиг. 1А

Доза, составляющая 1 мг/кг



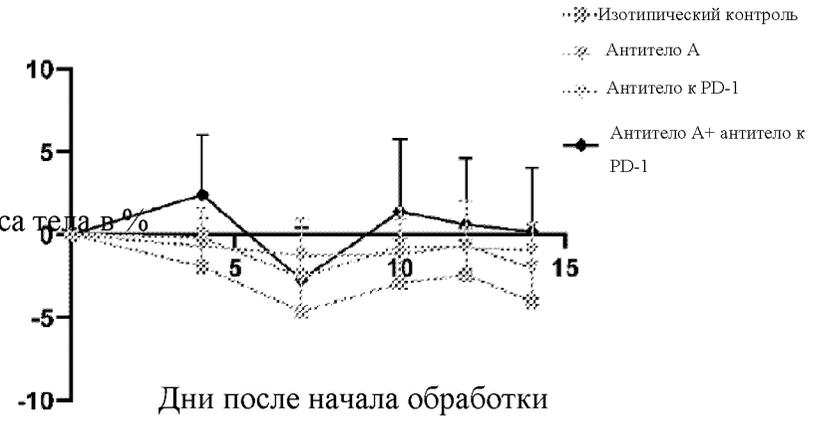
Фиг. 1В

**Доза, составляющая 0,3 мг/кг, +
антитело к PD-1**



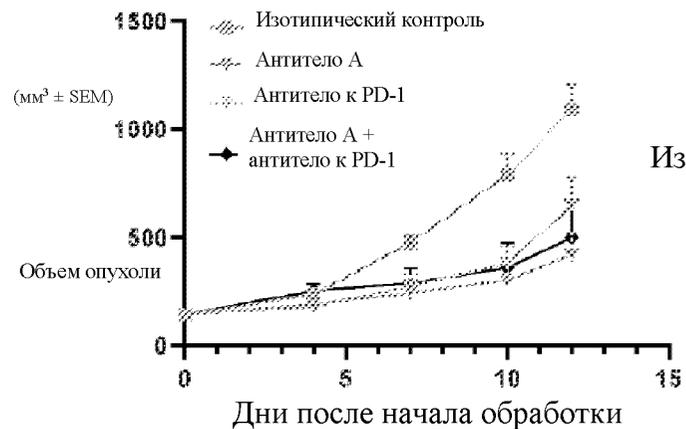
Фиг. 2А

Изменение веса тела в %



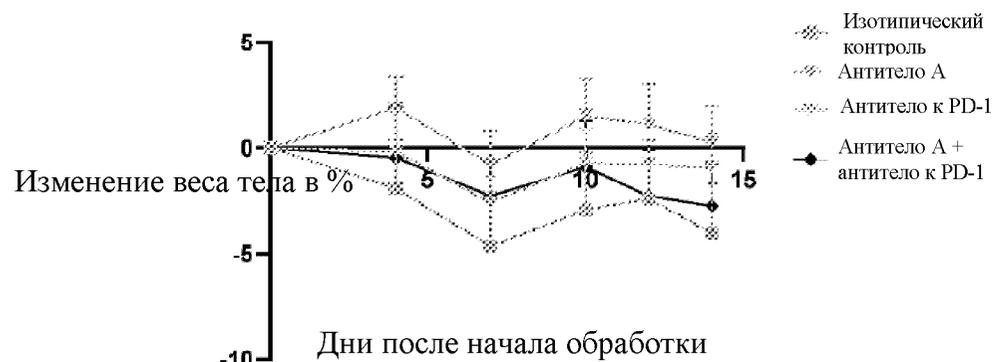
Фиг. 2В

Доза, составляющая 1 мг/кг,
+ антитело к PD-1



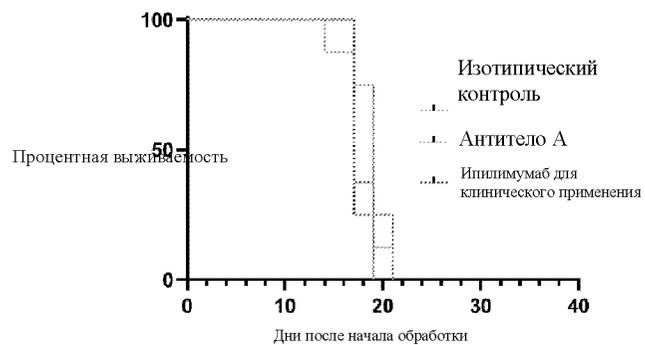
Фиг. 3А

Изменение веса тела в %



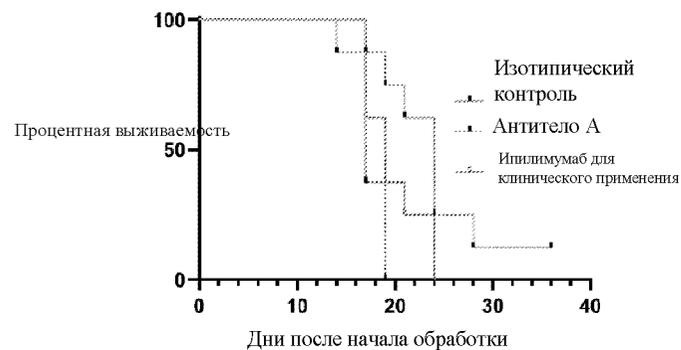
Фиг. 3В

Доза, составляющая 0,3 мг/кг



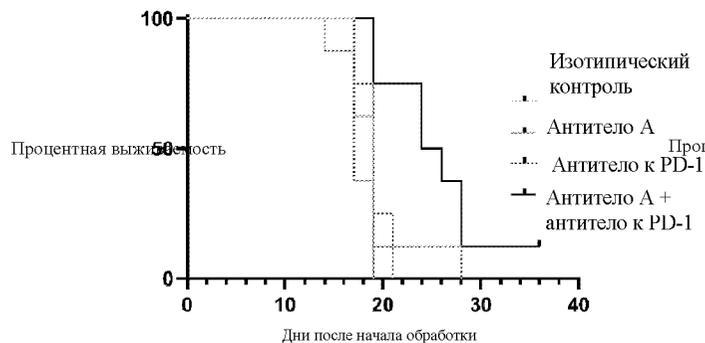
Фиг. 4А

Доза, составляющая 1 мг/кг



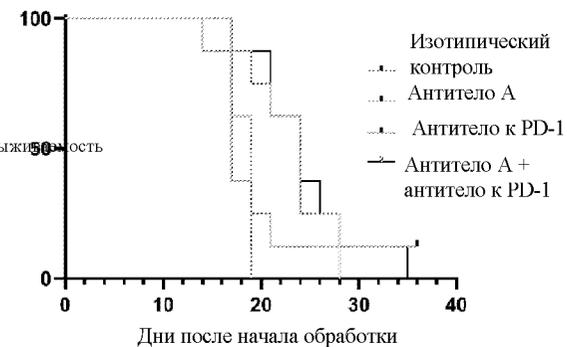
Фиг. 4В

Доза, составляющая 0,3 мг/кг, + антитело к PD-1

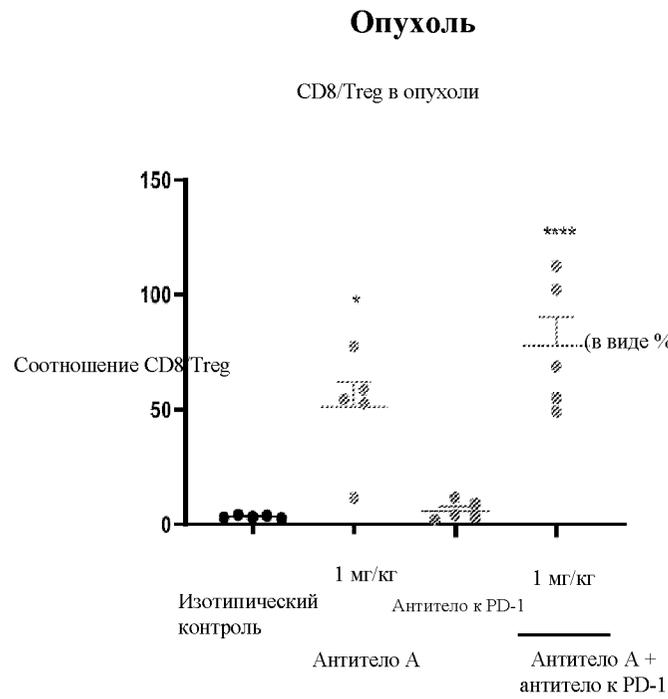


Фиг. 4С

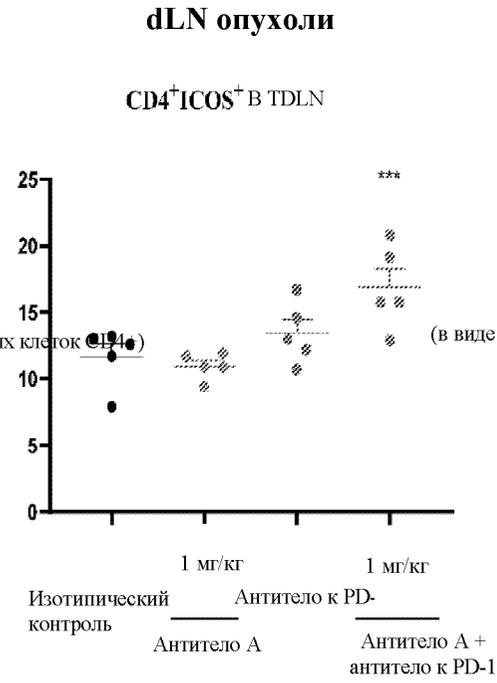
Доза, составляющая 1 мг/кг + антитело к mPD-1



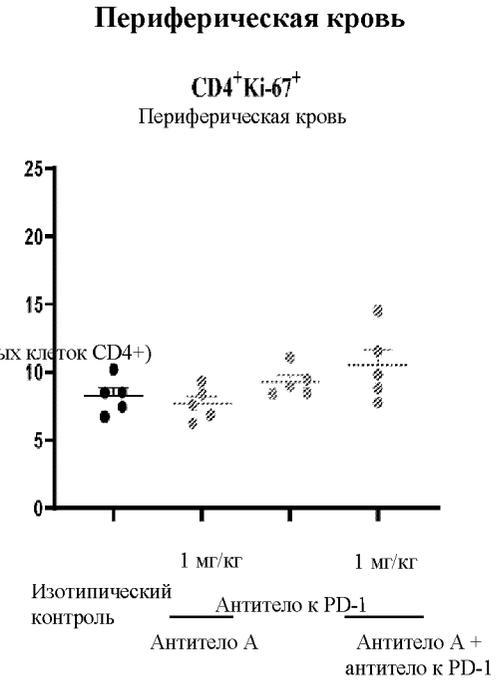
Фиг. 4D



Фиг. 5А



Фиг. 5В



Фиг. 5С