

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201990229 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2019.06.28

(51) Int. Cl. *C07K 14/33* (2006.01)  
*A61K 38/48* (2006.01)  
*C12N 5/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2017.07.07

---

(54) НОВЫЙ БОТУЛИНИЧЕСКИЙ НЕЙРОТОКСИН И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ

---

(31) 62/360,239

(32) 2016.07.08

(33) US

(86) PCT/US2017/041255

(87) WO 2018/009903 2018.01.11

(88) 2018.02.15

(71) Заявитель:

СТЕНМАРК ПОЛ (SE); ЧИЛДРЕН'С  
МЕДИКАЛ СЭНТЕР КОРПОРЕЙШН  
(US)

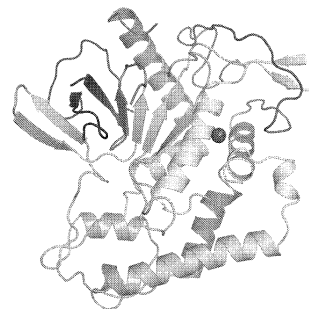
(72) Изобретатель:

Стенмарк Пол (SE), Дун Минь, Чжан  
Сыцай (US)

(74) Представитель:

Глухарёва А.О., Лыгу Т.Н., Угрюмов  
В.М., Дементьев В.Н., Строкова О.В.,  
Христофоров А.А., Гизатуллина Е.М.,  
Гизатуллин Ш.Ф., Костюшенкова  
М.Ю., Осипенко Н.В., Лебедев В.В.,  
Парамонова К.В., Николаева О.А.  
(RU)

(57) В настоящем документе представлены пептиды нейротоксина Clostridial botulinum (BoNT) нового серотипа (BoNT/X), а также способы получения и применение полипептидов BoNT, например, в терапевтических целях.



A1

201990229  
672066107

201990229

A1

# **НОВЫЙ БОТУЛИНИЧЕСКИЙ НЕЙРОТОКСИН И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ**

## **Ссылка на родственные заявки**

По настоящей заявке в соответствии с 35 U.S.C. § 119(e) испрашивается приоритет согласно заявке на выдачу патента США с серийным № 62/360239, поданной 8 июля 2016 года, которая включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

## **Правительственная поддержка**

Настоящее изобретение выполнено при правительственной поддержке в соответствии с R01NS080833, присужденным национальными институтами здоровья. Правительство обладает определенными правами на настоящее изобретение.

## **Предшествующий уровень техники настоящего изобретения**

Нейротоксины *Clostridial botulinum* (BoNT) относятся к наиболее опасным потенциальным биотеррористическим средствам, а также используются клинически для лечения увеличивающегося перечня медицинских состояний. Существует семь серотипов BoNT (BoNT/A-G), известных на данный момент. В последние годы BoNT широко использовали для лечения увеличивающегося перечня медицинских состояний: локальные инъекции незначительного количества токсинов могут аттенуировать нейрональную активность на намеченных участках, что может быть полезным для многих медицинских состояний, а также для косметических целей. По мере расширения применения BoNT сообщается об ограничениях и побочных эффектах. Основным ограничением является выработка нейтрализующих антител у пациентов, что делает дальнейшее лечение неэффективным. Прекращение использования BoNT часто оставляет пациентов без других эффективных способов лечения/облегчения их нарушений. Побочные эффекты, связанные с использованием BoNT, варьируют от кратковременных нетяжелых явлений, таких как птоз и диплопия, до угрожающих жизни явлений, даже смерти. Ограничения и побочные эффекты BoNT в значительной степени связаны с дозой. Существует значительный интерес к разработке новых типов BoNT в качестве терапевтических токсинов. За последние 45 лет новые типы BoNT не были выявлены.

## **Краткое раскрытие настоящего изобретения**

Настоящее раскрытие основано, по меньшей мере частично, на идентификации нового серотипа BoNT - BoNT/X - путем поиска в геномной базе данных штаммов *Clostridium Botulinum*. BoNT/X обладает наименьшей идентичностью последовательностей по отношению к другим BoNT и не распознается антисывороткой, вырабатываемой против известных типов BoNT. BoNT/X расщепляет белки SNARE подобно другим BoNT. Однако BoNT/X также расщепляет некоторые белки SNARE, которые другие BoNT расщеплять не могут, например, VAMP4, VAMP5 и Ykt6. Представлены композиции и способы лечения заболеваний с использованием BoNT/X. Также в настоящем документе представлены способы получения BoNT/X.

Следовательно, в некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащие аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды BoNT, содержащие аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды BoNT, содержащие аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды BoNT, аминокислотная последовательность которых характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 2.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды BoNT, содержащие аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3. В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды

BoNT, аминокислотная последовательность которых характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 3.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены модифицированные полипептиды BoNT, состоящие из одной или нескольких мутаций по типу замены в положении, соответствующем C461, C467 и C1240 в SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления мутация(и) по типу замены соответствует C461S, C461A, C467S, C467A, C1240S, C1240A, C461S/C1240S, C416S/C1240A, C461A/C1240S, C461A/C1240A, C467S/C1240S, C461S/C1240A, C467A/C1240S или C467A/C1240A в SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид BoNT содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO ID NO: 4-17. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид BoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 4-17, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 4-17.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены модифицированные полипептиды BoNT, имеющие однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 в SEQ ID NO: 2.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления мутация по типу замены соответствует C461S, C461A, C467S, C467A, C1240S, C1240A, C461S/C1240S, C416S/C1240A, C461A/C1240S, C461A/C1240A, C467S/C1240S, C461S/C1240A, C467A/C1240S или C467A/C1240A в SEQ ID NO: 2.



В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 18-21. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 18-21, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 18-21.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены химерные полипептиды VoNT, содержащие аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 22-24. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 22-24, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 22-24.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT дополнительно содержит однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем С461 или С467 в SEQ ID NO: 2.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 25-30. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере

96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 25-30. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 25-30.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT проникает в клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT расщепляет белок SNARE в клетке. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE выбран из группы, состоящей из SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксина 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 39.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 40.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 41.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP4. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K87 и S88 из SEQ ID NO: 42.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP5. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R40 и S41 из SEQ ID NO: 43.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой Ykt6. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K173 и S174 из SEQ ID NO: 44.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT обладает повышенной стабильностью по сравнению с соответствующим ему полипептидом VoNT дикого типа.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой секреторную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой нейрональную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой иммунную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT подавляет нейрональную активность. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT индуцирует атрофический паралич. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой культивируемую клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка находится *in vivo*. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка получена из млекопитающего. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления млекопитающее представляет собой человека. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления млекопитающим является грызун. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления грызун является мышью. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления грызун является крысой.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид VoNT не реагирует перекрестно с антителом против серотипа A, B, C, D, E, F или G VoNT.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены молекулы нуклеиновой кислоты, состоящие из полинуклеотида, кодирующего полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к полипептиду VoNT, описываемому в настоящем документе. Представлены векторы нуклеиновой кислоты, состоящие из таких молекул нуклеиновой кислоты. Представлены клетки, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты или векторы нуклеиновой кислоты, описываемые в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления такие клетки экспрессируют полипептид VoNT, описываемый в настоящем документе.

Представлены способы получения полипептида VoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Такие способы предусматривают стадии культивирования клетки, экспрессирующей полипептиды VoNT, в условиях, при которых продуцируется указанный полипептид VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способы дополнительно предусматривают извлечение полипептида VoNT из культуры.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены модифицированные полипептиды VoNT, состоящие из (a) протеазного домена; (b) модифицированного линкерного участка и (c) домена транслокации; при этом (a), (b) и (c) принадлежат серотипу X VoNT, и при этом модифицированный линкерный участок содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT дополнительно содержит (d) домен связывания с рецептором.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный линкерный участок содержит мутацию по типу замены, соответствующую C461S или C461A в SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный линкерный участок содержит мутацию по типу замены, соответствующую C467S или C467A в SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором является рецептором из VoNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором является модифицированным. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором содержит мутацию по типу замены, соответствующую C1240S или C1240A в SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором является рецептором серотипа, выбранного из группы, состоящей из A, B, C, D, E, F и G.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT проникает в клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT расщепляет белки SNARE в клетке. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE выбран из группы, состоящей из SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксина 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 39.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 40.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления BoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 41.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP4. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления BoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K87 и S88 из SEQ ID NO: 42.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой VAMP5. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления BoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R40 и S41 из SEQ ID NO: 43.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления белок SNARE представляет собой Ykt6. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления BoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K173 и S174 из SEQ ID NO: 44.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT обладает повышенной стабильностью по сравнению с соответствующим ему полипептидом BoNT дикого типа.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой секреторную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой нейрональную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой иммунную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT подавляет нейрональную активность. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT индуцирует атрофический паралич. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка представляет собой культивируемую клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка находится *in vivo*. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка получена из млекопитающего. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления млекопитающее представляет собой человека. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления млекопитающее представляет собой грызуна. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления грызун является мышью. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления грызун является крысой.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT не реагирует перекрестно с антителом против серотипа A, B, C, D, E, F или G BoNT.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный линкерный участок содержит искусственный линкер. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления искусственный линкер содержит сайт расщепления протеазой. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления протеаза выбрана из группы, состоящей из тромбина, TEV, PreScission (3С протеазы), фактора Ха, MMP-12, MMP-13, MMP-17, MMP-20, гранзима-В и энтерокиназы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления линкер содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 50-60).

В других аспектах настоящего раскрытия представлены молекулы нуклеиновой кислоты, состоящие из полинуклеотида, кодирующего полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к полипептиду VoNT, описываемому в настоящем документе. Представлены векторы нуклеиновой кислоты, состоящие из таких молекул нуклеиновой кислоты. Представлены клетки, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты или векторы нуклеиновой кислоты, описываемые в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления такие клетки экспрессируют полипептид VoNT, описываемый в настоящем документе.

Представлены способы получения полипептида VoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Такие способы предусматривают стадии культивирования клетки, экспрессирующей полипептиды VoNT, в условиях, при которых продуцируется указанный полипептид VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способы дополнительно предусматривают извлечение полипептида VoNT из культуры.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены модифицированные полипептиды VoNT, состоящие из одной или нескольких мутаций по типу замены в положениях, соответствующих R360, Y363, H227, E228 или H231 в SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления одна или несколько мутация по типу замены соответствуют R360A/Y363F, H227Y, E228Q или H231Y в SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 31-38. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по

меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 31-38, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 31-38.

В других аспектах настоящего раскрытия представлен модифицированный полипептид VoNT/X, состоящий из а) неактивного протеазного домена; б) линкерного участка и с) домена транслокации. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный VoNT/X дополнительно содержит домен связывания с рецептором.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный протеазный домен содержит одну или несколько мутаций по типу замены в положениях, соответствующих R360, Y363, H227, E228 или H231 из SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления одна или несколько мутаций по типу замены соответствуют R360A/Y363F, H227Y, E228Q или H231Y из SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT проникает в клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT не расщепляет белок SNARE.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X дополнительно содержит модификацию в линкерном участке (b). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модификация в линкерном участке содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления однократная мутация по типу замены соответствует C461A, C461S, C467A или C467S из SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X дополнительно содержит модификацию в домене связывания с рецептором (d).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модификация в домене связывания с рецептором содержит мутацию по типу замены в положении, соответствующем C1240 из SEQ ID NO: 1.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены молекулы нуклеиновой кислоты, состоящие из полинуклеотида, кодирующего полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по

меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к полипептиду VoNT, описываемому в настоящем документе. Представлены векторы нуклеиновой кислоты, состоящие из таких молекул нуклеиновой кислоты. Представлены клетки, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты или векторы нуклеиновой кислоты, описываемые в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления такие клетки экспрессируют полипептид VoNT, описываемый в настоящем документе.

Представлены способы получения полипептида VoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Такие способы предусматривают стадии культивирования клетки, экспрессирующей полипептиды VoNT, в условиях, при которых продуцируется указанный полипептид VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способы дополнительно предусматривают извлечение полипептида VoNT из культуры.

Кроме того, в настоящем документе представлено применение модифицированного полипептида VoNT, описываемого в настоящем документе, в качестве средства доставки для доставки терапевтических средств в нейроны.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены химерные молекулы, состоящие из первой части, связанной со второй частью, при этом первая часть представляет собой модифицированный полипептид VoNT, описываемый в настоящем документе.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первая часть и вторая часть связываются ковалентно. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первая часть и вторая часть не связываются ковалентно.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления вторая часть выбрана из группы, состоящей из малой молекулы, нуклеиновой кислоты, короткого полипептида и белка. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления вторая часть представляет собой биоактивную молекулу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления вторая часть представляет собой отличное от полипептида лекарственное средство. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления вторая часть представляет собой терапевтический полипептид.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены молекулы нуклеиновой кислоты, состоящие из полинуклеотида, кодирующего полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%,



по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к химерному полипептиду VoNT, описываемому в настоящем документе. Представлены векторы нуклеиновой кислоты, состоящие из таких молекул нуклеиновой кислоты. Представлены клетки, включающие в себя молекулы нуклеиновой кислоты или векторы нуклеиновой кислоты, описываемые в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления такие клетки экспрессируют химерный полипептид VoNT, описываемый в настоящем документе.

Представлены способы получения химерного полипептида VoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Такие способы предусматривают стадии культивирования клетки, экспрессирующей химерные полипептиды VoNT, в условиях, при которых продуцируется химерный полипептид VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способы дополнительно предусматривают извлечение химерного полипептида VoNT из культуры.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены фармацевтические композиции, состоящие из полипептидов VoNT, описываемых в настоящем документе.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

Также представлен набор, состоящий из таких фармацевтических композиций и указания по терапевтическому введению фармацевтической композиции.

В некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены способы лечения состояния, предусматривающие введение терапевтически эффективного количества полипептида VoNT, химерной молекулы или фармацевтической композиции, описываемых в настоящем документе, субъекту для лечения состояния.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления состояние связано с надактивными нейронами или железами. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления состояние выбрано из группы, состоящей из спастической дисфонии, спастической кривошеи, дистонии мышц гортани, оромандибулярной дистонии, язычной дистонии, цервикальной дистонии, фокальной дистонии руки, блефароспазма, страбизма, гемифациального спазма, нарушения века, церебрального паралича, фокальной спастичности и других нарушений голоса, спастического колита, нейрогенного мочевого пузыря, анизмуса, спастичности конечностей, тиков, треморов, бруксизма, трещины заднего прохода, ахалазии, дисфагии и других нарушений мышечного тонуса, а также других нарушений, характеризующихся произвольными движениями групп мышц,

лакримацией, гипергидрозом, повышенным слюноотделением, избыточными желудочно-кишечными секретами, секреторными нарушениями, болью из-за мышечных спазмов, головной болью, дерматологическими или эстетическими/косметическими состояниями и ожирением/снижением аппетита.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления состояние не связано с нежелательной нейрональной активностью. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления состояние выбрано из группы, состоящей из псориаза, аллергии, гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза и алкогольных заболеваний поджелудочной железы.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение осуществляют путем инъекции в участок, где присутствует нежелательная нейрональная активность.

В следующих аспектах настоящего раскрытия представлены способы получения полипептида нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), при этом способ предусматривает:

(i) получение первого фрагмента BoNT, состоящего из легкой цепи (LC) и N-терминального домена тяжелой цепи (H<sub>N</sub>), при этом первый фрагмент BoNT содержит C-терминальный мотив LPXTGG (SEQ ID NO: 60);

(ii) получение второго фрагмента BoNT, состоящего из C-терминального домена тяжелой цепи (H<sub>C</sub>); при этом второй фрагмент BoNT содержит специфический сайт расщепления протеазой на своем N-конце;

(iii) расщепление второго фрагмента BoNT специфической протеазой, при этом расщепление приводит к получению свободного глицинового остатка на N-конце; и

(iv) введение в контакт первого фрагмента BoNT и второго фрагмента BoNT в присутствии транспептидазы, что тем самым лигирует первый фрагмент BoNT и второй фрагмент BoNT с образованием лигированного BoNT.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый фрагмент BoNT дополнительно содержит аффинную метку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на N-конце. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на C-конце. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка выбрана из группы, состоящей из His6, GST, Avi, Strep, S, MBP, Sumo, FLAG, HA, Myc, SBP, E, калмодулина, Softag 1, Softag 3, TC, V5, VSV, Xpress, Halo и Fc.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент BoNT дополнительно содержит аффинную метку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на N-конце. В

соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается со вторым фрагментом VoNT на С-конце. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка выбрана из группы, состоящей из His6, GST, Avi, Strep, S, MBP, Sumo, FLAG, HA, Myc, SBP, E, калмодулина, Softag 1, Softag 3, TC, V5, VSV, Xpress, Halo и Fc.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления протеаза выбрана из группы, состоящей из тромбина, TEV, PreScission, MMP-12, MMP-13, MMP-17, MMP-20, гранзима-В, энтерокиназы и протеазы SUMO. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления когнатная протеаза представляет собой тромбин.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый фрагмент VoNT происходит из серотипа A, B, C, D, E, F, G или X VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый фрагмент VoNT происходит из VoNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT происходит из серотипа A, B, C, D, E, F, G или X VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT происходит из VoNT/A. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT является фрагментом VoNT/B. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT является фрагментом VoNT/C. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT является фрагментом VoNT/X.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления транспептидаза представляет собой сортазу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления сортаза является сортазой *Staphylococcus aureus* (SrtA).

Эти и другие аспекты настоящего раскрытия, а также различные преимущества и применения станут понятными при обращении к подробному раскрытию настоящего изобретения. Как станет понятно, каждый аспект настоящего раскрытия может охватывать различные варианты осуществления.

Все документы, упомянутые в настоящей заявке, включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

### **Краткое описание графических материалов**

Следующие графические материалы составляют часть настоящего описания и включены для дальнейшей демонстрации некоторых аспектов настоящего раскрытия, которые можно будет легче понять при обращении к одному или нескольким из данных графических материалов в комбинации с подробным описанием специфических вариантов осуществления, представленных в настоящем документе. Файл патента или заявки

содержит как минимум один рисунок, выполненный в цвете. Копии публикации настоящего патента или заявки на выдачу патента с цветным графическим(и) материалом(ами) будут предоставлены Ведомством при запросе и оплате необходимой пошлины.

На фиг. 1A-1E показана идентификация VoNT/X как нового VoNT. На фиг. 1A показано филогенетическое дерево выравнивания белковых последовательностей для VoNT/A-G, VoNT/F5, TeNT и VoNT/X, анализируемых способом ClustalW. Проценты идентичности последовательностей каждого токсина и VoNT/X обозначены после каждого токсина. Также отмечены проценты идентичности последовательностей VoNT/E и VoNT/F, а также VoNT/B и VoNT/G. На фиг. 1B, верхняя панель, показано схематическое изображение трех доменов VoNT/X с отмеченными консервативным протеазным мотивом в LC и мотивом связывания с ганглиозидом в Hc. На фиг. 1B, нижняя панель, показано скользящее окно сравнения последовательностей, демонстрирующее, что VoNT/X характеризуется подобием низкой степени, равномерно распределенным по его последовательности, по отношению ко всем другим семи VoNT и TeNT. На фиг. 1C показано схематическое изображение кластера генов *orf*, который включает в себя ген VoNT/X (верхняя панель), обладающий двумя уникальными признаками по сравнению с двумя известными вариантами кластера *orfX* (средняя и нижняя панели): (1) имеется дополнительный белок *orfX2* (обозначенный как *orfX2b*), расположенный рядом с геном VoNT/X; (2) рамка считывания генов *orfX* имеет то же направление, что и ген VoNT/X. На фиг. 1D схематически иллюстрируется уникальная направленность гена и дополнительный ген *OrfX2*, обнаруженный в VoNT/X. На фиг. 1E показана предварительная структура легкой цепи VoNT/X. Темная точка представляет собой активный сайт цинка. Структура показана с разрешением 1,9 Å.

На фиг. 2A-2J показано, что LC из VoNT/X (X-LC) расщепляет VAMP по уникальному сайту. На фиг. 2A показан X-LC, с предварительной обработкой EDTA и без таковой, инкубируемый с экстрактами в поверхностно-активном веществе головного мозга крысы (BDE). Выполняли анализ иммуноблоттинга для выявления синтаксина 1, SNAP-25 и VAMP2. Также выявляли синаптофизин (Syn) в качестве контроля загрузки. LC из VoNT/A (A-LC) и VoNT/B (B-LC) анализировали параллельно. Расщепление VAMP2 с помощью B-LC приводит к потере сигналов иммуноблоттинга, тогда как расщепление SNAP-25 с помощью A-LC генерирует меньший фрагмент SNAP-25, который все еще может быть выявлен иммуноблоттингом (отмечен звездочкой). Инкубация с X-LC приводит к потере сигналов иммуноблоттинга VAMP2, что свидетельствует о том, что X-LC расщепил VAMP2. EDTA блокировала активность X-, A- и B-LC. На фиг. 2B показан VAMP2 (остатки 1-96), очищенный в виде His6-меченного

рекомбинантного белка и инкубированный с X-LC. Образцы анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. X-LC превращал VAMP2 (1-96) в два меньших фрагмента, что указывает на то, что X-LC расщепил VAMP2. На фиг. 2C-2E показан VAMP2 (1-96), инкубированный с X-LC. Образцы цельного белка затем анализировали с помощью масс-спектрометрии (LC-MS/MS) для определения точной молекулярной массы расщепленных фрагментов. Пиковые значения элюированного пептида из колонки HPLC наносили на график на фиг. 2C за время выполнения (RT, ось X). Данные масс-спектрометрии для двух продуктов расщепления показаны на фиг. 2D и 2E, соответственно, с отношением массы к заряду (масса/заряд), отмеченным для каждого сигнала. Молекулярную массу выводили путем умножения  $m$  на  $z$  с последующим вычитанием  $z$ . Белковые последовательности для двух продуктов расщепления соответствуют SEQ ID NO: 61 и 62 сверху вниз и показаны на фиг. 2C. На фиг. 2F показано выравнивание последовательности между VAMP 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, Sec22b и Ykt6, с подчеркнутыми сайтами расщепления для VoNT/B, D, F, G и X и двумя мотивами SNARE, взятыми в рамку. Последовательности соответствуют SEQ ID NO: 63-71 сверху вниз. На фиг. 2G показан HA-меченные VAMP1, 3, 7 и 8, а также мус-меченные Sec22b и Ykt6, экспрессированные в клетках HEK293 посредством временной трансфекции. Клеточные лизаты инкубировали с X-LC и подвергали анализу иммуноблоттинга, выявляющему метку HA или Мус. Актин служил контролем загрузки. X-LC расщеплял VAMP1, 3 и Ykt6, но не VAMP7, 8 и Sec22. На фиг. 2H показан GST-меченный Ykt6, инкубируемый с X-LC (100 нМ) в течение указанного времени. Образцы анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. X-LC расщеплял Ykt6. На фиг. 2I показанный GST-меченные цитоплазматические домены из VAMP2 (33-86), VAMP4 (1-115) и VAMP5 (1-70), инкубируемые с X-LC в течение указанного времени. Образцы анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. X-LC расщеплял VAMP4, и VAMP5. Более длительное время инкубации (360 минут) требуется для расщепления большинства VAMP5. Следует учитывать, что белок VAMP5 содержит дополнительную полосу, которая является либо продуктом разложения, либо бактериальной белковой примесью, которая почти равна (но не идентична) таковой продукта расщепления при SDS-PAGE. На фиг. 2J показаны эксперименты, проводимые, как описано на фиг. 2A, за исключением того, что были выявлены VAMP4 и Sec22b. Синаптотагмин I (Syt I) выявляли в качестве контроля загрузки. X-LC расщеплял нативный VAMP4 в BDE.

На фиг. 3A-3E показана активация VoNT/X с помощью протеолитического расщепления линкерного участка между LC и H<sub>N</sub>. На фиг. 3A показано выравнивание последовательностей линкерных участков между LC и H<sub>N</sub> семи VoNT и VoNT/X.

Последовательности соответствовали SEQ ID NO: 72-79 сверху вниз. VoNT/X имеет самый длинный линкерный участок среди всех VoNT, который содержит дополнительный цистеин в дополнение к двум консервативным цистеинам в LC и в H<sub>N</sub>. Сайт рестрикции Lys-C при ограниченном протеолизе идентифицировали с помощью масс-спектрометрического подхода. На фиг. 3B показаны культивируемые кортикальные нейроны крысы, подвергавшиеся воздействию указанных концентраций X-LC-H<sub>N</sub> в среде в течение 12 часов. Клеточные лизаты собирали и выполняли анализ иммуноблоттинга для изучения синтаксина 1, SNAP-25 и VAMP2 в нейронах. Актин служил в качестве контроля загрузки. Активированные трипсином LC-H<sub>N</sub> из VoNT/A (A-LC-H<sub>N</sub>) и VoNT/B (B-LC-H<sub>N</sub>) анализировали параллельно в качестве контролей. X-LC-H<sub>N</sub> проникал в нейроны и расщеплял VAMP2, что подтверждалось потерей сигналов иммуноблоттинга VAMP2. X-LC-H<sub>N</sub>, активированный Lys-C, показывал значительно более высокую эффективность, чем неактивированный X-LC-H<sub>N</sub>. X-LC-H<sub>N</sub> является более эффективным, чем активированные трипсином B-LC-H<sub>N</sub> и A-LC-H<sub>N</sub>, которые не показывали какого-либо обнаруживаемого расщепления их субстратов SNARE в нейронах при тех же концентрациях анализа. На фиг. 3C показаны мутанты X-LC-H<sub>N</sub> с указанным мутированным цистеином, а также WT X-LC-H<sub>N</sub>, активированный ограниченным протеолизом и анализируемые с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим, с DTT или без такового. Мутация C423S давала в результате два 50-кДа фрагмента, с DTT или без такового. Мутанты, имеющие C461S или C467S, показывали одну полосу при 100 кДа при отсутствии DTT, и она разделялась на две ~50-кДа полосы в присутствии DTT, демонстрируя, что и C461, и C467 в H<sub>N</sub> могут формировать межцепочечную дисульфидную связь с C423 в LC. Часть X-LC-H<sub>N</sub> WT формировала агрегаты в верхней части геля SDS-PAGE. Эти агрегаты обусловлены образованием межмолекулярной дисульфидной связи, так как они исчезали в присутствии DTT. Мутация любого из трех цистеинов уничтожает агрегаты, указывая на то, что образование межмолекулярной дисульфидной связи обусловлено наличием дополнительного цистеина в линкерном участке. Большая часть активированного X-LC-H<sub>N</sub> WT также разделялась на две полосы по ~50 кДа в геле SDS-PAGE без DTT. Это связано с перестановкой дисульфидной связи, описанной на фиг. 3D. На фиг. 3D показан X-LC-H<sub>N</sub> WT, активированный ограниченным протеолизом с последующей повторной инкубацией с указанными концентрациями NEM для блокирования перестановки дисульфидной связи. Затем образцы анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим в присутствии DTT или без такового. Большая часть X-LC-H<sub>N</sub> WT существует в виде одной полосы при 100 кДа без DTT после обработки NEM, что указывает на то, что X-LC-H<sub>N</sub> WT в основном содержит межцепочечную дисульфидную связь. На фиг. 3E показаны эксперименты, проведенные,

как описано на фиг. 3B, за исключением того, что нейроны подвергали воздействию либо WT, либо указанных мутантов X-LC-H<sub>N</sub>. Мутирование цистеина в LC (C423) устраняет активность X-LC-H<sub>N</sub>, в то время как мутирование одного из двух цистеинов в H<sub>N</sub> (C461 или C467) не влияет на активность X-LC-H<sub>N</sub> в нейронах. Эти результаты подтверждают, что образование межпочечной дисульфидной связи является существенным для активности X-LC-H<sub>N</sub>.

На фиг. 4A-4F показано, что BoNT/X полной длины является активным в культивируемых нейронах и *in vivo* у мышей. Последовательности являются следующими: LVPR-GS (SEQ ID NO: 80), LPETGG-His6 (SEQ ID NO: 81), GG-His6 (SEQ ID NO: 82) и LPETGS (SEQ ID NO: 59). На фиг. 4A показан схематический чертеж, иллюстрирующий синтез BoNT/X полной длины с использованием способа опосредованного сортазой лигирования. На фиг. 4B показано, что реакционную смесь для опосредованного сортазой лигирования и указанные контрольные компоненты анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. Звездочкой отмечены агрегаты белков, обусловленные межмолекулярной дисульфидной связью, поскольку эти агрегаты исчезали в присутствии DTT. Маркер молекулярной массы находится на дорожке 1 (начиная с левой стороны). BoNT/X полной длины (X-FL) появился только в смеси для опосредованного сортазой лигирования (дорожка 7 и дорожка 14). На фиг. 4C показано, что нейроны подвергались воздействию одинакового количества (5 мкл) смеси для опосредованного сортазой лигирования или указанных контрольных компонентов в течение 12 часов в среде. Клеточные лизаты анализировали с помощью иммуноблоттинга. X-LC-HN отдельно расщеплял некоторое количество VAMP2 из-за его высокой концентрации в реакционной смеси. Контрольная смесь, содержащая как X-LC-HN, так и X-НС, но не сортазу, несколько усиливала расщепление VAMP2 по сравнению с X-LC-HN отдельно, вероятно потому, что X-НС связывается с X-LC-HN посредством нековалентных взаимодействий. Лигирование X-LC-HN и X-НС с помощью сортазы усиливало расщепление VAMP2 в смеси X-LC-HN и X-НС без сортазы, демонстрируя, что лигированный X-FL является функциональным в нейронах. На фиг. 4D показано, что реакционная смесь сортазы, полученная, как описано на панели b (дорожка 7), активна *in vivo*, как анализировали с использованием анализа DAS на мышах. В инъекционной конечности развивался атрофический паралич, и пальцы ног не могли разгибаться в течение 12 часов. Левая конечность, в которую не вводили токсины, служила контролем. На фиг. 4E показано, что BoNT/A-G, мозаичный токсин BoNT/DC и BoNT/X подвергали дот-блот-анализу (0,2 мкг на токсин, нанесенный на нитроцеллюлозные мембраны) с использованием четырех лошадиных антисывороток (трехвалентного антитела против BoNT/A, B и E, антитела против BoNT/C, антитела против BoNT/DC и антитела против BoNT/F), а также двух

козых антисывороток (антитела против BoNT/G и антитела против BoNT/D). BoNT/X состоит из очищенного X-LC-HN и X-НС при отношении 1:1. Эти антисыворотки распознавали соответствующие им целевые токсины, но ни одна из них не распознавала BoNT/X. На фиг. 4F показано, что неактивную форму полной длины BoNT/X (BoNT/XRY) очищали как His6-меченный рекомбинантный белок в *E. coli* и анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим, с DTT или без такового.

На фиг. 5 представлено филогенетическое дерево, демонстрирующее распределение и взаимосвязь клостридиальных нейротоксинов. Дерево представляет взаимосвязи различных BoNT и последовательностей TeNT из поиска JackHMMER. BoNT/X отмечен окружностью.

На фиг. 6 показан анализ масс-спектрометрии интактного VAMP2 (1-96). His6-меченный VAMP2 (1-96) анализировали с помощью масс-спектрометрии LC-MS/MS. Профиль HPLC приведен на левой панели вместе с белковой последовательностью. Данные масс-спектрометрии для VAMP2 полной длины (1-96) показаны на правой панели и соответствуют SEQ ID NO: 83 со значением масса/заряд, отмеченным для каждого сигнала.

На фиг. 7A-7F показана идентификация сайта расщепления в GST-VAMP2 (33-86) с помощью X-LC. На фиг. 7A показан GST-меченный VAMP2 (33-86), инкубируемый с X-LC или без такового. Образцы анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. На фиг. 7B-7C показан интактный GST-меченный VAMP2 (33-86), анализируемый с помощью масс-спектрометрии LC-MS/MS. Профиль HPLC показан на фиг. 7B. Данные масс-спектрометрии показаны на фиг. 7C, при этом белковая последовательность (SEQ ID NO: 84) отмечена на фиг. 7C. Отмечены VAMP2 (33-66) и VAMP2 (67-86). На фиг. 7D-7E показан GST-меченный VAMP2 (33-86), инкубируемый с X-LC. Затем образцы анализировали с помощью масс-спектрометрии LC-MS/MS. Профиль HPLC показан на фиг. 7D. Данные масс-спектрометрии для C-терминального фрагмента (SEQ ID NO: 85), образуемого с помощью X-LC, показаны на фиг. 7E. Данные масс-спектрометрии для N-терминального фрагмента (SEQ ID NO: 86) показаны на фиг. 7F. Белковые последовательности C- и N-терминальных фрагментов указаны на фиг. 7E-7F и соответствуют SEQ ID NO: 85 и 86, соответственно.

На фиг. 8A-8B показано, что химерный токсин ХА является активным в нейронах. На фиг. 8A показан химерный токсин ХА, образованный путем лигирования X-LC-HN с А-НС с помощью сортазы подобно образованию X-FL, как описывается на фиг. 4A. Смесь для опосредованного сортазой лигирования и указанные контрольные компоненты анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим. Лигирование является эффективным, поскольку большая часть X-LC-HN была лигирована в химерный



токсин ХА. На фиг. 8В показаны кортикальные нейроны крысы, подвергнутые указанным контрольным компонентам или лигированной сортазой смеси ХА (5 мкМ) в течение 12 часов в среде. Клеточные лизаты анализировали с помощью иммуноблоттинга. Х-ЛС-Н<sub>N</sub> отдельно расщеплял некоторое количество VAMP2 из-за его высокой концентрации в реакционной смеси. Лигированный ХА расщеплял VAMP2 в нейронах.

На фиг. 9 показано, что мутирование дополнительного цистеина в Н<sub>N</sub> и цистеина в Н<sub>C</sub> не влияет на активность ВоNT/Х. Х-Н<sub>C</sub> (С1240S) лигировался с WT Х-ЛС-Н<sub>N</sub>, Х-ЛС-Н<sub>N</sub> (С461S) или Х-ЛС-Н<sub>N</sub> (С467S) путем опосредованного сортазой лигирования. Нейроны подвергали смеси для опосредованного сортазой лигирования или контрольным компонентам (5 мкл) в течение 12 часов в среде. Клеточные лизаты анализировали с помощью иммуноблоттинга. Мутирование С1240 и одного из цистеинов в Н<sub>N</sub> (С461 или С467) не влияет на активность ВоNT/Х, поскольку лигированные мутантные токсины способны проникать в нейроны и расщеплять VAMP2.

На фиг. 10 показаны антисыворотка, вырабатываемая против семи серотипов ВоNT, нейтрализующая свои целевые ВоNT в нейронах. Культивируемые кортикальные нейроны крысы подвергали указанным ВоNT, с или без повторной инкубации с указанной антисывороткой. Клеточные лизаты собирали через 12 часов и подвергали анализу иммуноблоттинга. Вся антисыворотка специфически нейтрализовала свои целевые ВоNT без влияния на активность другого серотипа ВоNT, что подтверждало таким образом специфичность и эффективность этой антисыворотки. Концентрации ВоNT составляли: ВоNT/А (50 пМ), ВоNT/В (2 нМ), ВоNT/С (1,5 нМ), ВоNT/Д (100 пМ), ВоNT/Е (0,5 нМ), ВоNT/Ф (0,5 нМ), ВоNT/Г (5 нМ). Антисыворотку против ВоNT/А/В/Е использовали при 20 мкл на лунку. Остальные антисыворотки применяли при 10 мкл на лунку. ВоNT предварительно инкубировали с указанной антисывороткой в течение 30 минут при 37°С перед добавлением в культуральную среду.

На фиг. 11А-11С показано, что ВоNT/Х<sub>RY</sub> не активен в нейронах. На фиг. 11А показаны культивируемые кортикальные нейроны крысы, подвергаемые ВоNT/Х<sub>RY</sub> при указанных концентрациях. Клеточные лизаты анализировали с помощью иммуноблоттинга. VAMP2 не расщеплялся, что указывает на то, что ВоNT/Х<sub>RY</sub> не активен в нейронах. На фиг. 11В показан анализ SDS-PAGE экспрессии ВоNT/Х<sub>RY</sub> в клеточном лизате и надосадочной жидкости (S/N) (4-12% BisTris, MOPS буфер). Полоса при 150 кДа, соответствующая ВоNT/Х, отчетливо видна и в лизате, и в растворимой фракции. На фиг. 11С показан анализ SDS-PAGE конечного образца высоко чистого ВоNT/Х<sub>RY</sub> (4-12% BisTris, MOPS буфер). Одна полоса при 150 кДа, что соответствует ВоNT/Х, отчетливо видна и показывает ~90% чистоту.

На фиг. 12A-12F показано, что VoNT/X связывается со всеми четырьмя ганглиозидами головного мозга. На фиг. 12A-12D показан VoNT/X (квадратики) и A-Hc (кружочки), связывающиеся с GD1a (фиг. 12A), GT1b (фиг. 12B), GD1b (фиг. 12C) и GM1 (фиг. 12D), соответственно. Кривые соответствовали среднему анализам ELISA в трех повторностях и были построены с помощью Prism7 (программного обеспечения GraphPad). На фиг. 12E представлено краткое описание VoNT/X, связывающегося со всеми четырьмя ганглиозидами, в сравнении с полным связыванием VoNT/A на фиг. 12F.

На фиг. 13A-13D показана идентификация сайтов расщепления X-LC в Ykt6 с помощью анализа масс-спектрометрии. На фиг. 13A-13D показано, что 10 мкг GST-меченного Ykt6 (1-192) с предварительной инкубацией или без таковой с X-LC разделяли на SDS-PAGE (фиг. 13A). Белковые полосы вырезали, как указано, и разлагали химотрипсином. Разложенные пептиды обессоливали и анализировали обращенно-фазовой HPLC через колонку C18, объединенную с ESI-MS. Профили HPLC GST-Ykt6 без предварительной обработки с X-LC показаны на фиг. 13B, а образец, предварительно обработанный с X-LC, показан на фиг. 13C. Установили, что интенсивность одного пептида была в ~100 раз выше в образцах, предварительно обработанных с X-LC, чем в образцах, которые не подвергали X-LC (отмечено звездочкой). Этот пептид элюировали через 37 минут при комнатной температуре с масса/заряд = 611 (фиг. 13D), что могло соответствовать только пептидной последовательности ESSLERGEKLDLVSQ (SEQ ID NO: 87) в Ykt6, что указывает на то, что это пептид, расположенный на N-терминальной стороне сайта расщепления для X-LC. Поэтому, сайтом расщепления является K173-S174 в Ykt6.

На фиг. 14A-14E показана идентификация сайтов расщепления X-LC в VAMP4 и VAMP5 с помощью анализа масс-спектрометрии. На фиг. 14A-14E показаны эксперименты, выполняемые, как описано на фиг. 13, за исключением того, что анализировали VAMP4 (фиг. 14B, 14C) и VAMP5 (фиг. 14D, 14E). На фиг. 14B показан пептид, который метит N-терминальный сайт сайта расщепления в VAMP4. Последовательность пептида DELQDK соответствует SEQ ID NO: 88. На фиг. 14C показан пептид, который метит C-терминальный сайт сайта расщепления в VAMP4. Последовательность пептида SESLSDNATAF соответствует SEQ ID NO: 89. На фиг. 14D показан пептид, который метит N-терминальный сайт сайта расщепления в VAMP5. Последовательность пептида AELQQR соответствует SEQ ID NO: 90. На фиг. 14E показан пептид, который метит C-терминальный сайт сайта расщепления в VAMP5. Последовательность пептида SDQLLDMSSTF соответствует SEQ ID NO: 91. Таким образом, сайты расщепления определяли как K87-S88 в VAMP4 и R40-S41 в VAMP5.

### Подробное раскрытие настоящего изобретения

Нейротоксины *Clostridium botulinum* (BoNT) представляют собой семейство бактериальных токсинов, продуцируемых бактерией *Clostridium*, с семью хорошо установленными серотипами (BoNT/A-G)<sup>1-3</sup>. Они представляют собой одно из наиболее опасных потенциальных биотеррористических средств, классифицируемых Центром по контролю за заболеваниями (CDC) Соединенных Штатов Америки как особо опасное средство «категории А»<sup>4</sup>. Эти токсины продуцируются в виде одного полипептида и могут быть разделены бактериальными протеазами или протеазами хозяина на легкую цепь (LC, ~ 50 кДа) и тяжелую цепь (Hc, ~ 100 кДа). Две цепи остаются связанными межцепочечной дисульфидной связью. Hc содержит два субдомена: N-терминальный домен H<sub>N</sub>, который опосредует транслокацию LC через эндосомальные мембраны, и C-терминальный домен H<sub>C</sub>, который опосредует связывание с рецепторами в нейронах. Межцепочечная дисульфидная связь восстанавливается при транслокации LC в цитозоль<sup>5,6</sup>. Высвобожденная LC действует как протеаза со специфическим расщеплением ряда нейрональных белков: BoNT/A, C и E расщепляют по разным сайтам в белке, известном как SNAP-25; BoNT/B, D, F и G расщепляют по разным сайтам в везикулярном белке VAMP; и BoNT/C также расщепляет трансмембранный белок синтаксин 1<sup>1-3</sup>. Эти три белка образуют комплекс, известный как комплекс SNARE, который необходим для высвобождения нейротрансмиттеров<sup>7,8</sup>. Расщепление любого из этих трех белков SNARE блокирует высвобождение нейротрансмиттеров из нейронов, тем самым парализуя мышцы.

BoNT являются наиболее мощными из известных токсинов и вызывают заболевания людей и животных, известные как ботулизм<sup>3</sup>. Основная форма ботулизма вызывается употреблением пищи, загрязненной BoNT (пищевой ботулизм). Существуют и другие формы, такие как детский ботулизм, который обусловлен колонизацией кишечника продуцирующими токсин бактериями у детей. BoNT всегда вырабатываются вместе с другим белком 150 кДа, известным как NTNHA (нетоксичным, не гемагглютининовым белком), который образует pH-зависимый комплекс с BoNT и защищает BoNT от протеаз в желудочно-кишечном тракте<sup>9</sup>. Обнаружены гены, кодирующие BoNT и NTNHA, в двух типах генных кластеров: (1) кластер HA, содержащий гены для трех консервативных белков HA17, HA33 и HA70, которые образуют комплекс с BoNT/NTNHA и способствуют абсорбции токсинов через эпителиальный барьер кишечника<sup>10-12</sup>; (2) кластер OrfX, который кодирует консервативные белки OrfX1, OrfX2, OrfX3 и P47 с неизвестными функциями<sup>13</sup>.

Поскольку локальные инъекции незначительных количеств токсинов могут аттенуировать нейрональную активность в намеченных участках, BoNT применяли для лечения увеличивающегося перечня медицинских состояний<sup>14-16</sup>, в том числе мышечных спазмов, хронической боли, проблем надактивного мочевого пузыря, а также для косметических целей. Рынок BoNT уже превысил 1,5 миллиарда долларов в 2011 году и, по прогнозам, достигнет 2,9 миллиарда к 2018 году.

BoNT традиционно описывали с помощью анализов нейтрализации на мышцах путем инъекции культуральной надосадочной жидкости бактерией *Clostridium* мышам с антисывороткой против известных BoNT или без таковой. Первые выделенные серотипы, BoNT/A и BoNT/B, были установлены в 1919 году Georgina Burke<sup>18</sup>. Последний из семи типов, BoNT/G, определили в 1969 году из образцов почвы в Аргентине<sup>19</sup>. С 1970 года новые серотипы BoNT не обнаруживали. Эта классификация сохранилась после определения белковых последовательностей для каждого BoNT в 1990-х годах. Идентичность последовательностей между любыми двумя парами среди семи варьирует от 32% до 65,3%. Все семь BoNT были идентифицированы и охарактеризованы до эры их медицинского применения. Следовательно, не существует патента ни на один из этих токсинов. Любая компания может свободно производить и продавать любой из этих семи BoNT. Среди семи типов BoNT/A и BoNT/B являются двумя токсинами, которые в настоящее время одобрены FDA для применения у людей<sup>14-16</sup>. BoNT/A является доминирующим типом, используемым как в медицинских, так и в косметических целях, продаваемым как Botox от Allergan Inc., Dysport от IPSEN Inc. и Xeomin от Merz Inc. BoNT/B продается как Myobloc компанией USWorld Med. Существует значительный интерес к разработке других типов BoNT в качестве терапевтических токсинов по двум основным причинам.

(1) Основным ограничением в лечении является образование нейтрализующего антитела против BoNT/A или BoNT/B у пациентов, что делает неэффективным в будущем лечение тем же токсином<sup>20</sup>. В этом случае пациентам необходимо будет лечиться другим типом BoNT. Вот почему BoNT/B часто используется для лечения пациентов, у которых выработались нейтрализующие антитела против BoNT/A во время лечения, но существует потребность в альтернативных токсинах для пациентов, у которых выработались антитела как против BoNT/A, так и против BoNT/B.

(2) Хотя все BoNT имеют одинаковую структуру и функцию, между ними также имеются значительные различия. Например, BoNT/A расщепляет SNAP-25 и использует белок SV2 в качестве своего рецептора, тогда как BoNT/B расщепляет VAMP и использует белок синаптоагмин (Syt) в качестве своего рецептора<sup>21-27</sup>. Эти функциональные вариации могут приводить к потенциальным различиям в

терапевтической эффективности, направленной на разные типы нейронов. Кроме того, стабильность и продолжительность лечения могут также отличаться среди семи типов токсинов. Следовательно, другой тип токсина может иметь свои преимущества перед VoNT/A и VoNT/B.

Быстрый прогресс в геномном секвенировании в последние годы выявил удивительное разнообразие VoNT<sup>28, 29</sup>. Во-первых, существует несколько подтипов, которые могут распознаваться одной и той же антисывороткой, но содержат значительные уровни вариаций белковых последовательностей (различия 2,6% ~ 31,6%)<sup>28, 30</sup>. Например, VoNT/A содержит 8 известных подтипов, обозначаемых как VoNT/A1-A8<sup>13</sup>. Кроме того, существует множество мозаичных токсинов, вероятно, происходящих из-за рекомбинации генов токсина. Например, «тип H» был зарегистрирован в 2013 году, но позднее он был признан химерным токсином, поскольку его LC характеризуется ~80% идентичностью с LC подтипа VoNT/F, VoNT/F5, и его H<sub>C</sub> характеризуется ~84% идентичностью с H<sub>C</sub> VoNT/A1<sup>31-34</sup>. Соответственно, этот токсин может быть распознан и нейтрализован доступной антисывороткой против VoNT/A<sup>33</sup>.

Генный кластер, кодирующий VoNT, может находиться на плаزمиде, бактериальных фагах или хромосомах, что указывает на то, что гены токсинов подвижны и подвержены горизонтальному переносу генов<sup>13</sup>. Также существуют случаи, когда штамм бактерий *Clostridium* содержит два или даже три разных гена токсина<sup>32, 35, 36</sup>. В этих случаях один токсин обычно экспрессируется на более высоких уровнях (обозначен заглавной буквой), чем другой токсин (обозначен строчной буквой). Например, штаммы, которые экспрессируют высокие уровни VoNT/B и низкие уровни VoNT/F, известны как штаммы VoNT/Bf. Встречаются также случаи, когда один токсин экспрессируется, а другой токсин не экспрессируется, что известно как молчащий токсин (обычно помеченный в скобках). Например, исследование случаев ботулизма у детей в Калифорнии показало, что 8% штаммов представляли собой VoNT/A(B), что означает, что эти штаммы содержат гены как для VoNT/A, так и для VoNT B, но экспрессируют на выявляемых уровнях только VoNT/A<sup>37-39</sup>.

Как показано в графических материалах и примерах настоящего раскрытия, проводили поиск в опубликованных базах данных геномных последовательностей бактерий *Clostridium* и идентифицировали новый ген VoNT (далее обозначаемый как «VoNT/X»), кодируемый в хромосоме штамма 111 *Clostridium botulinum*. Штамм 111 был впервые выделен в Японии у пациента детского возраста с ботулизмом в 1996 году<sup>40</sup>. Показали, что токсичность штамма 111 у мышей может быть нейтрализована антисывороткой против VoNT/B<sup>40</sup>. Позднее подтвердили, что этот штамм экспрессирует подтип VoNT/B, VoNT/B2, кодируемый в плазмиде<sup>41, 42</sup>. Последовательность VoNT/X

депонировали в базу данных PubMed в феврале 2015 года как часть геномной последовательности штамма 111. BoNT/X ранее не был охарактеризован. Остается неизвестным, экспрессируется ли он в штамме 111 и является ли он функциональным токсином.

Также в настоящем документе представлена характеристика BoNT/X на функциональных уровнях. Его LC, как выяснили, расщепляет VAMP по сайту, отличному от известных целевых сайтов всех других BoNT. Обнаружили, что токсин полной длины, образуемый ковалентным связыванием нетоксичных фрагментов сортазой, проникает в культивируемые нейроны и расщепляет VAMP в нейронах, вызывая атрофический паралич у мышей. Наконец, обнаружили, что токсин не распознается антисывороткой, вырабатываемой против всех семи известных BoNT, что говорит о BoNT/X как о новом серотипе BoNT. Его идентификация представляет срочную задачу для разработки эффективных контрмер. Он также может быть превращен в новый терапевтический токсин и может быть использован для создания химерных токсинов с потенциально различными фармакологическими свойствами.

Используемый в настоящем документе термин «полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT)» охватывает любой полипептид или фрагмент из ботулинического нейротоксина, описываемого в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления термин BoNT относится к BoNT полной длины. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления термин BoNT относится к фрагменту BoNT, который может осуществлять весь клеточный механизм, посредством которого BoNT проникает в нейрон и ингибирует высвобождение нейротрансмиттеров. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления термин BoNT просто относится к фрагменту BoNT, что не требует наличия у фрагмента какой-либо специфической функции или активности. Например, полипептид BoNT может относиться к легкой цепи (LC) BoNT, например, BoNT/X. Другими терминами, которые могут быть использованы по всему настоящему раскрытию для «нейротоксинов *Clostridial botulinum*», могут быть BoNT, ботулинические токсины или токсины *C. botulinum*. Следует учитывать, что данные термины используются взаимозаменяемо. Термин «BoNT/X» относится к новому серотипу BoNT, описываемому и характеризуемому в настоящем раскрытии. Также представлена белковая последовательность BoNT/X (№ в GenBank BAQ12790,1; четыре цистеина подчеркнуты и выделены жирным шрифтом):

MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIKNIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEA  
DAIYNPNYLNTPEKDEFLQGVIKVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSNALTLSDNETIAYQENNNIVSN  
LQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLSEVSFSFYLKPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDP  
ASTLMHELHVHTHNLYGISNRNFYFNFDTGKIETSRQNSLIFEELLTFGGIDSKAISSLIKKIETAKNNYT  
TLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPVQGRGLGNFKLDTAEFEKKNLTLFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKERPI

DPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQQLLESSYFEKIESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNN  
 IDLEDKKTTSKTNVSYPCSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKDKLPPQDITLSNYD  
 FTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNP  
 NKVYSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFSDETGKIDVIDKSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGD  
 FVGAIELAGITALLEYVPEFTIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWWGTIHL  
 QINTRLAHTYKALSRQANAIKMNMELFLANYKGNIDDKAKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLS  
 NSYLTKEMIPKVQDNLKNFDLETKKTLDFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNIAFDINDIPSEFDDLI  
 NQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTSDINIGSDIELADGRENKAIIKIGSENSTIKIAMNKYLRFSATD  
 NFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRDHNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITN  
 NRSKGSIVYVNGSKIEEKDISSIWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLYNYFYNS  
 NYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNS  
 KKLDGLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTDHLTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIF  
 HKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWWYFIPKDEGWDED (SEQ ID NO:  
 1).

Термин «модифицированный нейротоксин Clostridial botulinum (BoNT)» охватывает BoNT, содержащий любые модификации в аминокислотной последовательности, например, усечение, добавление, аминокислотную замену и любую их комбинацию. Например, BoNT/X, содержащий аминокислотные мутации по типу замены в С461 или С467, является модифицированным BoNT. В другом примере фрагмент или домен BoNT полной длины (например, протеазный домен или LC) считают модифицированным BoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен BoNT также может содержать аминокислотные мутации по типу замены, например, протеазный домен, содержащий мутации по типу замены в положениях С461 или С467 BoNT/X.

Термин «проникает в клетку» при использовании для описания действия BoNT в соответствии с настоящим раскрытием, охватывает связывание BoNT с рецепторным комплексом с низкой или высокой аффинностью, связывание BoNT с ганглиозидом, интернализацию токсина, транслокацию легкой цепи токсина в цитоплазму и ферментативную модификацию субстрата BoNT.

Используемый в настоящем документе термин «протеазный домен нейротоксина Clostridial botulinum (BoNT)» является синонимичным термину «легкая цепь (LC)». Протеазный домен BoNT располагается в легкой цепи BoNT и, таким образом, также называется LC. Термин означает домен BoNT, который может осуществлять стадию ферментативной целевой модификации в процессе интоксикации. Если упоминается LC из определенного серотипа BoNT, используют термин «серотип-LC». Например, термин «X-LC» означает полипептид LC из BoNT/X. Протеазный домен BoNT специфически нацеливается на субстрат токсина *C. botulinum* и осуществляет протеолитическое расщепление субстрата токсина *C. botulinum*, такого как, например, белки SNARE, такие

как субстрат SNAP-25, субстрат VAMP и субстрат синтаксина, в BoNT (например, BoNT/X, BoNT/A, BoNT/B, BoNT/C и т.д.). Считают, что протеазный домен или LC соответствуют приблизительно аминокислотам 1-439 в BoNT/X. Граница домена может варьировать в пределах до приблизительно 25 аминокислот. Например, протеазный домен может соответствовать аминокислотам 1-414 или 1-464 в BoNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления протеазный домен может соответствовать аминокислотам 1-438, 1-437, 1-436, 1-435, 1-434, 1-433, 1-432, 1-431, 1-430, 1-429, 1-439, 1-440, 1-441, 1-442, 1-443, 1-444, 1-445, 1-446, 1-447, 1-448 или 1-449 в BoNT/X.

Используемый в настоящем документе термин «домен транслокации нейротоксина Clostridial botulinum (BoNT)» является синонимичным термину «домен H<sub>N</sub>» и означает домен BoNT, который может осуществлять стадию транслокации процесса интоксикации, который опосредует транслокацию легкой цепи BoNT. Таким образом, H<sub>N</sub> облегчает перемещение легкой цепи BoNT через мембрану в цитоплазму клетки. Неограничивающие примеры H<sub>N</sub> включают в себя H<sub>N</sub> BoNT/A, H<sub>N</sub> BoNT/B, H<sub>N</sub> BoNT/C1, H<sub>N</sub> BoNT/D, H<sub>N</sub> BoNT/E, H<sub>N</sub> BoNT/F, H<sub>N</sub> BoNT/G и H<sub>N</sub> BoNT/X. Домен транслокации располагается на N-конце тяжелой цепи (H<sub>C</sub>) и, таким образом, также называется H<sub>N</sub>. Следует учитывать, что данные термины используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Используемый в настоящем документе термин «линкерный участок» относится к аминокислотной последовательности между протеазным доменом и доменом транслокации BoNT. Линкер содержит два цистеина в положениях 461 и 467, один из которых образует межмолекулярную дисульфидную связь с цистеином в протеазном домене C423 (дисульфидную связь C461-C423 или дисульфидную связь C467-C423). Образование данной дисульфидной связи необходимо для активности BoNT/X.

Используемый в настоящем документе термин «LC-H<sub>N</sub>» относится к полипептиду BoNT, содержащему протеазный домен, линкерный участок и домен транслокации. Если упоминают LC-H<sub>N</sub> из определенного серотипа BoNT, то используют термин «серотип-LC-H<sub>N</sub>». Например, термин «X-LC-H<sub>N</sub>» означает полипептид LC-H<sub>N</sub> из BoNT/X. Считают, что полипептид LC-H<sub>N</sub> соответствует приблизительно аминокислотам 1-892 из BoNT/X. Граница домена может варьировать в пределах до приблизительно 25 аминокислот. Например, полипептид LC-H<sub>N</sub> может соответствовать приблизительно аминокислотам 1-917 или 1-867 в BoNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид LC-H<sub>N</sub> может соответствовать аминокислотам 1-893, 1-894, 1-895, 1-896, 1-897, 1-898, 1-899, 1-900, 1-901, 1-902, 1-892, 1-891, 1-890, 1-889, 1-888, 1-887, 1-886, 1-885, 1-884 или 1-883 в BoNT/X.



Используемый в настоящем документе термин «связывающий рецептор домен нейротоксина Clostridial botulinum (BoNT)» является синонимичным термину «домен Н<sub>С</sub>» и означает любой домен связывания с рецептором встречающегося в природе BoNT, который может осуществлять стадию связывания с клеткой в процессе интоксикации, в том числе, например, связывание BoNT с BoNT-специфической рецепторной системой, расположенной на поверхности плазматической мембраны целевой клетки. Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к доменам связывания с рецептором модифицированного BoNT из серотипа X (BoNT/X). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления «домен связывания с рецептором модифицированного BoNT/X» содержит аминокислотные замены в положении, соответствующем С1240 в BoNT/X (SEQ ID NO: 1). Считают, что домен связывания с рецептором или Н<sub>С</sub> соответствует приблизительно аминокислотам 893-1306 из BoNT/X. Граница домена может варьировать в пределах до приблизительно 25 аминокислот. Например, домен связывания с рецептором или Н<sub>С</sub> может соответствовать аминокислотам 868-1306 или 918-1306. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором или Н<sub>С</sub> может соответствовать аминокислотам 893-1306, 894-1306, 895-1306, 896-1306, 897-1306, 898-1306, 899-1306, 900-1306, 901-1306, 902-1306, 892-1306, 891-1306, 890-1306, 889-1306, 888-1306, 887-1306, 886-1306, 885-1306, 884-1306 или 883-1306 в BoNT/X.

Термин «выделенный» означает материал, который не содержит в варьирующей степени компоненты, обычно сопровождающие его в его нативном состоянии. Термин «выделять» означает степень выделения из оригинального источника или окружения, например, из клетки или из фланкирующей ДНК, или из природного источника ДНК. Термин «очищенный» применяют в отношении вещества, такого как полипептид, которое является «практически чистым» в отношении других компонентов препарата (например, других полипептидов). Он может относиться к полипептиду, который является по меньшей мере на приблизительно 50%, 60%>, 70%> или 75%, предпочтительно по меньшей мере приблизительно 85%, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере на приблизительно 95% чистым в отношении других компонентов. Термины «практически чистый» или «по сути чистый», в отношении полипептида, относятся к препарату, который содержит меньше чем приблизительно 20%, более предпочтительно меньше чем приблизительно 15%, 10%, 8%, 7%, наиболее предпочтительно меньше чем приблизительно 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее чем 1% одного или нескольких других компонентов (например, других полипептидов или клеточных компонентов).

Термин «мутация по типу замены», без упоминания конкретной аминокислоты, может включать в себя любую аминокислоту, отличную от остатка дикого типа, обычно встречающегося в этом положении. Такие замены могут быть заменены неполярными (гидрофобными) аминокислотами, такими как глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан и пролин. Замены могут быть заменены полярными (гидрофильными) аминокислотами такими как серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин и глутамин. Замены могут быть заменены электрически заряженными аминокислотами, например, отрицательно электрически заряженными аминокислотами, такими как аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота, и положительно электрически заряженными аминокислотами, такими как лизин, аргинин и гистидин.

Мутации по типу замены, описываемые в настоящем документе, как правило, будут заменены другим встречающимся в природе аминокислотным остатком, но в некоторых случаях не встречающиеся в природе аминокислотные остатки также могут быть заменены. Неприродные аминокислоты, в качестве используемого в настоящем документе термина, представляют собой непротеиногенные (т.е. не кодирующие белок) аминокислоты, которые либо имеют природное происхождение, либо синтезированы химическим путем. Примеры включают в себя без ограничения  $\beta$ -аминокислоты ( $\beta 3$  и  $\beta 2$ ), гомоаминокислоты, производные пролина и пировиноградной кислоты, производные 3-замещенного аланина, производные глицина, производные замещенного по кольцу фенилаланина и тирозина, аминокислоты с линейным ядром, диаминокислоты, D-аминокислоты и N-метиламинокислоты. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аминокислота может быть замещенной или незамещенной. Замещенная аминокислота или заместитель могут быть галогенированной ароматической или алифатической аминокислотой, галогенированной алифатической или ароматической модификацией в гидрофобной боковой цепи, или алифатической, или ароматической модификацией.

Термин «процент идентичности» двух аминокислотных последовательностей определяют с использованием алгоритма Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990, модифицированного, как в Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST (версии 2.0) Altschul, *et al.* J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Поиски белков BLAST могут быть выполнены с программой XBLAST, балл = 50, длина слова = 3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных представляющим интерес белковым молекулам. Если имеются гэпы между двумя последовательностями, может быть использована Gapped BLAST, как описано в Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST могут

быть использованы параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST).

Следовательно, в некоторых аспектах настоящего раскрытия представлены выделенные полипептиды VoNT. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT является полипептидом VoNT/X полной длины. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT/X содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1. Например, выделенный полипептид VoNT может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT представляет собой полипептид X-LC-H<sub>N</sub>. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 2. Например, выделенный полипептид VoNT может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную

последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 2.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT представляет собой полипептид X-LC. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 3. Например, выделенный полипептид VoNT может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенный полипептид VoNT состоит из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 3.

Полипептид X-LC может быть введен отдельно в клетки, где желательно расщепление субстрата VoNT (например, белка SNARE) для исследовательской или терапевтической цели, любыми известными в уровне техники методиками экспрессии экзогенного белка, например, трансфекцией кодирующей LC последовательности непосредственно в клетки, с помощью лентивирусных векторов, с помощью AAV векторов или слияния X-LC с проникающими в клетку пептидами.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептиды VoNT в соответствии с настоящим раскрытием представляют собой VoNT/X полной длины, содержащий протеазный домен (LC), линкерный участок, домен транслокации ( $H_N$ ) и домен связывания с рецептором ( $H_C$ ), при этом линкерный участок располагается между протеазным доменом и доменом транслокации. Подобно другим VoNT VoNT/X изначально продуцируется как один полипептид и активируется путем расщепления линкерного участка между LC и  $H_N$  либо бактериальными протеазами, либо протеазами хозяина. Этот процесс известен как «активация» и необходим для активности VoNT/X

после расщепления, при этом LC и H<sub>N</sub> остаются соединенными межцепочечной дисульфидной связью до транслокации LC в цитозоль клеток, где дисульфидная связь восстанавливается для высвобождения LC в цитозоль. VoNT/X содержит два цистеина, которые являются консервативными по сравнению с другими VoNT, C423 и C467. Интересно, что VoNT/X также содержит дополнительный цистеин (C461), который является уникальным для VoNT/X. Образование межцепочечной дисульфидной связи (C423-C461 или C423-C467) необходимо для активности VoNT/X.

В дополнение к цистеинам в линкерном участке домен связывания с рецептором VoNT содержит другой цистеин, C1240, который также может формировать межмолекулярные дисульфидные связи с другими цистеинами в VoNT/X. Эти межмолекулярные дисульфидные связи вызывают агрегацию VoNT/X и дестабилизируют белок (фиг. 4B). Замещение цистеинов, которые не являются необходимыми для активности VoNT/X может давать полипептиды VoNT/X с повышенной стабильностью.

Следовательно, в некоторых аспектах настоящего раскрытия представлен модифицированный полипептид VoNT/X, содержащий одну или несколько мутаций по типу замены в C461, C467 или C1240, который является более стабильным, чем VoNT/X дикого типа и обладает сопоставимыми активностями. Цистеины могут быть заменены любыми аминокислотами, которые аннулируют формирование дисульфидных связей. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления цистеины заменяют серином (S) или аланином (A). Возможными комбинациями мутаций по типу замены, которые могут присутствовать в модифицированных VoNT в соответствии с настоящим раскрытием, являются без ограничения C461S, C461A, C467S, C467A, C1240S, C1240A, C461S/C1240S, C461A/C1240S, C461S/C1240A, C467A/C1240A, C467S/C1240S, C467A/C1240S, C467S/C1240A и C467A/C1240A. Знак «/» указывает на двойные мутации. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X в соответствии с настоящим раскрытием содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 4-17. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 4-17, и не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. Например, модифицированный полипептид VoNT/X может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью

по отношению к любой под SEQ ID NO: 4-17, и не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 4-17, и не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 4-17.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT в соответствии с настоящим раскрытием представляет собой модифицированный полипептид VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>, содержащий мутации по типу замены, описываемые в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 в SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> содержит одну однократную мутацию по типу замены, соответствующую C461A, C461S, C467A или C467S в SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X в соответствии с настоящим раскрытием содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 18-21. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 18-21, и не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. Например, модифицированный полипептид VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 18-21, и не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 18-21, и не имеет аминокислотную

последовательность под SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный полипептид VoNT/X-LC-H<sub>N</sub> состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 18-21.

Модифицированный полипептид VoNT, содержащий одну или несколько мутаций по типу замены (например, в C461, C467 или C1240), описываемый в настоящем документе, не формирует межмолекулярные дисульфидные связи, которые вызывают агрегацию белка, и, поэтому, является более стабильным, чем соответствующие ему белки дикого типа. Активность полипептидов VoNT не нарушается мутациями по типу замены в цистеинах. Таким образом, модифицированный VoNT/X может быть более подходящим для терапевтического применения, чем VoNT/X дикого типа, благодаря его повышенной стабильности.

В других аспектах настоящего раскрытия представлены химерные VoNT, содержащие VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>, описываемые в настоящем документе, и домен связывания с рецептором (H<sub>C</sub>) из другого VoNT. Например, домен связывания с рецептором может быть из любого из VoNT/A, VoNT/B, VoNT/C, VoNT/D, VoNT/E, VoNT/E, VoNT/F и VoNT/G. Таким образом, химерные VoNT, описываемые в настоящем документе, включают в себя VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-A-H<sub>C</sub>, VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-B-H<sub>C</sub>, VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-C-H<sub>C</sub>, VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-D-H<sub>C</sub>, VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-E-H<sub>C</sub>, VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-F-H<sub>C</sub> и VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-G-H<sub>C</sub>. Следует учитывать, что домен H<sub>C</sub> любых подтипов семи известных серотипов (например, A, B, C, D, E, F или G) является подходящим для химерного токсина. Упоминание VoNT/A, VoNT/B, VoNT/C, VoNT/D, VoNT/E, VoNT/F или VoNT/G охватывает все подтипы. Например, VoNT/A имеет 8 подтипов, VoNT/A1, VoNT/A2, VoNT/A3, VoNT/A4, VoNT/A5, VoNT/A6, VoNT/A7 или VoNT/A8, а H<sub>C</sub> любого из этих подтипов VoNT/A является подходящим для применения в химерном VoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Подобным образом, H<sub>C</sub> любого из 8 подтипов VoNT/B, т.е. VoNT/B1, VoNT/B2, VoNT/B3, VoNT/B4, VoNT/B5, VoNT/B6, VoNT/B7 или VoNT/B8, является подходящим для применения в химерном VoNT в соответствии с настоящим раскрытием.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления представлены VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-A1-H<sub>C</sub> (SEQ ID NO: 22), VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-B1-H<sub>C</sub> (SEQ ID NO: 23) и VoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-C1-H<sub>C</sub> (SEQ ID NO: 24). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид VoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 22-24. Например, химерный полипептид VoNT может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по

меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 22-24. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид BoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 22-24. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 22-24.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный BoNT в соответствии с настоящим раскрытием включает в себя модифицированный BoNT/X-LC-H<sub>N</sub>, содержащий мутацию по типу замены в линкерном участке, например, в положении, соответствующем С461 или С467 из SEQ ID NO: 2. Например, BoNT/X-LC-H<sub>N</sub> в химерном BoNT может содержать мутацию по типу замены, соответствующую С461А, С467А, С461S или С467S в SEQ ID NO: 2. Например, химерный полипептид BoNT в соответствии с настоящим раскрытием может содержать аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 25-30. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид BoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 25-30. Например, химерный полипептид BoNT может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 25-30. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид BoNT содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 25-30. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерный полипептид BoNT состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 25-30.

Для создания химерных токсинов, например, токсина BoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-A1-H<sub>C</sub>, фрагмент X-LC-H<sub>N</sub>, содержащий аминокислоту приблизительно 1-892 (SEQ ID NO: 2), сливают с доменом связывания с рецептором любого из BoNT/A, BoNT/B, BoNT/C, BoNT/D, BoNT/E, BoNT/E, BoNT/F и BoNT/G. Домены связывания с рецептором других



ВоNT соответствовали аминокислотам приблизительно 860-1291 в ВоNT/B1. Следует учитывать, что граница фрагмента X-LC-H<sub>N</sub> и/или доменов связывания с рецептором может варьировать на 1-25 аминокислот. Например, фрагмент X-LC-H<sub>N</sub>, который может быть использован для химерного токсина, может содержать аминокислоты 1-917 или 1-867 ВоNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления фрагмент X-LC-H<sub>N</sub>, который может быть использован для химерного токсина, может содержать аминокислоты 1-893, 1-894, 1-895, 1-896, 1-897, 1-898, 1-899, 1-900, 1-901, 1-902, 1-892, 1-891, 1-890, 1-889, 1-888, 1-887, 1-886, 1-885, 1-884 или 1-883 ВоNT/X. Подобным образом, домен связывания с рецептором, который может быть использован для химерного токсина, может содержать аминокислоту, соответствующую 885-1291 или 835-1291 ВоNT/X. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления домен связывания с рецептором, который может быть использован для химерного токсина, может содержать аминокислоту, соответствующую 860-1291, 861-1291, 862-1291, 863-1291, 864-1291, 865-1291, 866-1291, 867-1291, 868-1291, 869-1291, 870-1291, 860-1291, 859-1291, 858-1291, 857-1291, 856-1291, 855-1291, 854-1291, 853-1291, 852-1291 или 851-1291 ВоNT/B. Специалист в данной области сможет идентифицировать домены, которые могут быть использованы для химерного токсина в соответствии с настоящим раскрытием, на основании своих знаний в области гомологии белков, с помощью программного обеспечения выравнивания последовательностей или без такового. Способы слияния фрагментов являются стандартными рекомбинантными методиками, которые хорошо известны специалисту в данной области.

Далее в настоящем документе описываются модифицированные полипептиды ВоNT/X, содержащие модифицированный линкерный участок, при этом линкерный участок содержит специфический сайт расщепления протеазой. Используемый в настоящем документе термин «специфический сайт расщепления протеазой» относится к сайту распознавания и расщепления для специфической протеазы, в отличие от последовательности, которая распознается и расщепляется более чем одной неспецифической протеазой. Такие специфические протеазы включают в себя без ограничения тромбин, TEV, PreScission, фактор Ха, MMP-12, MMP-13, MMP-17, MMP-20, гранзим-B и энтерокиназу. Сайт расщепления специфических протеаз может быть добавлен в линкерный участок полипептида ВоNT/X путем вставки или замены имеющихся аминокислот в линкерном участке (например, замены аминокислот 424-460 в полипептиде ВоNT/X). Также представлены последовательности специфических сайтов расщепления протеазой: LVPR|GS (тромбин, SEQ ID NO: 50), ENLYFQ|G (TEV, SEQ ID NO: 51), LEVLFQ|GP (PreScission, SEQ ID NO: 52), IEGR| или IDGR| (фактор Ха, SEQ ID

NO: 53 или 54), DDDDK| (энтерокиназа, SEQ ID NO: 55) и AHREQIGG| (протеаза SUMO, SEQ ID NO: 56). Знак «|» указывает, где происходит расщепление.

В других аспектах настоящего раскрытия представлена функциональная характеристика полипептидов VoNT/X. Полипептиды VoNT/X, модифицированные полипептиды VoNT/X и химерные полипептиды VoNT в соответствии с настоящим раскрытием могут связываться с целевыми клетками и проникать в них, например, в нейроны, и расщеплять свои субстратные белки, например, белки SNARE. Используемый в настоящем документе термин «белки SNARE» относится к рецепторам SNAP (растворимого связанного с NSF белка), которые представляют собой крупное надсемейство белков, состоящих из более чем 60 представителей в клетках дрожжей и млекопитающих. Главная роль белков SNARE заключается в опосредовании слияния везикул, т.е. слияния везикул с их связанными с целевой мембраной компартментами (такими как лизосома). Наиболее изученными белками SNARE являются те, которые обеспечивают стыковку синаптических везикул с пресинаптической мембраной в нейронах, например, SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, VAMP7, VAMP8, синтаксин 1 и Ykt6. Некоторые из этих белков SNARE являются субстратами VoNT. Например, показали, что VAMP1, VAMP2, VAMP3, SNAP-25 и синтаксин 1 расщепляются известными VoNT, например, VoNT/A и VoNT/B.

В настоящем документе представлены данные, демонстрирующие, что VoNT/X расщепляет белки SNARE, которые являются известными субстратами VoNT. Одним удивительным открытием настоящего раскрытия является то, что VoNT/X способен расщеплять некоторые белки SNARE, которые другие VoNT расщеплять не способны, например, VAMP4, VAMP5 и Ykt6. VAMP4 широко экспрессируется и, как известно, опосредует везикулярное слияние между сетью транс-Гольджи (TGN) и эндосомами, а также гомотипичное слияние эндосом. Традиционно известно, что VoNT ограничены целевыми SNARE, которые опосредуют экзоцитоз везикул на плазматических мембранах. VoNT/X - это первый VoNT, способный расщеплять SNARE, опосредующий события слияния других типов внутри клеток, в которых отсутствует плазматическая мембрана по определению. VAMP4 также может вносить вклад в асинхронный экзоцитоз синаптических везикул, экзоцитоз ростосом и зависимый от активности объемный эндоцитоз (ADBE) в нейронах. Кроме того, VAMP4 участвует в высвобождении гранул в иммунных клетках. Таким образом, VoNT/X может обладать уникальным потенциалом среди всех VoNT для модуляции воспалительной секреции в иммунных клетках, которая может использоваться терапевтически. VAMP5 в основном экспрессируется в мышцах, и его функция еще не установлена. VoNT/X станет уникальным инструментом для исследования функции VAMP4 и VAMP5. Ykt6 функционирует в эндоплазматическом

ретикулуме для транспорта Гольджи. Он также функционирует в ранней/рециклинговой эндосоме в транспорте TGN. Идентификация Ykt6 в качестве субстрата полипептидов BoNT, описываемых в настоящем документе, является важной, поскольку она открывает новое терапевтическое применение для блокирования секреции в широком диапазоне клеток с помощью BoNT.

Другое неожиданное открытие настоящего раскрытия заключается в том, что BoNT/X расщепляет белки SNARE по новому сайту, который ранее не был описан. Как показано в примерах и графических материалах настоящего раскрытия, BoNT/X расщепляет между аминокислотами R66-S67 в VAMP1, VAMP2 и VAMP3. R66-A67 является новым сайтом расщепления, отличным от установленных целевых сайтов для всех других BoNT (фиг. 2F). Это также единственный сайт расщепления BoNT, расположенный в области, ранее известной как мотив SNARE (фиг. 2F).

Следовательно, полипептиды BoNT в соответствии с настоящим раскрытием имеют расширенный профиль целевых клеток и субстратов. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет белок SNARE в клетке. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет белок SNARE, выбранный из группы, состоящей из SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксина 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP1 (SEQ ID NO: 39). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP1 между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 в SEQ ID NO: 39. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP2 (SEQ ID NO: 40). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP2 между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 в SEQ ID NO: 40. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP3 (SEQ ID NO: 31). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP3 между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 в SEQ ID NO: 41. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP4 (SEQ ID NO: 42). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP4 между аминокислотными остатками, соответствующими K87 и S88 в SEQ ID NO: 42. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP5 (SEQ ID NO: 43). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет VAMP5 между аминокислотными остатками, соответствующими R40 и S41 в SEQ ID NO: 43. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет

Ykt6 (SEQ ID NO: 44). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT расщепляет Ykt6 между аминокислотными остатками, соответствующими K173 и S174 в SEQ ID NO: 44.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT в соответствии с настоящим раскрытием расщепляет белок SNARE в целевой клетке. Используемый в настоящем документе термин «целевая клетка» означает клетку, которая является встречающейся в природе клеткой, в которую BoNT может проникать или которую может интоксигировать. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления целевая клетка представляет собой секреторную клетку, например, нейрон или секреторную иммунную клетку. Примеры нейронов, которые могут быть BoNT целевыми клетками, включают в себя без ограничения двигательные нейроны; сенсорные нейроны; автономные нейроны; такие как, например, симпатические нейроны и парасимпатические нейроны; непептидергические нейроны, такие как, например, холинергические нейроны, адренергические нейроны, норадренергические нейроны, серотонергические нейроны, ГАБА-эргические нейроны и пептидергические нейроны, такие как, например, нейроны субстанции P, нейроны генетически родственного кальцитонину пептида, нейроны вазоактивного пептида кишечника, нейроны нейропептида Y, нейроны холецистокинина.

Полипептид BoNT в соответствии с настоящим раскрытием, например, BoNT/X или модифицированный полипептид BoNT/X, способен нацеливаться на другие типы секреторных клеток, отличных от нейронов, благодаря своей способности расщеплять VAMP4 или Ykt6. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления секреторной клеткой, на которую нацеливается полипептид BoNT, является секреторная иммунная клетка. Используемый в настоящем документе термин «секреторная иммунная клетка» относится к иммунным клеткам, которые секретируют цитокины, хемокины или антитела. Такие секреторные иммунные клетки могут быть врожденными иммунными клетками, в том числе без ограничения натуральными клетками-киллерами, тучными клетками, эозинофилами, базофилами, макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками. На секреторные иммунные клетки, которые секретируют антитела (например, белые клетки крови), также могут нацеливаться полипептиды BoNT в соответствии с настоящим раскрытием. Неограничивающие примеры секретирующих антитела клеток включают в себя без ограничения В-клетки плазмы, плазмоциты, плазмациты и эффекторные В-клетки. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления целевая клетка представляет собой культивируемую клетку, например, культивируемый нейрон или культивируемую секреторную иммунную клетку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления целевая клетка находится *in vivo*. В соответствии с

некоторыми вариантами осуществления целевая клетка является клеткой млекопитающего. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления млекопитающее представляет собой человека. В соответствии с вариантами осуществления млекопитающее представляет собой грызуна, например, мышь или крысу.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT подавляет нейрональную активность. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT модулирует иммунный ответ. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT индуцирует атрофический паралич. Термин «атрофический паралич» относится к клиническому проявлению, характеризующемуся слабостью или параличом и пониженным мышечным тонусом без другой очевидной причины (например, травмы).

В других аспектах настоящего раскрытия представлены модифицированные полипептиды BoNT/X, содержащие неактивный протеазный домен. Такие полипептиды BoNT/X (также называемые в настоящем документе «неактивными BoNT/X») могут проникать в целевые клетки, но не могут расщеплять субстратные белки (например, белок SNARE) из-за неактивности протеазного домена. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный BoNT/X представляет собой фрагмент X-LC-N<sub>N</sub>, содержащий а) неактивный протеазный домен; б) линкерный участок и с) домен транслокации. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный BoNT/X представляет собой полипептид BoNT/X полной длины, содержащий а) неактивный протеазный домен; б) линкерный участок; с) домен транслокации и d) домен связывания с рецептором. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный протеазный домен содержит одну или несколько мутаций по типу замены в положении, соответствующем R360, Y363, H227, E228 или H231 в SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления одна или несколько мутаций по типу замены соответствуют R360A/Y363F, H227Y, E228Q или H231Y в SEQ ID NO: 1. Следует учитывать, что неактивный полипептид BoNT/X может содержать любую мутацию(и), которая инактивирует протеазный домен.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный полипептид BoNT/X содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 31-38. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный полипептид BoNT/X содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 31-38. Например, неактивный полипептид BoNT/X может содержать аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей

мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 31-38. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный полипептид VoNT/X содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 31-38. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный полипептид VoNT/X состоит из аминокислотной последовательности под любым из SEQ ID NO: 31-38.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный VoNT/X (например, неактивный X-LC-H<sub>N</sub> или неактивный VoNT/X полной длины) дополнительно содержит мутации в линкерном участке. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модификация в линкерном участке содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления однократная мутация по типу замены соответствует C461A, C461S, C467A или C467S в SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления неактивный VoNT/X (например, неактивный VoNT/X полной длины) дополнительно содержит модификацию в домене связывания с рецептором. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модификация в домене связывания с рецептором содержит мутацию по типу замены в положении, соответствующем C1240 в SEQ ID NO: 1.

Также предполагается, что модифицированный полипептид VoNT/X, содержащий неактивный протеазный домен, описываемый в настоящем документе, может быть использован в качестве инструмента доставки в целевые клетки (например, нейроны) у людей. Например, модифицированный VoNT/X может быть связан с другими терапевтическими средствами, ковалентно или нековалентно, и действует как нацеливающаяся среда-носитель для доставки терапевтических средств в целевые клетки у людей.

Таким образом, другой аспект настоящего раскрытия относится к химерной молекуле полипептида, содержащей первую часть, которая представляет собой неактивный VoNT/X, содержащий одну или несколько мутаций по типу замены, которые инактивируют протеазный домен, связанный со второй частью. Вторая часть молекулы может быть биоактивной молекулой, такой как терапевтическое средство (например, полипептид или отличное от полипептида лекарственное средство). Связывание первой и второй частей молекулы может быть ковалентным (например, в форме белка слияния) или

нековалентным. Способы такого связывания известны в уровне техники и могут быть без труда применены специалистом в данной области. Если вторая часть химерной молекулы является полипептидом, и химерная молекула имеет форму белка, то обеспечиваются нуклеиновые кислоты и векторы нуклеиновой кислоты, кодирующие такие химерные молекулы.

Также представлены клетки, содержащие нуклеиновые кислоты или векторы нуклеиновой кислоты, и клетки, экспрессирующие такие химерные молекулы. Химерные молекулы в форме белка слияния могут быть экспрессированы и выделены с использованием способов, раскрываемых в настоящем документе.

Модифицированные полипептиды VoNT/X, химерные полипептиды VoNT или химерные молекулы, содержащие вторую часть, которая является полипептидом в соответствии с настоящим раскрытием (например, без ограничения полипептидами, содержащими аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 1-38), как правило, будут продуцироваться путем экспрессии рекомбинантных нуклеиновых кислот в соответствующих клетках (например, в *E. coli* или клетках насекомых) и выделяться. Нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептиды, описываемые в настоящем документе, могут быть получены, и нуклеотидная последовательность нуклеиновых кислот может быть определена любым способом, известным в уровне техники.

Кроме того, в настоящем документе представлены выделенные и/или рекомбинантные нуклеиновые кислоты, кодирующие любой из полипептидов VoNT, раскрываемых в настоящем документе. Нуклеиновые кислоты, кодирующие выделенные полипептидные фрагменты в соответствии с настоящим раскрытием, могут представлять собой ДНК или РНК, двухнитевую или из одной нити. Согласно некоторым аспектам рассматриваемые нуклеиновые кислоты, кодирующие выделенные полипептидные фрагменты, как далее будет понятно, включают в себя нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептиды, которые являются вариантами любого из модифицированных полипептидов VoNT, описываемых в настоящем документе.

Вариантные нуклеотидные последовательности включают в себя последовательности, которые отличаются одной или несколькими нуклеотидными заменами, добавлениями или делециями, такие как аллельные варианты. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим раскрытием содержат полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по

меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 1-38. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления выделенные молекула нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим раскрытием содержат полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 1-38.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления нуклеиновая кислота содержится в векторе, таком как вектор экспрессии. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления вектор содержит промотор, функционально связанный с нуклеиновой кислотой.

Ряд промоторов может быть использован для экспрессии полипептидов, описываемых в настоящем документе, в том числе без ограничения, промежуточный ранний промотор цитомегаловируса (CMV), вирусный LTR, такой как LTR вируса саркомы Рауса, HIV-LTR, LTR HTLV-1, ранний промотор вируса обезьяны 40 (SV40), промотор *E. coli lac UV5* и промотор вируса простого герпеса tk. Также могут быть использованы регулируемые промоторы. Такие регулируемые промоторы включают в себя промоторы, использующие репрессор lac из *E. coli* в качестве модулятора транскрипции для регуляции транскрипции из промоторов несущих оператор lac клеток млекопитающих [Brown, M. *et al.*, *Cell*, 49:603-612 (1987)], промоторы, использующие тетрациклиновый репрессор (tetR) [Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. *et al.*, *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)].

Другие системы включают в себя FK506 димер, VP16 или p65, использующий астрадиол, RU486, дифенолмурислерон или рапамицин. Индуцибельные системы доступны от Invitrogen, Clontech и Ariad. Могут быть использованы индуцибельные промоторы, которые включают в себя репрессор с опероном. Согласно одному варианту осуществления репрессор lac из *Escherichia coli* может функционировать как транскрипционный модулятор для регулирования транскрипции из промоторов несущих оператор lac клеток млекопитающих [M. Brown *et al.*, *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen и Bujard (1992) [M. Gossen *et al.*, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)] объединили тетрациклиновый репрессор (tetR) с активатором транскрипции (VP 16) для создания белка слияния tetR-активатора транскрипции клеток млекопитающих, tTa (tetR-VP 16), с несущим tetO минимальным промотором, полученным из главного немедленно-раннего промотора цитомегаловируса человека (HCMV), с созданием операторной системы tetR-tet для контроля экспрессии генов в клетках млекопитающих. Согласно одному варианту



осуществления применяют тетрациклин-индуцибельный переключатель (Yao *et al.*, Human Gene Therapy; Gossen *et al.*, Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992); Shockett *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)).

Кроме того, вектор может содержать, например, некоторое или все из следующего: селективируемый маркерный ген, такой как ген неомидина для отбора стабильных или транзистентных трансфектантов в клетках млекопитающих; энхансерные/промоторные последовательности из немедленно-раннего гена CMV человека для высоких уровней транскрипции; терминация транскрипции и сигналы процессинга РНК из SV40 для стабильности mRNA; начала репликации полиомы SV40 и ColE1 для надлежащей эписомальной репликации; внутренние сайты связывания с рибосомой (IRES), изменчивые сайты множественного клонирования; а также промоторы T7 и SP6 РНК для *in vitro* транскрипции смысловой и антисмысловой РНК. Подходящие векторы и способы получения векторов, содержащих трансгены, хорошо известны и доступны в уровне техники.

Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, может быть перенесен в клетку-хозяина традиционными методиками (например, электропорацией, липосомальной трансфекцией и осаждением фосфатом кальция), а затем трансфицированные клетки культивируют традиционными методиками для получения полипептидов, описываемых в настоящем документе. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления экспрессия полипептидов, описываемых в настоящем документе, регулируется конститутивным, индуцибельным или тканеспецифическим промотором.

Клетками-хозяевами, применяемыми для экспрессии выделенных полипептидов, описываемых в настоящем документе, могут быть либо бактериальные клетки, такие как *Escherichia coli*, или, предпочтительно, эукариотические клетки. В частности, клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского хомячка (CHO), в сочетании с вектором, таким как элемент главного промотора немедленно-раннего гена из цитомегаловируса человека, является эффективной экспрессионной системой для иммуноглобулинов (Foecking *et al.* (1986) "Powerful And Versatile Enhancer-Promoter Unit For Mammalian Expression Vectors," Gene 45:101-106; Cockett *et al.* (1990) "High Level Expression Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases In Chinese Hamster Ovary Cells Using Glutamine Synthetase Gene Amplification," Biotechnology 8:662-667). Ряд систем-хозяев векторов экспрессии может быть использован для экспрессии выделенных полипептидов, описываемых в настоящем документе. Такие экспрессионные системы-хозяева представляют среды-носители, с помощью которых кодирующие последовательности выделенных полипептидов, описываемых в настоящем документе, могут быть получены, а затем очищены, а также представляют клетки, которые при трансформации или

трансфекции подходящими нуклеотидными кодирующими последовательностями могут экспрессировать выделенные полипептиды, описываемые в настоящем документе *in situ*. Они включают в себя без ограничения микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli* и *B. subtilis*), трансформированные векторами экспрессии рекомбинантной бактериофаговой ДНК, плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащими кодирующие последовательности для выделенных полипептидов, описываемых в настоящем документе; дрожжи (например, *Saccharomyces pichia*), трансформированные рекомбинантными дрожжевыми векторами экспрессии, содержащими последовательности, кодирующие выделенные полипептиды, описываемые в настоящем документе; системы клеток насекомых, инфицированных рекомбинантными вирусными векторами экспрессии (например, бакуловирусными), содержащими последовательности, кодирующие выделенные полипептиды, описываемые в настоящем документе; системы растительных клеток, инфицированные рекомбинантными вирусными векторами экспрессии (например, вируса мозаики цветной капусты (CaMV) и вируса табачной мозаики (TMV) или трансформированные рекомбинантными плазмидными векторами экспрессии (например, T1 плазмидными), содержащими последовательности, кодирующие выделенные полипептиды, описываемые в настоящем документе; или системы клеток млекопитающих (например, клетки COS, CHO, ВНК, 293, 293Т, 3Т3, лимфатические клетки (см. патент США № 5807715), клетки Per C.6 (клетки сетчатки человека, разработанные Scusell), содержащие рекомбинантные экспрессионные конструкции, содержащие промоторы, полученные из генома клеток млекопитающих (например, металлотионеиновый промотор) или из вирусов млекопитающих (например, поздний промотор аденовируса; промотор 7.5К вируса осповакцины).

В бактериальных системах ряд векторов экспрессии может быть успешно подобран в зависимости от применения, предназначенного для полипептидов, подлежащих экспрессии. Например, если требуется получение большого количества такого белка, то для создания фармацевтических композиций полипептидов, описываемых в настоящем документе, могут быть желательны векторы, которые направлены на экспрессию высоких уровней продуктов белков слияния, которые легко очищаются. Такие векторы включают в себя без ограничения вектор экспрессии pUR278 *E. coli* (Rüther *et al.* (1983) "Easy Identification Of cDNA Clones," *EMBO J.* 2:1791-1794), в котором кодирующая последовательность может быть лигирована индивидуально в вектор в рамке с кодирующей областью *lac Z* так, что получается белок слияния; векторы pIN (Inouye *et al.* (1985) "Up-Promoter Mutations In The *lpp* Gene Of *Escherichia Coli*," *Nucleic Acids Res.* 13:3101-3110; Van Heeke *et al.* (1989) "Expression Of Human Asparagine Synthetase In *Escherichia Coli*," *J. Biol. Chem.* 24:5503-5509) и т.п. Векторы pGEX также могут быть

использованы для экспрессии чужеродных полипептидов в качестве белков слияния с глутатино-S-трансферазой (GST). Как правило, такие белки слияния являются растворимыми и могут быть легко очищены из лизированных клеток путем адсорбции и связывания с матричными глутатион-агарозными гранулами с последующим элюированием в присутствии свободного глутатиона.

Векторы pGEX разработаны с включением сайтов расщепления протеазой тромбином или фактором Ха так, что продукт клонированного целевого гена может быть высвобожден из фрагмента GST. В системе насекомых используют вирус множественного ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV) в качестве вектора для экспрессии чужеродных генов. Вирус растет в клетках *Spodoptera frugiperda*. Кодирующая последовательность может быть клонирована индивидуально во второстепенные области (например, ген полигедрина) вируса и помещена под контроль промотора AcNPV (например, полигедринового промотора).

В клетках-хозяевах млекопитающих может быть использован ряд основанных на вирусе экспрессионных систем. В случаях применения аденовируса в качестве вектора экспрессии, представляющая интерес кодирующая последовательность может быть лигирована в комплекс контроля транскрипции/трансляции аденовируса, например, поздний промотор и трехкомпонентная лидерная последовательность. Этот химерный ген затем может быть вставлен в геном аденовируса с помощью *in vitro* или *in vivo* рекомбинации. Вставка во второстепенную область вирусного генома (например, область E1 или E3) даст в результате рекомбинантный вирус, который является жизнеспособным и способным экспрессировать молекулу иммуноглобулина в инфицированных хозяевах (см., например, Logan *et al.* (1984) "Adenovirus Tripartite Leader Sequence Enhances Translation Of mRNAs Late After Infection," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659). Специфические сигналы инициации также могут быть необходимы для эффективной трансляции вставленных кодирующих антитела последовательностей. Эти сигналы включают в себя ATG иницирующий кодон и соседние последовательности. Кроме того, иницирующий кодон должен быть в фазе с рамкой считывания желательной кодирующей последовательности для обеспечения трансляции всей вставки. Эти экзогенные сигналы трансляционного контроля и иницирующие кодоны могут быть разного происхождения, как природными, так и синтетическими.

Эффективность экспрессии может быть усилена путем включения подходящих транскрипционных энхансерных элементов, терминаторов транскрипции и т.п. (см. Bitter *et al.* (1987) "Expression And Secretion Vectors For Yeast," Methods in Enzymol. 153:516-544). Кроме того, может быть выбран штамм клетки-хозяина, который модулирует экспрессию вставленных последовательностей или модифицирует и процессирует генный

продукт определенным желаемым образом. Такие модификации (например, гликозилирование) и процессирование (например, расщепление) белковых продуктов могут быть важны для функции белка. Например, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептиды, описываемые в настоящем документе, могут быть экспрессированы как один генный продукт (например, как одна полипептидная цепь, т.е. как полипротеиновый предшественник), требующий протеолитического расщепления нативными или рекомбинантными клеточными механизмами для формирования отдельных полипептидов, описываемых в настоящем документе.

Настоящее раскрытие, таким образом, охватывает конструирование последовательности нуклеиновой кислоты для кодирования молекулы полипротеинового предшественника, содержащей полипептиды, описываемые в настоящем документе, которая включает в себя кодирующие последовательности, способные управлять посттрансляционным расщеплением указанного полипротеинового предшественника. Посттрансляционное расщепление полипротеинового предшественника дает в результате полипептиды, описываемые в настоящем документе. Посттрансляционное расщепление молекулы предшественника, содержащей полипептиды, описываемые в настоящем документе, может происходить *in vivo* (т.е. в клетке-хозяине с помощью нативных или рекомбинантных клеточных систем/механизмов, например, фуриновое расщепление по соответствующему сайту) или может происходить *in vitro* (например, инкубация указанной полипептидной цепи в композиции, содержащей протеазы или пептидазы известной активности, и/или в композиции, содержащей условия или реагенты, которые, как известно, способствуют желаемому протеолитическому действию).

Очистка и модификация рекомбинантных белков хорошо известны в уровне техники, так что разработка полипротеинового предшественника может предусматривать ряд вариантов осуществления, без труда определяемых специалистом-практиком. Любые известные протеазы или пептидазы, известные в уровне техники, могут быть использованы для описанных модификаций молекулы предшественника, например, тромбин или фактор Ха (Nagai *et al.* (1985) "Oxygen Binding Properties Of Human Mutant Hemoglobins Synthesized In Escherichia Coli," Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82:7252-7255, and reviewed in Jenny *et al.* (2003), "A Critical Review Of The Methods For Cleavage Of Fusion Proteins With Thrombin And Factor Ха," Protein Expr. Purif. 31:1-11, каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте)), энтерокиназа (Collins-Racie *et al.* (1995) "Production Of Recombinant Bovine Enterokinase Catalytic Subunit In Escherichia Coli Using The Novel Secretory Fusion Partner DsbA," Biotechnology 13:982-987, тем самым включенная в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте)), фурин и AcTEV (Parks *et al.* (1994) "Release Of Proteins

And Peptides From Fusion Proteins Using A Recombinant Plant Virus Proteinase,” *Anal. Biochem.* 216:413-417, тем самым включенная в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте)), а также протеаза С3 вируса ящура.

Разные клетки-хозяева обладают характерными и специфическими механизмами для посттрансляционного процессирования и модификации белков и генных продуктов. Подходящие клеточные линии или системы хозяев могут быть выбраны для обеспечения корректной модификации и процессирования экспрессируемого чужеродного бека. С этой целью могут быть использованы эукариотические клетки-хозяева, которые обладают клеточным механизмом для правильного процессирования первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования генного продукта. Такие клетки-хозяева млекопитающих включают в себя без ограничения CHO, VERY, ВНК, HeLa, COS, MDCK, 293, 293Т, 3Т3, WI38, ВТ483, Hs578Т, НТВ2, ВТ20 и Т47D, CRL7030 и Hs578Bst.

Для длительного продуцирования с высоким выходом рекомбинантных белков предпочтительна стабильная экспрессия. Например, могут быть сконструированы клеточные линии, которые стабильно экспрессируют полипептиды, описываемые в настоящем документе. Вместо использования векторов экспрессии, которые содержат вирусные начала репликации, клетки-хозяева могут быть трансформированы ДНК, контролируемой соответствующими элементами контроля экспрессии (например, промотором, энхансером, последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и т.д.), и селективируемым маркером. После введения чужеродной ДНК можно обеспечить рост сконструированных клеток в течение 1-2 суток в обогащенной среде, а затем переключить на селективную среду. Селективируемый маркер в рекомбинантной плазмиде придает устойчивость к отбору и позволяет клеткам стабильно интегрировать плазмиду в свои хромосомы и расти с образованием очагов, которые, в свою очередь, могут быть клонированы и размножены в клеточные линии. Этот способ может преимущественно использоваться для конструирования клеточных линий, которые экспрессируют полипептиды, описываемые в настоящем документе. Такие сконструированные клеточные линии могут быть особенно полезны при скрининге и оценке полипептидов, которые прямо или косвенно взаимодействуют с полипептидами, описываемыми в настоящем документе.

Может быть использован ряд систем отбора, в том числе без ограничения гены тимидинкиназы вируса простого герпеса (Wigler *et al.* (1977) “Transfer Of Purified Herpes Virus Thymidine Kinase Gene To Cultured Mouse Cells,” *Cell* 11: 223-232), гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (Szybalska *et al.* (1992) “Use Of The HPRT Gene And The HAT Selection Technique In DNA-Mediated Transformation Of Mammalian Cells First Steps Toward Developing Hybridoma Techniques And Gene Therapy,” *Bioessays* 14: 495-500) и

аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy *et al.* (1980) "Isolation Of Transforming DNA: Cloning The Hamster *aprt* Gene," *Cell* 22: 817-823) могут быть использованы в клетках tk<sup>-</sup>, hgp<sup>rt</sup><sup>-</sup> или *aprt*<sup>-</sup>, соответственно. также может быть использована устойчивость к антиметаболитам в качестве основы отбора для следующих генов: dhfr, который обеспечивает устойчивость к метотрексату (Wigler *et al.* (1980) "Transformation Of Mammalian Cells With An Amplifiable Dominant-Acting Gene," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:3567-3570; O'Hare *et al.* (1981) "Transformation Of Mouse Fibroblasts To Methotrexate Resistance By A Recombinant Plasmid Expressing A Prokaryotic Dihydrofolate Reductase," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 1527-1531); gpt, который обеспечивает устойчивость к микофенольной кислоте (Mulligan *et al.* (1981) "Selection For Animal Cells That Express The *Escherichia coli* Gene Coding For Xanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 2072-2076); neo, который обеспечивает устойчивость к аминогликозидазе G-418 (Tolstoshev (1993) "Gene Therapy, Concepts, Current Trials And Future Directions," *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan (1993) "The Basic Science Of Gene Therapy," *Science* 260:926-932; и Morgan *et al.* (1993) "Human Gene Therapy," *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217), и hyg<sup>r</sup>, который обеспечивает устойчивость к гигромицину (Santerre *et al.* (1984) "Expression Of Prokaryotic Genes For Hygromycin B And G418 Resistance As Dominant-Selection Markers In Mouse L Cells," *Gene* 30:147-156). Способы, общеизвестные в области технологии рекомбинантной ДНК и которые могут быть использованы, описаны в Ausubel *et al.* (eds.), 1993, *Current Protocols in Molecular Biology*, JoHN Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY; и в Chapters 12 and 13, Dracopoli *et al.* (eds), 1994, *Current Protocols in Human Genetics*, JoHN Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin *et al.* (1981) "A New Dominant Hybrid Selective Marker For Higher Eukaryotic Cells," *J. Mol. Biol.* 150:1-14.

Уровни экспрессии полипептидов, описываемых в настоящем документе, могут быть повышены с помощью амплификации вектора (для обзора см. Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987). Если маркер в векторной системе, экспрессирующей полипептид, описываемый в настоящем документе, является амплифицируемым, то повышение уровня ингибитора, присутствующего в культуре клетки-хозяина, будет повышать число копий маркерного гена. Поскольку амплифицируемая область ассоциирована с нуклеотидной последовательностью полипептида, описываемого в настоящем документе, или с полипептидом, описываемым в настоящем документе, то продуцирование полипептида также повысится (Crouse *et al.* (1983) "Expression And Amplification Of Engineered Mouse Dihydrofolate Reductase Minigenes," *Mol. Cell. Biol.* 3:257-266).

После того как полипептид, описываемый в настоящем документе, был рекомбинантно экспрессирован, его можно очистить любым способом, известным в уровне техники для очистки полипептидов, полипротеинов или антител (например, аналогично схемам очистки антител на основе антигенной селективности), например, с помощью хроматографии (например, ионообменной, аффинной, особенно с помощью аффинности в отношении специфического антигена (необязательно после отбора белка А, если полипептид содержит Fc домен (или его часть)), и колоночной хроматографии с распределением по размерам), центрифугирования, дифференциальной растворимости, или с помощью любой другой стандартной методики для очистки полипептидов или антител. Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к клетке, содержащей нуклеиновую кислоту, описываемую в настоящем документе, или вектор, описываемый в настоящем документе.

Клетка может быть прокариотической или эукариотической клеткой. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка является клеткой млекопитающего. В настоящем документе описываются типичные виды клеток. Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к клетке, экспрессирующей модифицированные полипептиды ВоNT, описываемые в настоящем документе. Клетка может быть прокариотической или эукариотической клеткой. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления клетка является клеткой млекопитающего. В настоящем документе описываются типичные виды клеток. Клетка может служить для размножения нуклеиновой кислоты или для экспрессии нуклеиновой кислоты, или как для того, так и для другого. Такие клетки включают в себя без ограничения прокариотические клетки, в том числе без ограничения штаммы аэробных, микроаэрофильных, капнофильных, факультативных, анаэробных, грамотрицательных и грамположительных бактериальных клеток, таких как клетки, что pochodят от, например, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridia perfringens*, *Clostridia difficile*, *Caulobacter crescentus*, *Lactococcus lactis*, *Метилобактериум extorquens*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas fluorescens* и *Salmonella typhimurium*; и эукариотические клетки, в том числе без ограничения штаммы дрожжей, такие как, например, те, что pochodят от *Pichia pastoris*, *Pichia methanolica*, *Pichia angusta*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Yarrowia lipolytica*; клетки насекомых и клеточные линии, что pochodят от насекомых, такие как, например, те, что pochodят от *Spodoptera frugiperda*, *Trichoplusia ni*, *Drosophila melanogaster* и *Manduca sexta*; и клетки млекопитающих и клеточные линии, что pochodят от клеток млекопитающих, такие как, например, те, что pochodят от мыши, крысы, хомячка, свиньи, крупного рогатого скота, лошади, примата и человека. Клеточные линии могут быть получены из

Американской коллекции типовых культур, Европейской коллекции клеточных культур и Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур. Неограничивающие примеры специальных протоколов для отбора, создания и использования соответствующей клеточной линии описаны, например, в INSECT CELL CULTURE ENGINEERING (Mattheus F. A. Goosen *et al.* eds., Marcel Dekker, 1993); INSECT CELL CULTURES: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS (J. M. Vlak *et al.* eds., Kluwer Academic Publishers, 1996); Maureen A. Harrison & Ian F. Rae, GENERAL TECHNIQUES OF CELL CULTURE (Cambridge University Press, 1997); CELL AND TISSUE CULTURE: LABORATORY PROCEDURES (Alan Doyle *et al.* eds., John Wiley and Sons, 1998); R. Ian Freshney, CULTURE OF ANIMAL CELLS: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUE (Wiley-Liss, 4<sup>sup</sup>.th ed. 2000); ANIMAL CELL CULTURE: A PRACTICAL APPROACH (John R. W. Masters ed., Oxford University Press, 3<sup>sup</sup>.rd ed. 2000); MOLECULAR CLONING A LABORATORY MANUAL, *supra*, (2001); BASIC CELL CULTURE: A PRACTICAL APPROACH (John M. Davis, Oxford Press, 2<sup>sup</sup>.nd ed. 2002); и CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, *supra*, (2004).

Эти протоколы являются рутинными процедурами в пределах объема знаний специалиста в данной области и из приведенного в настоящем документе описания. Другие аспекты настоящего раскрытия относятся к способу получения полипептида, описываемого в настоящем документе, при этом способ предусматривает получение клетки, описываемой в настоящем документе, и экспрессию нуклеиновой кислоты, описываемой в настоящем документе, в указанной клетке. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления способ дополнительно предусматривает выделение и очистку полипептида, описываемого в настоящем документе.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления ботулинический нейротоксин может быть получен путем создания и выращивания культур *Clostridium botulinum* в ферментаторе, а затем сбора и очистки ферментируемой смеси в соответствии с известными процедурами. Все серотипы ботулинического токсина изначально синтезируют в виде неактивных одноцепочечных белков, которые должны быть расщеплены или разорваны протеазами, чтобы стать нейроактивными.

Штаммы бактерий, которые производят серотипы А и G ботулинического токсина, обладают эндогенными протеазами, и поэтому серотипы А и G могут быть извлечены из бактериальных культур преимущественно в их активной форме. Напротив, серотипы С, D и Е ботулинического токсина синтезируются непротеолитическими штаммами и, поэтому, обычно неактивны при извлечении из культуры. Серотипы В и F продуцируются как протеолитическими, так и непротеолитическими штаммами и, поэтому, могут быть извлечены в активной или неактивной форме. Протеолитические штаммы, которые



продуцируют, например, серотип ботулинического токсина типа В, могут расщеплять только часть продуцируемого токсина. В настоящем документе описывается получение полипептидов VoNT/X с использованием этих штаммов.

Точное отношение разорванных и неразорванных молекул зависит от продолжительности инкубации и температуры культуры. Поэтому, определенный процент препарата, например, ботулинического токсина типа В, может быть неактивным. Согласно одному варианту осуществления нейротоксин в соответствии с настоящим раскрытием находится в активном состоянии. Согласно одному варианту осуществления нейротоксин находится в неактивном состоянии. Согласно одному варианту осуществления предполагается комбинация активного и неактивного нейротоксина.

Один аспект настоящего раскрытия относится к новым способам получения VoNT с помощью *in vitro* реакции транспептидазы, которая лигирует два нетоксичных фрагмента VoNT. Такие способы предусматривают стадии: (i) получения первого фрагмента VoNT, содержащего легкую цепь (LC) и N-терминальный домен тяжелой цепи (H<sub>N</sub>), при этом первый фрагмент VoNT содержит C-терминальный мотив LPXTGG (SEQ ID NO: 60); (ii) получения второго фрагмента VoNT, содержащего C-терминальный домен тяжелой цепи (H<sub>C</sub>); при этом второй фрагмент VoNT содержит специфический сайт расщепления протеазой на своем N-конце; (iii) расщепления второго фрагмента VoNT специфической протеазой, при этом расщепление приводит к получению свободного глицинового остатка на N-конце; и (iv) введения в контакт первого фрагмента VoNT и второго фрагмента VoNT в присутствии транспептидазы, что тем самым лигирует первый фрагмент VoNT и второй фрагмент VoNT с образованием лигированного VoNT.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый фрагмент VoNT содержит полипептид X-LC-H<sub>N</sub>, описываемый в настоящем документе, слитый с C-терминальным мотивом LPXTGG (SEQ ID NO: 60) (например, SEQ ID NO: 45), или любые его варианты. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент VoNT содержит полипептид H<sub>C</sub>, описываемый в настоящем документе, или любые его варианты (например, SEQ ID NO: 46). Следует учитывать, что любые фрагменты VoNT или домены могут быть лигированы с использованием способов, описываемых в настоящем документе.

Способы, описываемые в настоящем документе, также могут быть применены для создания химерных VoNT. Например, первый фрагмент VoNT может быть из серотипа А, В, С, D, E, F, G или X VoNT. Подобным образом, второй фрагмент VoNT может быть из серотипа А, В, С, D, E, F, G или X VoNT. Специалист в данной области сможет определить комбинации, которые могут быть сделаны. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления химерные полипептиды VoNT, описываемые в настоящем

документе (например, BoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-A1-H<sub>C</sub>, BoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-B1-H<sub>C</sub> или BoNT/X-LC-H<sub>N</sub>-C1-H<sub>C</sub>) получают с использованием данного способа.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления транспептидаза представляет собой сортазу. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления сортаза происходит из *Staphylococcus aureus* (SrtA).

Другие системы пептидного лигирования, доступные в уровне техники, также могут быть применены для лигирования двух нетоксичных фрагментов BoNT. Например, опосредованная интеином реакция лигирования белков обеспечивает лигирование синтетического пептида или белка с N-терминальным цистеиновым остатком с C-концом бактериально экспрессируемого белка посредством нативной пептидной связи (Evans *et al.*, (1998) *Protein Sci.*7, 2256-2264, Dawson *et al.*,(1994)*Science*266, 776-779; Tam *et al.*, (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*92, 12485-12489, Muir *et al.*,(1998)*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*95,6705-6710; Severinov and Muir(1998)*J. Biol. Chem.*273, 16205-16209, полные содержания которых включены в настоящий документ посредством ссылки). Наборы являются коммерчески доступными (например, от New England Biolabs) для опосредованных интеином реакций лигирования белков.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый фрагмент BoNT дополнительно содержит аффинную метку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на N-конце. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на C-конце. В случае, когда аффинная метка сливается с C-концом первого фрагмента BoNT, транспептидаза расщепляет между T и G в мотиве LPXTGG (SEQ ID NO: 60) и удаляет аффинную метку перед лигированием первого фрагмента BoNT и второго фрагмента BoNT.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления второй фрагмент BoNT дополнительно содержит аффинную метку. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается с первым фрагментом BoNT на N-конце. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аффинная метка сливается со вторым фрагментом BoNT на C-конце. В случае, когда аффинная метка сливается с N-концом первого фрагмента BoNT, транспептидаза расщепляет по специфическому сайту расщепления протеазой и удаляет аффинную метку перед лигированием первого фрагмента BoNT и второго фрагмента BoNT транспептидазой.

Используемый в настоящем документе термин «аффинная метка» относится к полипептидной последовательности, которая может специфически связываться с веществом или фрагментом, например, метка, состоящая из шести гистидинов, специфически связывается с Ni<sup>2+</sup>. Аффинные метки могут быть добавлены к белкам для

облегчения их выделения. Аффинные метки, как правило, сливают с белками с помощью методик рекомбинантной ДНК, известных специалистам в данной области. Применение аффинных меток для облегчения выделения белков также хорошо известно в уровне техники. Подходящие аффинные метки, которые могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием, включают в себя без ограничения His6, GST, Avi, Strep, S, MBP, Sumo, FLAG, HA, Myc, SBP, E, калмодулин, Softag 1, Softag 3, TC, V5, VSV, Xpress, Halo и Fc.

Второй фрагмент VoNT подвергается расщеплению специфической протеазой на N-конце. расщепление сайта специфической протеазой дает в результате свободный глициновый остаток на N-конце второго фрагмента VoNT. Подходящая специфическая протеаза, которая может быть использована в соответствии с настоящим раскрытием, включает в себя без ограничения тромбин, TEV, PreScission, энтерокиназу и протеазу SUMO. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления специфическая протеаза представляет собой тромбин, а сайтом расщепления является LVPR|GS (SEQ ID NO: 50).

Полипептиды VoNT/X, описываемые в настоящем документе, обладают потенциалом для терапевтического применения. Например, VoNT/X может быть более эффективным по сравнению с другими серотипами VoNT. VoNT/X является более изменчивым и может быть более эффективным в широком диапазоне клеток благодаря его способности расщеплять больше субстратов, чем другие серотипы VoNT.

Таким образом, настоящее раскрытие также охватывает фармацевтические композиции, содержащие полипептиды VoNT/X или химерные молекулы в соответствии с настоящим раскрытием. Как также станет очевидно далее из настоящего раскрытия, фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим раскрытием может дополнительно содержать другие терапевтические средства, подходящие для конкретного заболевания, для лечения которого предназначена такая композиция. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления фармацевтически композиция в соответствии с настоящим раскрытием дополнительно содержит фармацевтически приемлемые носители.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или средуноситель, такие как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное средство, технологическая добавка (например, смазка, тальк, стеарат магния, кальция или цинка, или стеариновая кислота) или материал для инкапсулирования растворителя, участвующие в переносе или транспортировке полипептида от одного участка (например, участка доставки) организма в другой участок (например, орган, ткань или часть организма).

Фармацевтически приемлемый носитель является «приемлемым» в смысле совместимости с другими ингредиентами состава и безвредности для ткани субъекта (например, физиологически совместимый, стерильный, физиологический pH и т.д.). Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают в себя: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) смазочные средства, такие как стеарат магния, лаурилсульфат натрия и тальк; (8) вспомогательные средства, такие как масло какао и суппозиторные воски; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) многоатомные спирты, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль (PEG); (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) pH буферные растворы; (21) сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; (22) объемобразующие средства, такие как полипептиды и аминокислоты; (23) сывороточный компонент, такой как сывороточный альбумин, HDL и LDL; (22) C2-C12 спирты, такие как этанол; и (23) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. Увлажняющие средства, красители, средства высвобождения, покрытия, подсластители, ароматизаторы, отдушки, консервант и антиоксиданты также могут присутствовать в составе. Термины, такие как «вспомогательное средство», «носитель», «фармацевтически приемлемый носитель» или подобные используются в настоящем документе взаимозаменяемо. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT в соответствии с настоящим раскрытием в композиции вводят путем инъекции, посредством катетера, посредством суппозитория или посредством имплантата, при этом имплантат является пористым, непористым или гелеобразным материалом, в том числе мембраной, такой как силиконовая мембрана, или волокном.

Как правило, при введении композиции применяют материалы, которые не абсорбируют полипептид в соответствии с настоящим раскрытием. В соответствии с другими вариантами осуществления полипептиды BoNT в соответствии с настоящим раскрытием доставляют в системе контролируемого высвобождения. Такие композиции и способы введения представлены в публикации патентного документа США

№ 2007/0020295, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Согласно одному варианту осуществления может быть использован насос (см., например, Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533; Sefton, 1989, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201; Buchwald *et al.*, 1980, *Surgery* 88:507; Saudek *et al.*, 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574). В соответствии с другим вариантом осуществления могут быть использованы полимерные материалы (см., например *Medical Applications of Controlled Release* (Langer and Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance* (Smolen and Ball eds., Wiley, New York, 1984); Ranger and Peppas, 1983, *Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61. See also Levy *et al.*, 1985, *Science* 228:190; During *et al.*, 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard *et al.*, 1989, *J. Neurosurg.* 71:105). Другие системы контролируемого высвобождения обсуждаются, например, у Langer, *supra*.

Полипептиды BoNT в соответствии с настоящим раскрытием могут вводиться как фармацевтические композиции, содержащие терапевтически эффективное количество связывающего средства и один или несколько фармацевтически совместимых ингредиентов. В соответствии с типичными вариантами осуществления фармацевтическую композицию составляют согласно рутинным процедурам в виде фармацевтической композиции, приспособленной для внутривенного или подкожного введения субъекту, например, человеку.

Как правило, композиции для введения инъекцией представляют собой растворы в стерильном изотоническом водном буфере. При необходимости фармацевтическая композиция также может включать в себя солюбилизующее средство и местный анестетик, такой как лигнокаин, для облегчения боли на участке инъекции. Как правило, ингредиенты обеспечивают либо отдельно, либо смешанными вместе в единичной лекарственной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата, в герметично закупоренном контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного средства. Если фармацевтическая композиция подлежит введению инфузией, то она может быть распределена из инфузионной бутылки, содержащей стерильную воду или солевой раствор фармацевтического качества. При введении фармацевтической композиции инъекцией может быть предоставлена ампула со стерильными водой для инъекции или солевым раствором так, что ингредиенты могут быть смешаны до введения. Фармацевтическая композиция для системного введения может быть жидкостью, например, стерильным солевым раствором, раствором Рингера с лактатом или раствором Хэнка. Кроме того, фармацевтическая композиция может иметь твердые формы и повторно растворяться или суспендироваться непосредственно перед применением. Также предусматриваются лиофилизированные формы. Фармацевтическая композиция может быть содержаться в липидной частице или везикуле, такой как

липосома или микрокристалл, которая также подходит для парентерального введения. Частицы могут иметь любую подходящую структуру, такую как однослойная или многослойная, при условии, что в них содержатся композиции.

Полипептиды в соответствии с настоящим раскрытием могут быть захвачены в «стабилизированные плазмид-липидные частицы (SPLP)», содержащие фузогенный липид диолеоилфосфатидилэтаноламин (DOPE), низкие содержания (5-10 мол. %) катионного липида и стабилизированные полиэтиленгликолевым (PEG) покрытием (Zhang Y. P. *et al.*, *Gene Ther.* 1999, 6:1438-47). Положительно заряженные липиды, такие как N-[1-(2,3-диолеилокси)пропил]-N,N,N-триметил-амонийметилсульфат или «DOTAP», являются особенно предпочтительными для таких частиц и везикул. Получение таких липидных частиц хорошо известно. См., например, патенты США №№ 4880635; 4906477; 4911928; 4917951; 4920016 и 4921757. Фармацевтические композиции в соответствии с настоящим раскрытием могут быть введены или упакованы в виде единичной дозы, например.

Термин «единичная доза» при использовании в отношении фармацевтической композиции в соответствии с настоящим раскрытием относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичной дозировки для субъекта, при этом каждая единица содержит предварительно определенное количество активного материала, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в ассоциации с необходимым разбавителем; т.е. носителем или средой-носителем. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептиды BoNT/X, описываемые в настоящем документе, могут быть конъюгированы с терапевтическим фрагментом, например, антибиотиком. Методики для конъюгации таких терапевтических фрагментов с полипептидами, в том числе, например, Fc доменами, хорошо известны; см., например, Amon *et al.*, “Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, in *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), 1985, pp. 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom *et al.*, “Antibodies For Drug Delivery”, in *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), 1987, pp. 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review”, in *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), 1985, pp. 475-506); “Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.* (eds.), 1985, pp. 303-16, Academic Press; и Thorpe *et al.* (1982) “The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates,” *Immunol. Rev.*, 62:119-158. Кроме того, фармацевтическая композиция может быть представлена в виде фармацевтического набора, содержащего (а) контейнер, содержащий полипептид в соответствии с настоящим раскрытием в лиофилизированной форме и (б) второй контейнер, содержащий фармацевтически

приемлемый разбавитель (например, стерильную воду) для инъекции. Фармацевтически приемлемый разбавитель может быть использован для восстановления или разбавления лиофилизированного полипептида в соответствии с настоящим раскрытием. Необязательно вместе с таким контейнером(ами) может быть примечание в форме, предписанной государственным органом, регулирующим изготовление, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, при этом примечание отражает одобрение органом изготовления, применения или продажи для введения человеку. В другом аспекте представлено изделие, содержащее материалы, применимые для лечения заболеваний, описываемых выше. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изделие содержит контейнер и ярлык.

Подходящие контейнеры включают в себя, например, бутылки, флаконы, шприцы и пробирки для тестов. Контейнеры могут быть сформованы из ряда материалов, таких как стекло или пластик. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления контейнер содержит композицию, которая является эффективной для лечения заболевания, описываемого в настоящем документе, и может иметь стерильный доступ. Например, контейнер может быть пакетом внутривенного раствора или флаконом, имеющим пробку, прокалываемую гиподермической инъекционной иглой. Активное средство в композиции представляет собой выделенный полипептид в соответствии с настоящим раскрытием. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления ярлык на контейнере или вместе с контейнером указывает, что композицию применяют для лечения выбранного заболевания. Изделие дополнительно может содержать второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как забуференный фосфатом солевой раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы. Он дополнительно может включать в себя другие материалы, желательные с коммерческой и пользовательской точки зрения, в том числе другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и вкладыши в упаковку с инструкциями по применению.

Полипептиды BoNT (например, полипептид BoNT/X), химерные молекулы и фармацевтические композиции в соответствии с настоящим раскрытием могут быть использованы для лечения состояний, связанных с нежелательными нейрональными активностями. Таким образом, дополнительно в настоящем документе представлены способы лечения состояния, связанного с нежелательной нейрональной активностью, при этом способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества полипептида BoNT, химерной молекулы или фармацевтической композиции, описываемых в настоящем документе, с лечением тем самым состоянием. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептиды BoNT, химерные молекулы и фармацевтические композиции в соответствии с настоящим раскрытием контактируют с

одним или несколькими нейронами, проявляющими нежелательную нейрональную активность.

Состояния, которые, как правило, лечат нейротоксином (например, состояния скелетной мускулатуры, состояние гладкой мускулатуры, железистые состояния, нейромышечное нарушение, автономное нарушение, боль или эстетическое/косметическое состояние), связаны с нежелательной нейрональной активностью, как определяется специалистами. Введение осуществляют путем, при котором приводят в контакт эффективное количество композиции с нейронами, проявляющими нежелательную активность. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления состояние может быть связано с надактивными нейронами или железами. Конкретные состояния, предполагаемые для лечения способами, обсуждаемыми в настоящем документе, включают в себя без ограничения спастическую дисфонию, спастическую кривошею, дистонию мышц гортани, оромандибулярную дистонию, язычную дистонию, цервикальную дистонию, фокальную дистонию руки, блефароспазм, страбизм, гемифациальный спазм, нарушение века, церебральный паралич, фокальную спастичность и другие нарушения голоса, спастический колит, нейрогенный мочевого пузырь, анизмус, спастичность конечностей, тики, треморы, бруксизм, трещину заднего прохода, ахалазию, дисфагию и другие нарушения мышечного тонуса, а также другие нарушения, характеризующиеся произвольными движениями групп мышц, лакримацией, гипергидрозом, повышенным слюноотделением, избыточными желудочно-кишечными секретами, а также другими секреторными нарушениями, болью из-за мышечных спазмов, головной болью. Кроме того, настоящее раскрытие может быть использовано для лечения дерматологических или эстетических/косметических состояний, например, для уменьшения межбровной складки, уменьшения морщин кожи.

Одной уникальной особенностью полипептидов VoNT/X в соответствии с настоящим раскрытием является их способность расщеплять VAMP4, VAMP5 и Ykt6. Таким образом, далее в настоящем документе описывается терапевтическое применение полипептидов VoNT/X при состояниях, связанных с нежелательной секрецией активностей в широком диапазоне клеток. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления нежелательной секрецией является иммунная секреция. Состояния, связанные с нежелательной иммунной секрецией, включают в себя без ограничения воспаление, псориаз, аллергию, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз и алкогольное заболевание поджелудочной железы.

Настоящее раскрытие также может быть применено в лечении спортивных травм. Borodic в патенте США № 5053005 раскрывает способы лечения ювенильного искривления позвоночника, т.е. сколиоза, с использованием ботулина типа А. Раскрытие



Borodic включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте. Согласно одному варианту осуществления с использованием способов, практически подобных раскрываемому у Borodic, полипептид BoNT может быть введен млекопитающему, предпочтительно человеку, для лечения искривления позвоночника. В соответствии с подходящим вариантом осуществления вводят полипептид BoNT, содержащий ботулин типа E, слитый с мотивом на основе лейцина. Еще более предпочтительно, вводят полипептид BoNT, содержащий ботулин типа A-E с мотивом на основе лейцина, слитый с карбоксильным концом его легкой цепи, млекопитающему, предпочтительно человеку, для лечения искривления позвоночника.

Кроме того, полипептиды BoNT могут быть введены для лечения нейромышечных нарушений с использованием хорошо известных методик, которые обычно выполняют с ботулином типа A. Например, настоящее раскрытие может быть использовано для лечения боли, например, головной боли, боли из-за мышечных спазмов и различных форм воспалительной боли. Например, Aoki в патенте США № 5721215 и Aoki в патенте США № 6113915 раскрывает способы применения ботулинического токсина типа A для лечения боли. Раскрытия этих двух патентов включены в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Нарушения автономной нервной системы также можно лечить модифицированным нейротоксином. Например, нарушение работы желез является нарушением автономной нервной системы. Нарушение работы желез включает в себя избыточное потовыделение и повышенное слюноотделение. Нарушение респираторной функции является другим примером нарушения автономной нервной системы. Нарушение респираторной функции включает в себя хроническое обструктивное заболевание легких и АСТМУ. Sanders *et al.* раскрывают способы лечения автономной нервной системы; например, лечение нарушений автономной нервной системы, таких как избыточное потовыделение, повышенное слюноотделение, астма и т.д., с использованием встречающихся в природе ботулинических токсинов. Раскрытие Sander *et al.* включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Согласно одному варианту осуществления могут быть использованы способы, практически подобные способу Sanders *et al.*, но с использованием полипептида BoNT, для лечения нарушений автономной нервной системы, таких как обсуждаемые выше. Например, полипептид BoNT может быть локально внесен в назальную полость млекопитающего в количестве, достаточном для образования холинергических нейронов автономной нервной системы, которые контролируют секрецию слизи в назальной полости. Боль, которую можно лечить модифицированным нейротоксином, включает в себя боль, вызванную напряжением мышцы или спазмом, или боль, которая не связана с

мышечным спазмом. Например, Binder в патенте США № 5714468 раскрывает, что головную боль, вызванную сосудистым нарушением, напряжением мышцы, невралгией и нейропатией, можно лечить встречающимся в природе ботулиническим токсином, например, ботулином типа А. Раскрытие Binder включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Согласно одному варианту осуществления могут быть использованы способы, практически подобные способу Binder, но с использованием полипептида BoNT, описываемого в настоящем документе, для лечения головной боли, особенно вызванной сосудистым нарушением, напряжением мышцы, невралгией и нейропатией. Боль, вызванную мышечным спазмом, также можно лечить введением полипептида BoNT, описываемого в настоящем документе. Например, ботулин типа Е, слитый с мотивом на основе лейцина, предпочтительно на карбоксильном конце легкой цепи ботулина типа Е, может быть введен внутримышечно в место расположения боли/спазма для облегчения боли. Кроме того, модифицированный нейротоксин может быть введен млекопитающему для лечения боли, которая не связана с мышечным нарушением, таким как спазм.

В соответствии с одним широким вариантом осуществления способы в соответствии с настоящим раскрытием лечения не связанной со спазмом боли включают в себя центральное введение или периферическое введение полипептида BoNT. Например, Foster *et al.* в патенте США № 5989545 раскрывают, что ботулинический токсин, конъюгированный с нацеливающимся фрагментом, может быть введен центрально (интратекально) для облегчения боли. Раскрытие Foster *et al.* включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Согласно одному варианту осуществления могут быть использованы способы, практически подобные способу Foster *et al.*, но с использованием композиций, описываемых в настоящем документе, для лечения боли. Болью, подлежащей лечению, может быть острая боль или хроническая боль. Острая или хроническая боль, которая не связана с мышечным спазмом, также может быть облегчена локальным, периферическим введением модифицированного нейротоксина в место расположения фактической или мнимой боли у млекопитающего.

Согласно одному варианту осуществления полипептид BoNT вводят подкожно в место расположения боли или рядом с ним, например, в порез или рядом с ним. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления модифицированный нейротоксин вводят внутримышечно в место расположения боли или рядом с ним, например, в место расположения гематомы или рядом с ним, у млекопитающего. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид BoNT вводят инъекцией непосредственно в сустав млекопитающего для лечения или облегчения боли, вызванной

артритными состояниями. Также часто повторяющаяся инъекция или инфузия модифицированного нейротоксина в место расположения периферической боли попадает в объем настоящего раскрытия. Пути введения для таких способов известны в уровне техники, и специалист в данной области сможет легко адаптировать их для способов, описываемых в настоящем документе (см., например, *Harrison's Principles of Internal Medicine* (1998), edited by Anthony Fauci *et al.*, 14<sup>sup</sup>.th edition, published by McGraw Hill).

В качестве неограничивающего примера, лечение нейромышечного нарушения может предусматривать стадию локального введения эффективного количества молекулы в мышцу или группу мышц, лечение автономного нарушения может предусматривать стадию локального введения эффективного количества молекулы в железу или железы, а лечение боли может предусматривать стадию введения эффективного количества молекулы в участок боли. Кроме того, лечение боли может предусматривать стадию введения эффективного количества модифицированного нейротоксина в спинной мозг.

Используемый в настоящем документе термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству каждого терапевтического средства в соответствии с настоящим раскрытием, необходимому для обеспечения терапевтического эффекта у субъекта, либо отдельно, либо в комбинации с одним или несколькими другими терапевтическими средствами. Эффективные количества, как понятно специалистам в данной области, варьируют в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, индивидуальных параметров субъекта, в том числе от возраста, физического состояния, размера, пола и массы, длительности лечения, природы параллельной терапии (если имеется), конкретного пути введения и подобных факторов в пределах знаний и опыта специалиста здравоохранения. Данные факторы хорошо известны специалистам в данной области и могут быть установлены не более чем рутинным экспериментом. Как правило, предпочтительно, чтобы использовалась максимальная доза отдельных компонентов или их комбинаций, то есть самая высокая безопасная доза в соответствии с обоснованным медицинским заключением. Специалистам в данной области должно быть понятно, однако, что субъект может требовать более низкую дозу или переносимую дозу по медицинским причинам, психологическим причинам или по практически любым другим причинам. Эмпирические соображения, такие как период полужизни, как правило, будут способствовать определению дозировки. Например, терапевтические средства, которые совместимы с иммунной системой человека, такие как полипептиды, содержащие области из гуманизированных антител или полностью человеческих антител, могут использоваться для продления периода полужизни полипептида и для предотвращения атаки иммунной системы хозяина на полипептид.

Частота введения может быть определена и подобрана в ходе курса терапии и, как правило, но не обязательно, основана на лечении, и/или подавлении, и/или ослаблении, и/или задержке заболевания. В качестве альтернативы, могут быть подходящими составы с замедленным непрерывным высвобождением полипептида. В уровне техники известны различные составы и устройства для достижения замедленного высвобождения. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение дозы осуществляют ежедневно, через сутки, каждые трое суток, каждые четверо суток, каждые пять суток или каждые шесть суток. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления частота введения дозы составляет один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель или каждые 10 недель; или один раз в месяц, каждые 2 месяца, или каждые 3 месяца, или реже. Прогресс данной терапии легко контролируется традиционными методиками и анализами.

Режим введения дозы (в том числе применяемого полипептида) может варьировать со временем. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления для взрослого субъекта с нормальной массой могут быть введены дозы, варьирующие от приблизительно 0,01 до 1000 мг/кг. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления доза составляет от 1 до 200 мг. Конкретный режим введения дозы, т.е. доза, время и повторяемость, будет зависеть от конкретного субъекта и истории болезни этого субъекта, а также от свойств полипептида (таких как период полужизни полипептида и другие факторы, хорошо известные в уровне техники).

Для целей настоящего раскрытия соответствующая дозировка терапевтического средства, описываемого в настоящем документе, будет зависеть от конкретного используемого средства (или его композиций), состава и пути введения, типа и тяжести заболевания, введения полипептида для превентивных или терапевтических целей, предшествующей терапии, истории болезни субъекта и ответа на антагонист, а также от мнения лечащего врача. Как правило, обычно врач будет вводить полипептид до тех пор, пока не будет достигнута дозировка, которая обеспечит желаемый результат.

Введение одного или нескольких полипептидов может быть непрерывным или прерывистым в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, терапевтической или профилактической целей введения, а также от других факторов, известных специалистам в данной области. Введение полипептида может быть, по сути, непрерывным на протяжении предварительно выбранного периода времени или может осуществляться сериями разделенной дозы, например, либо до, в ходе, либо после развития заболевания. Используемый в настоящем документе термин «лечение»

относится к применению или введению полипептида или композиции, включающей в себя полипептид, субъекту при необходимости этого.

Термин «субъект при необходимости этого», относится к индивидууму, который имеет заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию, требующий лечения, исцеления, облегчения, ослабления, изменения, излечения, устранения, улучшения или влияния на ход заболевания, симптома заболевания или предрасположенности к заболеванию. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект имеет CDI. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект имеет рак. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект представляет собой млекопитающее. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект представляет собой отличного от человека примата. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъект представляет собой человека. Облегчение заболевания включает в себя задержку развития или прогрессирования заболевания, или уменьшение тяжести заболевания. Облегчение заболевания не требует обязательных результатов лечения.

Используемый в настоящем документе термин «задержка» развития заболевания означает отсрочивание, торможение, замедление, откладывания, стабилизацию и/или отдаление прогрессирования заболевания. Такая задержка может иметь различную продолжительность по времени в зависимости от истории заболевания и/или индивидуумов, подлежащих лечению. Способ, который «замедляет» или облегчает развитие заболевания или замедляет проявление заболевания, представляет собой способ, который снижает вероятность развития одного или нескольких симптомов заболевания в данной временной рамке и/или снижает степень симптомов в данной временной рамке по сравнению ситуацией без использования способа. Такие сравнения обычно основаны на клинических исследованиях с использованием количества субъектов, достаточных для получения статистически значимого результата.

Термин «развитие» или «прогрессирование» заболевания означает начальные проявления и/или последующее прогрессирование заболевания. Развитие заболевания может быть выявлено и оценено с использованием стандартных клинических методик, хорошо известных в уровне техники. Однако развитие также относится к прогрессированию, которое может быть невыявляемым. Для целей настоящего раскрытия развитие или прогрессирование относится к биологическому курсу симптомов. Термин «развитие» включает в себя возникновение, рецидив и начало.

Используемый в настоящем документе термин «начало» или «возникновение» заболевания включает в себя изначальное начало и/или рецидив. Традиционные способы, известные специалистам в области медицины, могут быть использованы для введения

выделенного полипептида или фармацевтической композиции субъекту в зависимости от типа заболевания, подлежащего лечению, или участка заболевания. Данная композиция также может быть введена другими традиционными путями, например, введена перорально, парентерально, ингаляционным распылением, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или с помощью имплантируемого резервуара.

Используемый в настоящем документе термин «парентеральный» включает в себя методики подкожной, внутрикожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, внутриартериальной, внутрисиновиальной, интратеральной, интратекальной, внутриочаговой и интракраниальной инъекции или инфузии. Кроме того, это может предусматривать введение субъекту с помощью путей инъекционного депо, например, с использованием 1-, 3- или 6-месячного инъекционного депо или биоразлагаемых материалов и способов.

Используемый в настоящем документе термин «субъект» относится к человеку или животному. Обычно животное представляет собой беспозвоночное животное, такое как примат, грызун, домашнее животное или животное-компаньон. Приматы включают в себя шимпанзе, яванских макаков, обезьян-пауков и макаков, например, резус. Грызуны включают в себя мышей, крыс, сурков, хорьков, кроликов и хомяков. Домашние и животные-компаньоны включают в себя коров, лошадей, свиней, оленей, бизона, буйвола, виды кошек, например, домашнюю кошку, виды собак, например, собаку, лису, волка, виды птиц, например, цыпленка, эму, страуса, и рыбу, например, форель, сома и лосося. Пациент или субъект включает в себя любую подгруппу вышеупомянутых, например, всех из упомянутых выше, за исключением одной или нескольких групп или одного или нескольких видов, таких как люди, приматы или грызуны. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аспектов, описываемых в настоящем документе, субъектом является млекопитающее, например, примат, например, человек.

Термины «пациент» и «субъект» используются в настоящем документе взаимозаменяемо. Субъект может быть мужского пола или женского пола. Субъект может быть полностью развитым субъектом (например, взрослым) или субъектом, находящимся в процессе развития (например, ребенком, младенцем или зародышем). Предпочтительно, субъект является млекопитающим. Млекопитающее может представлять собой человека, отличного от человека примата, мышь, крысу, собаку, кошку, лошадь или корову без ограничения данными примерами. Млекопитающие, отличные от людей, могут успешно использоваться в качестве субъектов, которые представляют животные модели нарушений, связанных с нежелательной нейрональной активностью. Кроме того, способы и композиции, описываемые в настоящем документе, могут быть использованы для лечения домашних животных и/или животных-компаньонов.

Следующие примеры предназначены для иллюстрации некоторых вариантов осуществления, а не для ограничения. Полное содержание всех упомянутых документов (в том числе литературных ссылок, выданных патентов, опубликованных заявок на выдачу патентов и находящихся на рассмотрении заявок на выдачу патентов), цитированных в настоящей заявке, тем самым включено в настоящий документ посредством ссылки.

### Примеры

*Таблица 1. Последовательности полипептидов BoNT*

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
1	BoNT/X WT	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF LQGVIKVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSNAGALTLSDNETIA YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV QGR LGNFKLDTAEFEKLNILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGGQLLESSYFEKIES NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS YPCSLNCGIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV QDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTT S DINIGSDIELADGRENKA I KIGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS IWNT EVDDPIIFRLKNNRDTQAF TLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY

		<p>NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWWVYSSAW  YFQNYENLNLKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
2	BoNT/X WT LC-H <sub>N</sub>	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNCGIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI</p>
3	BoNT/X WT LC	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKN</p>
4	BoNT/X	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK</p>



	WT C461S	<p>NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDFIKKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTT  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTFEIIQRQ  EKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
5	BoNT/X WT C461A	<p>MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKE</p>

		<p>RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y<u>P</u>ASLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTT S  DINIGSDIELADGRENKA I KIGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTDFEIIQRQ  EKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
6	BoNT/X WT C467S	<p>MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPI MEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELIS SSIPLPLVSN GALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDES YGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKI IETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y<u>P</u>CSLLNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL</p>

		<p>VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTT  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSAATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
7	BoNT/X WT C467A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGAIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTT  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSAATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD</p>

		<p>HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNLKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
8	BoNT/X WT C1240S	<p>MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKNLILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNCGIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYSQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNLKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>

9	BoNT/X WT C1240S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDES YGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIEETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKA I KIGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNR SKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRY GALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYAQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNL RKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
10	BoNT/X WT C461S/C1 240A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDES YGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIEETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV</p>

		<p>QGR LGNFKLD TAEFEK KLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH YLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y P S S L L N G C I E V E N K D L F L I S N K D S L N D I N L S E E K I K P E T T V F F K D  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTT S  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNT EVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYAQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
11	BoNT/X WT C461S/C1 240S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYL NTPSEKDEF  LQGVIKVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSNGALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIE TAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLD TAEFEK KLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH YLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y P S S L L N G C I E V E N K D L F L I S N K D S L N D I N L S E E K I K P E T T V F F K D  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS</p>

		<p>DTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKAIAIKGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYSQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNLRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
12	BoNT/X WT C461A/C1 240S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELLELISSIPPLPLVSNAGALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIEETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPA<u>S</u>LLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKAIAIKGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI</p>

		<p>SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNY<u>S</u>QLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH<sub>Y</sub>RDWVYSSAW  YFQNYENLNLRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
13	BoNT/X WT C461A/C1 240A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIKVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNGALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKI<sub>I</sub>ETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH<sub>Y</sub>LKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPA<u>S</u>LLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEP<sub>I</sub>RNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSD<sub>E</sub>TGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA<sub>I</sub>KMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLET<sub>K</sub>KTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKA<sub>I</sub>KIKGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNY<u>A</u>QLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH<sub>Y</sub>RDWVYSSAW</p>



		YFQNYENLNLRKHTKTNWYFIPKDEGWDED
14	BoNT/X WT C467S/C1 240A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEF EKLN TILFVLNESNLAQRFSILVRKH YLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGGQLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSD ETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNA LDKRDQKWA EVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAF TLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRY GALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYAQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNLRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
15	BoNT/X WT C467S/C1 240S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID</p>

		<p>SKAISSLIKKIIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSD ETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEV LNLGAEDGKIKDLSGTT S  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAF TLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRY GALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYSQLKTPYNIFHKSGLMSTETS KPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
16	BoNT/X WT C467A/C1 240S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPI MEADAIYNPNYL NTPSEKDEF  LQGVIKVLERIKSKPEGEKLELIS SSIPLPLVSN GALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNK FVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGAIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS</p>

		<p>PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDF SDET GKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQK WAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTS  DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRF SATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAF TLLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRY GALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTT HDLTTDFEIIQRQ  EKYRNYSQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
17	BoNT/X WT C467A/C1 240A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPI MEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIKVLERIKSKPEGEKLELIS SSIPLPLVSNGALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEFEKLN TILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQ GQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGAIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEEL YEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDF SDET GKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQK WAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLSGTTS</p>

		<p>DINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSATDNFSI  SFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRD  HNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISS  IWNTEVDDPIIFRLKNNRDTQAFULLDQFSIYRKELNQNEVVKLY  NYYFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSF  GYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNK  DFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTTDFEIIQRQ  EKYRNY<u>A</u>QLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDIRDWVYSSAW  YFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
18	BoNT/X WT LC-H <sub>N</sub> C461A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y<u>P</u>ASLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI</p>
19	BoNT/X WT LC-H <sub>N</sub> C461S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV</p>

		<p>QGR LGNFKLDTA EF EK KLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  Y<u>P</u>SSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMIPKV  QDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI</p>
20	BoNT/X WT LC-H <sub>N</sub> C467A	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSN GALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKI IETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGR LGNFKLDTA EF EK KLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNGA I E VENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMIPKV  QDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI</p>
21	BoNT/X WT LC-H <sub>N</sub>	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSN GALTLSDNETIA</p>

	C467S	<p>YQENNNIVSNLQANLVIYGGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGGQLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI</p>
22	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - A1-Hc	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNGALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGGQLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI</p>

		<p>AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIINTSILNLRYESNHLIDLRSYASK  INIGSKVNFDPIDKNQIQLFNLESSKIEVILKNAIVYNSMYENFSTS  FWIRIPKYFNSISLNNEYTIINCMENNSGWKVSLSNYGEIWTLQDT  QEIKQRVVFYKYSQMINISDYINRWIFVTITNNRNLNSKIYINGRLI  DQKPISNLGNIHASNNIMFKLDGCRDTHRYIWIKYFNLFDKELNE  KEIKDLYDNQSNKDFWGDYLYQYDKPYYMLNLYDPNKYV  DVNNVGIRGYMYLKGPRGSMVTTNIYLNSSLYRGTKFIIKKYAS  GNKDNIVRNDRVYINVVVKNKEYRLATNASQAGVEKILSALEI  PDVGNLSQVVMKSKNDQGITNKCKMNLQDNNGNDIGFIGFHQ  FNNAIKLVASNWYNRQIERSSRTLGCSEWEIFVDDGWGERPL</p>
23	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - B1-Hc	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLPFDESYGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPCSLNCGIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPINSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VBLEVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRAHTYKALSRQANAIAKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDFKIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI  AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIILNNIILNLRKDNLLIDLSGYGA  KVEVYDGVELNDKNQFKLTSSANSKIRVTQNQNIIFNSVFLDFSV  SFWIRIPKYKNDGIQNYIHNEYTIINCMKNNSGWKISIRGNRIWT  LIDINGKTKSVFFEYNIRELISEYINRWFFVTITNNLNAKIYINGK  LESNTDIKDIREVIANGEIIFKLDGDIDRTQFIWMKYFSIFNTELSQ  SNIERYKIQSYSEYLKDFWGNPLMYNKEYYMFNAGNKNSYIK  LKKDSPVGEILTRSKYNQNSKYINYRDLYIGEKFIIRRKSNSQSIN</p>

		DDIVRKEDYIYLDFFNLNQEWRVYTYKYFKKEEEKLFLAPISDS DEFYNTIQIKEYDEQPTYSCQLLFFKKDEESTDEIGLIGIHRFYESGI VFEEYKDYFCISKWYLKEVKRKPYNLKLGCNWQFIPKDEGWTE
24	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - C1-Hc	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNGALTLSDNETIA YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS EVSFSPPFYLPFDESYGNYRSLVNIIVNKFVKREFAPDPASTLMHE LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV QGRLGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYLE RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGGQLLESSYFEKIES NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS YPCSLNNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL VGLEVIGGELAREQVEAIVNNA LDKRDQKWA EVYNITKAQWW GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKE MIPKV QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIINDSKILSLQNRKNTLVDTSGYN AEVSEEGDVQLNPIFPDFKLGSSGEDRGK VIVTQENIVYNSMY ESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDSVKNNSGWSIGIISNFLVFTLK QNEDESEQSINFSYDISNNA PGYNK WFFVTVTNNMMGNMKIYIN GKLIDTIKVKELTGINF SKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINMWIRD FYIFAKELDGKDINILFNSLQYTNVVKDYWGNDLRYNKEYY MV NIDYLNRYMYANSRQIVFNTRRNNNDNFNEGYKIIKRIRGNTNDT RVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHSTEDIYAIGL REQTKDINDNIIFQIQPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGICSIGTY RFRLGGDWYRHNYLVPTVKQGN YASLLESTSTHWGFVPVSE
25	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - A1-Hc C461S	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDEF LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNGALTLSDNETIA YQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS



		<p> EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGGQLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD  KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT  IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS  PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFDETGKIDVIDKSS  DTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL  VGLEVIGGELAREQVEAIVNNAIDKRDQKWADEVYNITKAQWW  GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGNIDDK  AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTTEKFMIKLSNSYLTKEMIPKV  QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRKRKVSIRLNKNI  AFDINDIPSEFDDLINQYKNEIINTSILNLRYESNHLIDLRSYASK  INIGSKVNFDPIDKNQIQLFNLESSKIEVILKNAIVYNSMYENFSTS  FWIRIPKYFNSISLNNEYTIINCMENNSGWKVSLSNYGEIWTLQDT  QEIKQRVVFYKYSQMINISDYINRWIFVTITNNRLNNSKIYINGRLI  DQKPISNLGNIHASNNIMFKLDGCRDTHRYIWIYFNLFDKELNE  KEIKDLYDNQSNISGILKDFWGDYLQYDKPYYMLNLYDPNKYV  DVNNVGIRGYMYLKGPRGSVMTTNIYLNSSLYRGTKFIIKKYAS  GNKDNIVRNNDRVYINVVVKNKEYRLATNASQAGVEKILSALEI  PDVGNLSQVVVMKSKNDQGITNKCKMNLQDNNGNDIGFIGFHQ  FNNAIKLVASNWYNRQIERSRRTLGCSEWEPVDDGWGERPL </p>
26	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - B1-Hc C461S	<p> MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIEADAIYNPNYLNTPSEKDEF  LQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETIA  YQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTLS  EVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIIVNKFVKREFAPDPASTLMHE  LVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGID  SKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIPV  QGRLGNFKLDTAEFEKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHLYKE  RPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGGQLESSEYFEKIES  NALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTNVS  YPSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFFKD </p>

		<p>KLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEIKT          IYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKVYS          PFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVIDKSS          DTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEFTIPIL          VGLEVIGGELAREQVEAIVNNA LDKRDQKWA EVYNITKAQWW          GTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGNIDDK          AKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMIPKV          QDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRLNKNI          AFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIILNNIILNLR YKDNNLIDLSGYGA          KVEVYDGVVELNDKNQFKLTSSANSKIRVTQNQNIIFNSVFLDFSV          SFWIRIPKYKNDGIQNYIHNEYTIINCMKNNSGWKISIRGNRIIWT          LIDINGKTKSVFFEYNIREDISEYINRWFFVTITNNLNNAKIYINGK          LESNTDIKDIREVIANGEIIFKLDGDIDRTQFIWMKYFSIFNTELSQ          SNIERYKIQSYSEYLKDFWGNPLMYNKEYYMFNAGNKNSYIK          LKKDSPVGEILTRSKYNQNSKYINYRDL YIGEKFIIRKSNSSQIN          DDIVRKEDYIYLDFFNLNQEWRVYTYKYFKKEEEKLFLAPISDS          DEFYNTIQIKEYDEQPTYSCQLLFFKDEESTDEIGLIGIHRFYESGI          VFEEYKDYFCISKWYLKEVKRKPYNLKLGCNWQFIPKDEGWTE</p>
<p>27</p>	<p>BoNT/X-          LC-H<sub>N</sub>-C1-          Hc C461S</p>	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK          NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNT PSEKDE          FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLV SNGALTLSDNETI          AYQENNNIVSNLQANLVIYGPDPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL          SEVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMH          ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI          DSKAISSLIKKI IETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP          VQGRLGNFKLDTAEFEKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL          KERPIDIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGLLESSYFEKI          ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNDLEDKKTTSKTN          VSYPSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF          KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI          KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV          YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVID          KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF          TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNA LDKRDQKWA EVYNITKA          QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGN          DDKAKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI</p>

		<p>PKVQDNLKNFDLETKKTLDKFIEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIINDSKILSLQNRKNTLVDT  SYNAEVSEEGDVQLNPIPFDFKLGSSGEDRGKVIVTQENIVY  NSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDSVKNNSGWSIGIISNFL  VFTLKQNEDESEQSINFSDISNAPGYNKWFFVTVTNNMMGMN  KIYINGKLIDTIKVKELTGINF SKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINM  WIRDFYIFAKELDGKDINILFNSLQYTNVVKDYWGNDLRYNKE  YYMVNIDYLNRYMYANSRQIVFNTRRNNDFNEGYKIIKRIRG  NTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHSTEDI  YAIGLREQTKDINDNIIFQIQPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGI  CSIGTYRFRLGGDWYRHNYLVPTVKQGNYSALLESTSTHWGFV  PVSE</p>
28	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> -A1- Hc C467S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE  FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSNAGALTLSDNETI  AYQENNNIVSNLQANLVYGGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL  SEVSFSPFYLKPFDES YGNYSRLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMH  ELVHVTHNLYGISNRNFYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI  DSKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP  VQGRLGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL  KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKI  ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTN  VSYPCSLNNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF  KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI  KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV  YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVID  KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF  TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKA  QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGN  DDKAKIKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI  PKVQDNLKNFDLETKKTLDKFIEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIINTSILNLRYESNHLIDLSR  YASKINIGSKVNFDPIDKNQIQLFNLESSKIEVILKNAIVYNSMYE  NFSTSFWIRIPKYFN SISLNNEYTIINCMENNSGWKVS LNYGEIHW  TLQDTQEIKQRVVFKY SQMINISDYINRWIFVTITNNRLNNSKIYI  NGRLIDQKPISNLGNIHASNNIMFKLDGCRDTHRYIWI KYFNLF</p>

		<p>KELNEKEIKDLYDNQSN<sup>S</sup>GILKDFWGDY<sup>L</sup>LQYDKPYYMLNLYDP  NKYVDVNNV<sup>G</sup>IRGYMYLK<sup>G</sup>PRGSVMTTNIYLN<sup>S</sup>SLYRGT<sup>K</sup>FKFIK  KYASGNKDNIVR<sup>N</sup>NDRVYINVV<sup>V</sup>KNKEYRLATNASQAGVEKIL  SALEIPDVGNLSQVV<sup>V</sup>VMKSKNDQGITNKCKMNLQDNNGNDIGF  IGFHQFN<sup>N</sup>IAKLVASN<sup>W</sup>YNRQIERSSRTLGC<sup>S</sup>WEFIPVDDGWGE  RPL</p>
29	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> -B1- Hc C467S	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE  FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELIS<sup>S</sup>SIPLPLVSN<sup>G</sup>ALTLS<sup>D</sup>NETI  AYQENNNIVSNLQANLVIYGP<sup>G</sup>PIANNATYGLYSTPISNGEGTL  SEVSFSPFYLKPFDES<sup>Y</sup>GNYS<sup>L</sup>VNIVNKFVKREFAPDPASTLMH  ELVHVTHNLYGISNRNFY<sup>N</sup>FDTGKIETS<sup>R</sup>QQNSLIFEELLTFGGI  DSKAISSLIKKI<sup>I</sup>ETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP  VQGRLGNFKLD<sup>T</sup>A<sup>E</sup>FEK<sup>K</sup>LNTILFVLNESNLAQRF<sup>S</sup>SILVRKH<sup>Y</sup>L  KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQ<sup>L</sup>LESSYFEKI  ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN  VSYPCSL<sup>L</sup>NGS<sup>I</sup>EVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF  KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEP<sup>I</sup>RNSLFEI  KTIYVDKLTTFHFLEAQ<sup>N</sup>IDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV  YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQW<sup>L</sup>RSIVKDFSD<sup>E</sup>TGKIDVID  KSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF  TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVN<sup>N</sup>ALDKRDQKWA<sup>E</sup>VYNITKA  QWWGTIHLQIN<sup>T</sup>RLAHTYKALSRQANA<sup>I</sup>KMNMEFQLANYK<sup>G</sup>NI  DDKAKIKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI  PKVQDNLKNFDLET<sup>K</sup>TLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI<sup>L</sup>NNIILN<sup>L</sup>RYKDNNLIDLS  GYGAKVEVYDGV<sup>E</sup>LN<sup>D</sup>KNQFKLTSSANSKIRVTQNQNIIFNSVF  LDFSVSFWIRIPKYKNDGIQNYIHNEYTI<sup>N</sup>CMKNNSG<sup>W</sup>KISIRG  NRIIWTLIDINGKTKSVFFEYNI<sup>R</sup>E<sup>D</sup>ISEYINR<sup>W</sup>FFVTITNNL<sup>N</sup>NA  KIYINGKLESNTDIKDIREVIANG<sup>E</sup>IIFKLDGDIDRTQFIWMKYFSI  FNTELSQSNIERYKIQSYSEYLKDFWGNPLMYNKEYYMFNAG  NKNSYIKLKKD<sup>S</sup>PVGEILTRSKYNQNSKYIN<sup>Y</sup>RDLYIGE<sup>K</sup>FIIRR  KSNSQSINDDIVRKEDYIYLDFFNLNQEWRVYTYKYFKKEE<sup>E</sup>KL  FLAPISDSDEFYNTIQIKEYDEQPTYS<sup>C</sup>QLL<sup>F</sup>KKDEESTDEIGLIGI  HRFYESGIVFEEYKDYFCISKWYLKEVKRKPYNLKLGCN<sup>W</sup>QFIP</p>

		KDEGWTE
30	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> -C1- Hc C467S	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETI AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL SEVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFKVREFAPDPASTLMH ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI DSKAISSELIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP VQGRLGNFKLDTAEFEKKNLILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGQLLESSYFEKI ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN VSYPCSLNNGSIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRISIVKDFSDETGKIDVID KSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKA QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGN DDKAKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI PKVQDNLKNFDLETKKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIINDSKILSLQNRKNTLVDT GYNAEVSEEGDVQLNPIPFDFKLGSSGEDRGKVIVTQENIVY NSMYESFSISFWIRINKWVSNLPGYTIIDSVKNNSGWSIGIISNFL VFTLKQNEDESEQSINFSYDISNAPGYNKWFFVTVTNNMMGM KIYINGKLIDTIKVKELTGINFSKTITFEINKIPDTGLITSDSDNINM WIRDFYIFAKELDGKDINILFNSLQYTNVVKDYWGNDLRYNKE YYMVNIDYLNRYMYANSRQIVFNTRRNNDFNEGYKIIKRIRG NTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYNLFMKNETMYADNHSTEDI YAIGLREQTKDINDNIIFQIQPMNNTYYYASQIFKSNFNGENISGI CSIGTYRFRLGGDWYRHNYLVPTVKQGNYASLLESTSTHWGFV PVSE
31	BoNT/X R360A/Y36 3F	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETI AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL SEVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFKVREFAPDPASTLMH

		<p>ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI            DSKAISSLIKKIIEETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP            VQGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVAKHFL            KERPIDIYVNI<sup>1</sup>DDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKI            ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN            VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF            KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI            KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV            YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR<sup>2</sup>SIVKDFSDET<sup>3</sup>GKIDVID            KSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF            TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKA            QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA<sup>4</sup>IKMNMEFQLANYKGN            DDKAKIKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT<sup>5</sup>KEMI            PKVQDNLKNFDLET<sup>6</sup>KKTLDFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL            NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLGAEDGKIKDLS            GTTSDINIGSDIELADGRENKA<sup>7</sup>IKGSENSTIKIAMNKYLRFSAT            DNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLI            WYLRDHNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKI            EEKDISSIWNT<sup>8</sup>EVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQN            EVVKLYNYFFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIR            EYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSK<sup>9</sup>KLD            GLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHDLTT            DFEI<sup>10</sup>QRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDYRD            WVYSSAWYFQNYENLNRKHTKT<sup>11</sup>NWYFIPKDEGWDED</p>
32	BoNT/X H227Y	<p>MKLEINKFN<sup>12</sup>YNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK            NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNT<sup>13</sup>PSEKDE            FLQGVIKVLERIKSKPEGEKLEL<sup>14</sup>ISSIPLPLVSNGALTLSDNETI            AYQENNNIVSNLQANLV<sup>15</sup>IYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL            SEVSFSPFYLKPFDES<sup>16</sup>YGNYSLVNIVNK<sup>17</sup>FVKREFAPDPASTLMY            ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI            DSKAISSLIKKIIEETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP            VQGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH<sup>18</sup>YL            KERPIDIYVNI<sup>19</sup>DDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLLESSYFEKI            ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN            VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF            KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI</p>

		<p>KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV          YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDET GKIDVID          KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF          TIPILV GLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKA          QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYK GNI          DDKAKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI          PKVQDNLKNFDLET KKTLDFIKEDI LGTNLSSSLRRKVSIRL          NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVLNLGAEDGKIKDLS          GTTSDINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSAT          DNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLI          WYLRDHNN SIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKI          EEKDISSIWNT EVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQN          EVVKLYNYFFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIR          EYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLD          GLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTT HDLTT          DFEIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFH DYRD          WVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
<p>33</p>	<p>BoNT/X E228Q</p>	<p>MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK          NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE          FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSN GALTLSDNETI          AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL          SEVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMH          QLVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGG          IDSKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP          VQGRLGNFKLDTAEFEKKNLILFVLNESNLAQRFSILVRKH YL          KERPIDIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGLLESSYFEKI          ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN          VSYPCSLN GCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF          KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEEL YEPIRNSLFEI          KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV          YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDET GKIDVID          KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF          TIPILV GLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKA          QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYK GNI          DDKAKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI          PKVQDNLKNFDLET KKTLDFIKEDI LGTNLSSSLRRKVSIRL</p>

		<p>NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLNLGAEDGKIKDLS  GTTSDINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSAT  DNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLI  WYLRDHNNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKI  EEKDISSIWNTDEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQN  EYVVKLYNYFFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIR  EYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLD  GLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHTDLTT  DFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDYRD  WVYSSAWYFQNYENLNRKHTKTNWYFIPKDEGWDED</p>
<p>34</p>	<p>BoNT/X  H231Y</p>	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE  FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNALTLSDNETI  AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL  SEVSFSPFYLPFDES YGNYSLVNIVNKFVKREFAPDPASTLMH  ELVYVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI  DSKAISSLIHKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP  VQGRLGNFKLDTAEFEKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL  KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISSQGSNDFQGQLESSEYFEKI  ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN  VSYPCSLLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF  KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI  KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV  YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDET GKIDVID  KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF  TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWAEVYNITKA  QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGN I  DDKAKIKNAISETTEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI  PKVQDNLKNFDLETKKTLDFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEIEDYEVNLNLGAEDGKIKDLS  GTTSDINIGSDIELADGRENKAIKIKGSENSTIKIAMNKYLRFSAT  DNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYTLVENFNQRGWKISIQDSKLI  WYLRDHNNNSIKIVTPDYIAFNGWNLITITNNRSKGSIVYVNGSKI  EEKDISSIWNTDEVDDPIIFRLKNNRDTQAFTLLDQFSIYRKELNQN  EYVVKLYNYFFNSNYIRDIWGNPLQYNKKYYLQTQDKPGKGLIR  EYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIRYGALYNGSKVLIKNSKKLD</p>



		GLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRFNEDTNYIGTTYGTTHTDLTT DFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHKSGLMSTETSKPTFHDYRD WVYSSAWYFQNYENLNLKHTKTNWYFIPKDEGWDED
35	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> R360A/Y36 3F	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETI AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL SEVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFKREFAPDPASTLMH ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI DSKAISSLIHKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP VQGRLGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVAKHFL KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGQLESSYFEKI ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTN VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDDET GKIDVID KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKA QWWGTIHLQINRLAHTYKALSRQANA I KM NMEFQLANYKGN I DDKAKIKNAISET EILLNK SVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI PKVQDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI
36	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> H227Y	MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNTPSEKDE FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSEIPLPLVSNLALTLSDNETI AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL SEVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIVNKFKREFAPDPASTLMY ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI DSKAISSLIHKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP VQGRLGNFKLDTAEFKKNLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKHYL KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGQLESSYFEKI ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKKNYLNNIDLEDKKTTSKTN VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV

		<p>YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSD ETGKIDVID  KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF  TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKA  QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGN I  DDKAKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI  PKVQDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPSEFDDLINQYKNEI</p>
37	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> E228Q	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNT PSEKDE  FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELIS SSIPLPLVSN GALTLS DNETI  AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL  SEVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFKREFAPDPASTLMH  QLVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGG  IDSKAISSLIKKI IETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP  VQGRLGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH YL  KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNIS SQSND FQGQLLESSYFEKI  ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN  VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF  KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEEL YEP IRNSLFEI  KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV  YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSD ETGKIDVID  KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF  TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWA EVYNITKA  QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANA IKMNMEFQLANYKGN I  DDKAKIKNAISET EILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLT KEMI  PKVQDNLKNFDLET KKTLDKFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL  NKNIAFDINDIPSEFDDLINQYKNEI</p>
38	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> H231Y	<p>MKLEINKFNYNDPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFKAFQVIK  NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPIMEADAIYNPNYLNT PSEKDE  FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELIS SSIPLPLVSN GALTLS DNETI  AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL  SEVSFSPFYLKPFDES YGNYSLVNIVNKFKREFAPDPASTLMH  ELVYVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETS RQQNSLIFEELLTFGGI  DSKAISSLIKKI IETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP  VQGRLGNFKLDTAEF EKKLNTILFVLNESNLAQRFSILVRKH YL  KERPIDPIYVNILDDNSYSTLEGFNIS SQSND FQGQLLESSYFEKI</p>

		ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN VSYPCSLNGCIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLR SIVKDFSDETGKIDVID KSSDTLAIVPYIGPLL NIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKA QWWGTHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGN DDKAKIKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI PKVQDNLKNFDLETKKTLDFIKEKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL NKNIAFDINDIPFSEFDDLINQYKNEI
39	VAMP1	MSAPAQPPAEGTEGTAPGGGPPGPPNMTSNRRLQQTQAQVEE VVDIIRVNVDKVLERDQKLSLDDRADALQAGASQFESSAAKL KRKYWWKNCKMMIMLGAICAIIVVVIVYFFT
40	VAMP2	MSATAATAPPAAPAGEGGPPAPPPNLT SNRRLQQTQAQVDEVV DIMRVNVDKVLERDQKLSLDDRADALQAGASQFETSAAKLKR KYWWKNLKMIMLGVICAILIIIVYFSS
41	VAMP3	MSTGVPSGSSAATGSNRRLQQTQNQVDEVVDIMRVNVDKVLE RDQKLSLDDRADALQAGASQFETSAAKLKRKYWWKNCKMW AIGISVLVIIIIIVWCVS
42	VAMP4	MPPKFKRHLNDDDVTGSVK SERRNLEDDSDDEEEDFFLRGSPGP RFGPRNDKIKHVQNQVDEVIDVMQENITKVIERGERLDELQDKS ESLSDNATAFSNRSKQLRRQMWWRGCKIKAIMALVAAILLVIII LIVMKYRT
43	VAMP5	MAGIELERCQQQANEVTEIMRNNFGKVLERGVKLAELQQRSDQ LLDMSSTFNKTTQNL AQKKCWENIRYRICVGLVVVGVLIIILIVL LVVFLPQSSDSSAPRTQDAGIASGPGN
44	Ykt6	MKLYSLSVLYKGEAKVLLKAAYDVSSFSFFQRSSVQEFMTFTS QLIVERSSSKGTRASVKEQDYLCHVYVRNDSL AGVVIADNEYPSR VAFTLLEKVLDEFKQVDRIDWPVGSPATIHYPALDGHL SRYQN PREADPMTKVQAELDETKIILHNTMESLLERGEKLDDL VSKSEV LGTQSKAFYKTARKQNSCCAII
45	BoNT/X- LC-H <sub>N</sub> - LPETGG	MKLEINKFNYPIDGINVITMRPPRHSDKINKGKGPFAFQVIK NIWIVPERYNFTNNTNDLNIPSEPI MEADAIYNPNYLNT PSEKDE FLQGVIVLERIKSKPEGEKLELISSSIPLPLVSNGALTLSDNETI AYQENNNIVSNLQANLVIYGPGPDIANNATYGLYSTPISNGEGTL

		SEVSFSPFYLKPFDESYGNYRSLVNIIVNKFKVREFAPDPASTLMH ELVHVTHNLYGISNRNFYYNFDTGKIETSRQQNSLIFEELLTFGGI DSKAISSLIKKIETAKNNYTTLISERLNTVTVENDLLKYIKNKIP VQGRLGNFKLDTAEFKELNTILFVLNESNLAQRFVSRVVRKH KERPIDPIYVNIILDDNSYSTLEGFNISQGSNDFQGLLESSYFEKI ESNALRAFIKICPRNGLLYNAIYRNSKNYLNNIDLEDKKTTSKTN VSYPCSLNCGIEVENKDLFLISNKDSLNDINLSEEKIKPETTVFF KDKLPPQDITLSNYDFTEANSIPSISQQNILERNEELYEPIRNSLFEI KTIYVDKLTTFHFLEAQNIDESIDSSKIRVELTDSVDEALSNPNKV YSPFKNMSNTINSIETGITSTYIFYQWLRVIVKDFSDDETGKIDVID KSSDTLAIVPYIGPLLNIGNDIRHGDFVGAIELAGITALLEYVPEF TIPILVGLEVIGGELAREQVEAIVNNALDKRDQKWADEVYNITKA QWWGTIHLQINTRLAHTYKALSRQANAIAIKMNMEFQLANYKGN DDKAKIKNAISETEILLNKSVEQAMKNTEKFMIKLSNSYLTKEMI PKVQDNLNKFDLETKKTLDFKFIKEDILGTNLSSSLRRKVSIRL NKNIAFDINDIPSEFDDLINQYKNEILPETGG
46	G-BoNT/X- Hc	GEDYEVNLGAEDGKIKDLSGTTSDINIGSDIELADGRENKAIKI KGSENSTIKIAMNKYLRFSA TDNFSISFWIKHPKPTNLLNNGIEYT LVENFNQRGWKISIQDSKLIWYLRDHNNSIKIVTPDYIAFNGWN LITITNNRSKGSIVYVNGSKIEEKDISSIWNTTEVDDPIIFRLKNNRD TQAFTLLDQFSIYRKELNQNEVVKLYNYFYNSNYIRDIWGNPLQ YNKKYYLQTQDKPGKGLIREYWSSFGYDYVILSDSKTITFPNNIR YGALYNGSKVLIKNSKKLDGLVRNKDFIQLEIDGYNMGISADRF NEDTNYIGTTYGTTHDLTDFEIIQRQEKYRNYCQLKTPYNIFHK SGLMSTETSKPTFHDRDWVYSSAWYFQNYENLNLRKHTKTN WYFIPKDEGWDED
47	BoNT/A1- Hc	IINTSILNLRYESNHLIDLSRYASKINIGSKVNFDPIDKNQIQFLNL ESSKIEVILKNAIVYNSMYENFSTSFWIRIPKYFNISLNNYEYTIIN CMENNSGWKVSLSNYGEIHWTLQDTQEIKQRVVKYVQMINISDY INRWIFVTITNNRLNNSKIYINGRLIDQKPISNLGNIHASNNIMFK LDGCRDTHRYIWKYFNLFDKELNEKEIKDLYDNQSNKSGILKDF WGDYLYQYDKPYYMLNLYDPNKYVDVNNVVGIRGYMYLKGPRG SVMTTNIYLNSSLYRGTKFIIKKYASGNKDNIVRNNDRVYINVV VKNKEYRLATNASQAGVEKILSALEIPDVGNLVQVVMKSKND QGITNKCKMNLQDNNGNDIGFIGFHQFNIAKLVASNWNRYRQI ERSSRTLGCSEWEIFVDDGWGERPL

48	BoNT/B1- Hc	ILNNIILNLRKYKDNNDLIDLSGYGAKVEVYDGVDELNDKNQFKLTS SANSKIRVTQNQNIIFNSVFLDFSVSFWIRIPKYKNDGIQNYIHNE YTIINCMKNNSGWKISIRGNRIIWTLIDINGKTKSVFFEYNIREDIS EYINRWFFVTITNNLNNAKIYINGKLESNTDIKDIREVIANGEIIFK LDGDIDRTQFIWMKYFSIFNTELSQSNIEERYKIQSYSEYLKDFW GNPLMYNKEYYMFNAGNKNSYIKLKKDSPVGEILTRSKYNQNS KYINYRDLYIGEKFIIIRKSNSSQSINDDIVRKEDYIYLDFFNLNQE WRVYTYKYFKKEEEKLFLAPISDSDEFYNTIQIKEYDEQPTYSCQ LLFKKDEESTDEIGLIGIHRFYESGIVFEEYKDYFCISKWYLKEVK RKPYNLKLGCNWQFIPKDEGWTE
49	BoNT/C1- Hc	INDSKILSLQNRKNTLVDTSGYNAEVSEEGDVQLNPIFPDFKLG SSGEDRGKVIVTQNENIVYNSMYEFSISFWIRINKWVSNLPGYT IIDSVKNNSGWSIGIISNFLVFTLKQNEDESEQSINF SYDISNNAPGY NKWFFVTVTNNMMGNMKIYINGKLIDTIKVKELTGINF SKTITFE INKIPDTGLITSDSDNINMWIRDFYIFAKELDGKDINILFNSLQYT NVVKDYWGNDLRYNKEYYMVNIDYLNRYMYANSRQIVFNTR RNNNDFNEGYKIIKRIRGNTNDTRVRGGDILYFDMTINNKAYN LFMKNETMYADNHSTEDIYAIGLREQTKDINDNIIFQIQPMNNTY YYASQIFKSNFNGENISGIC SIGTYRFRLLGGDWYRHNYLVPTVK QGNYSALLESTSTHWGFVPVSE
50	Сайт расщеплен ия тромбином	LVPR GS
51	TEV	ENLYFQ G
52	Сайт расщеплен ия PreScission	LEVLFQ GP
53	Сайт расщеплен ия фактором Ха	IEGR
54	Сайт расщеплен	IDGR

	ия фактором Ха	
55	Сайт расщеплен ия энтерокина зой	DDDDK
56	Сайт расщеплен ия протеазой SUMO	AHREQIGG

\* Мутации указаны подчеркиванием.

### Новый ботулинический нейротоксин и его производные

Ботулинические нейротоксины (BoNT) относятся к наиболее опасным потенциальным биотеррористическим средствам, а также используются клинически для лечения увеличивающегося перечня медицинских состояний. Существует семь серотипов BoNT (BoNT/A-G), известных на данный момент, но за последние 45 лет новые типы не были выявлены. Поиск в геномной базе данных штаммов *Clostridium botulinum* выявил новый тип BoNT, названный BoNT/X. Этот токсин демонстрировал самую низкую идентичность последовательностей по отношению к другим BoNT и не распознавался антисывороткой, вырабатываемой против известных типов BoNT. Он расщепляет связанный с везикулами мембранный белок (VAMP) в нейронах, который также является целью для BoNT/B/D/F/G, но BoNT/X расщепляет по сайту (между Arg66-Ala67 в VAMP2), уникальному для данного токсина. Для подтверждения активности BoNT/X ограниченное количество BoNT/X полной длины собирали путем ковалентного связывания двух нетоксичных фрагментов BoNT/X с использованием транспептидазы (сортазы). Собранный BoNT/X проникал в культивируемые нейроны, расщеплял VAMP2 и вызывал атрофический паралич у мышей, что измеряли с помощью анализа показателя отведения пальца. Совместно эти данные установили BoNT/X как новый тип BoNT. Его идентификация представляет срочную задачу для разработки эффективных контрмер, а также представляет новый инструмент для потенциального терапевтического применения.

### Поиск в геномных базах данных выявил новый ген BoNT

В попытке исследовать эволюционный ландшафт BoNT выполняли итеративные поиски по модели Hidden Markov в базе данных последовательностей PubMed с использованием последовательностей семи BoNT в качестве зондов. Поиск успешно идентифицировал основные серотипы, подтипы и мозаичные токсины BoNT, а также родственный нейротоксин столбняка (TeNT) (фиг. 5). Неожиданно также выявили новый ген BoNT (GenBank № BAQ12790.1) из недавно сообщенной геномной последовательности штамма 111 *Clostridium botulinum*. Этот ген токсина в настоящем документе обозначен как BoNT/X.

Филогенетический анализ выявил, что BoNT/X четко отличается от всех других BoNT и TeNT (фиг. 1A). Он имеет наименьшую идентичность белковой последовательности (<31%) из любых других BoNT среди парных сравнений в семействе BoNT/TeNT (фиг. 1A). Например, BoNT/A и BoNT/B обладают 39% идентичностью последовательностей, а BoNT/B и BoNT/G обладают 58% идентичностью последовательностей. Кроме того, скользящее окно сравнения последовательностей продемонстрировало, что подобие низкой степени равномерно распределено по последовательности BoNT/X по сравнению с другими семью BoNT и TeNT (фиг. 1B), что указывает на то, что это не мозаичный токсин.

Несмотря на низкую идентичность последовательностей общее расположение доменов и некоторые ключевые признаки BoNT, по-видимому, являются консервативными в BoNT/X (фиг. 1B), в том числе: (1) консервативный цинк-зависимый мотив протеазы HE<sub>xx</sub>H (остатки 227-231, HELVH (SEQ ID NO: 92)) находится в предполагаемой LC; (2) на границе между предполагаемым LC и HC находятся два консервативных цистеина, которые могут образовывать важную межцепочечную дисульфидную связь; (3) консервативный мотив связывания рецептора SxWY существует в предполагаемой HC (остатки 1274-1277, SAWY (SEQ ID NO: 93)), который распознает липидные корцепторные ганглиозиды<sup>43, 44</sup>.

Как и предполагали, гену BoNT/X предшествует предполагаемый ген NTNHA (фиг. 1C). Они расположены в кластере генов OrfX. Однако кластер генов OrfX в BoNT/X имеет две уникальные особенности по сравнению с двумя другими известными кластерами OrfX (фиг. 1C): (1) имеется дополнительный белок OrfX2 (обозначенный как OrfX2b), расположенный рядом с геном BoNT/X, о котором не сообщалось для каких-либо других кластеров OrfX; (2) рамка считывания генов OrfX имеет то же направление, что и ген BoNT/X, в то время как они обычно противоположны направлению гена BoNT в других кластерах OrfX (фиг. 1C). Вместе эти особенности указывают на то, что BoNT/X может составлять уникальную эволюционную ветвь семейства BoNT.

### LC BoNT/X расщепляет VAMP2 по новому сайту

Далее проверяли, является ли BoNT/X функциональным токсином. Сначала исследовали LC BoNT/X (X-LC). Границу LC (остатки 1-439) определяли путем выравнивания последовательностей с другими BoNT. Синтезировали cDNA, кодирующую LC и получали LC как His6-меченный рекомбинантный белок в *E. coli*. X-LC инкубировали с экстрактами в поверхностно-активном веществе головного мозга крысы (BDE) и анализ иммуноблоттинга использовали для исследования расщепления трех доминантных белков SNARE в головном мозге - SNAP-25, VAMP2 и синтаксина 1. LC BoNT/A (A-LC) и BoNT/B (B-LC) анализировали параллельно в качестве контролей. Расщепление SNAP-25 с помощью BoNT/A создает меньший фрагмент, который все еще может распознаваться при иммуноблоттинге, в то время как расщепление VAMP2 с помощью BoNT/B аннулирует сигнал VAMP2 при иммуноблоттинге (фиг. 2A). Синаптофизин (Syn), синаптический везикулярный белок, также выявляли в качестве внутреннего контроля загрузки. Инкубация X-LC с DTE головного мозга крысы не влияла на синтаксин 1 или SNAP-25, но аннулировала сигналы VAMP2 (фиг. 2A). LC BoNT являются цинк-зависимыми протеазами<sup>25</sup>. Как предполагали, EDTA предотвращала расщепление белков SNARE с помощью X-, A- и B-LC (фиг. 2A). Для дальнейшего подтверждения того, что X-LC расщепляет VAMP2, очищали цитозольный домен VAMP2 (остатки 1-96) в виде His6-меченного белка. Инкубация VAMP2 (1-96) с X-LC превращала полосу VAMP2 в две полосы с более низкой молекулярной массой в геле SDS-PAGE (фиг. 2B), подтверждая, что X-LC расщепляет VAMP2.

Чтобы идентифицировать сайт расщепления в VAMP2, белок VAMP2 (1-96) анализировали с предварительной инкубацией или без таковой с X-LC с помощью жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS, фиг. 2C-2E, подробности см. ниже). Одиночный пик доминантного пептида появился после инкубации с X-LC (фиг. 2C, 2E и 6). Его молекулярную массу определяли как 3081,7, что соответствует только пептидной последовательности остатков A67-L96 VAMP2 (фиг. 2C, 2E). Соответственно, также выявляли другой фрагмент от начала His6-метки до остатка R66 VAMP2 (фиг. 2D). Чтобы дополнительно подтвердить этот результат, анализ повторяли с другим фрагментом VAMP2 - GST-меченным рекомбинантным VAMP2 (33-86) (фиг. 7). Инкубация с X-LC давала один доминантный пик с молекулярной массой 2063,1, который соответствует только пептидной последовательности остатков A67-R86 VAMP2 (фиг. 7D-7E). Как и ожидалось, также выявляли другой фрагмент от начала GST-метки до остатка R66 VAMP2 (фиг. 7F). Вместе эти результаты продемонстрировали, что X-LC имеет единственный сайт расщепления в VAMP2 между R66 и A67.



R66-A67 является новым сайтом расщепления, отличным от установленных целевых сайтов для всех других BoNT (фиг. 2F). Это также единственный сайт расщепления BoNT, расположенный в области, ранее известной как мотив SNARE (фиг. 2F, заштрихованные области)<sup>45</sup>. Семейство белков VAMP включает в себя VAMP1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, а также родственные Sec22b и Ykt6. R66-A67 является консервативным в VAMP1 и VAMP3, которые являются высоко гомологичными по отношению к VAMP2, но не в других гомологах VAMP, таких как VAMP7 и VAMP8. Для подтверждения специфичности X-LC HA-меченный VAMP1, 3, 7, 8 полной длины и мус-меченный Sec22b и Ykt6 экспрессировали в клетках HEK293 путем транзientной трансфекции. Клеточные лизаты инкубировали с X-LC (фиг. 2G). VAMP1 и 3 расщепляли с помощью X-LC, о чем свидетельствует смещение сигнала иммуноблоттинга к более низкой молекулярной массе, в то время как VAMP7, VAMP8 и Sec22b были устойчивы к X-LC (фиг. 2G).

Неожиданно Ykt6 расщепляли с помощью X-LC (фиг. 2G). Этот результат подтверждали с использованием очищенного GST-меченого фрагмента Ykt6, который после инкубации с X-LC сместился к полоске более низкой молекулярной массы (фиг. 2H). Сайт расщепления определяли как K173-S174 с помощью анализа масс-спектрометрии интактного Ykt6 по сравнению с Ykt6, расщепленным с помощью X-LC (фиг. 13A). Это гомологичный сайт по отношению к сайту расщепления в VAMP2 (фиг. 2F), что указывает на то, что местоположение сайта расщепления сохраняется в разных VAMP. Среди представителей VAMP VAMP4 содержит ту же пару остатков (K87-S88) на этом сайте, что и Ykt6. Обнаружили, что GST-меченный цитоплазматический домен VAMP4 эффективно расщеплялся с помощью X-LC (фиг. 2I). Соответственно, X-LC расщеплял нативный VAMP4 в BDE (фиг. 4J). В качестве контроля Sec22b не расщеплялся с помощью X-LC в BDE. Кроме того, GST-меченный цитоплазматический домен VAMP5 также расщеплялся, хотя и с более медленной скоростью, чем VAMP2 и VAMP4 (фиг. 2I). Сайты расщепления подтверждали как K87-S88 в VAMP4 и R40-S41 в VAMP5 с помощью анализа масс-спектрометрии (фиг. 14). Оба являются гомологичными сайтами по отношению к сайту расщепления в VAMP2 (фиг. 2F). Способность X-LC расщеплять VAMP4, VAMP5 и Ykt6 весьма необычна, так как их последовательности существенно отличаются от VAMP1/2/3. BoNT/X является первым BoNT, способным расщеплять VAMP вне канонических целей VAMP1/2/3<sup>66</sup>. X-LC также расщеплял VAMP4 в BDE, и расщепление блокировалось с помощью EDTA (фиг. 2J).

Примечательной особенностью BoNT/X является его уникальная способность расщеплять VAMP4 и Ykt6. VAMP4 широко экспрессируется и, как известно, опосредует слияние везикул между сетью транс-Гольджи (TGN) и эндосомами, а также

гомотипическое слияние эндосом<sup>59, 60</sup>. Ykt6 представляет собой атипичный SNARE без трансмембранного домена<sup>67-70</sup>. Он заякоривается в мембранах посредством липидирования, что позволяет динамически регулировать его мембранную ассоциацию. Ykt6 является незаменимым белком в дрожжах, участвуя во множественных событиях слияния мембран, в том числе ER-Гольджи, внутри Гольджи, эндосома-Гольджи-вакуолярное и аутофагосомное образование. Его функция в клетках млекопитающих еще не установлена. Традиционно известно, что VoNT ограничиваются целями SNARE, которые опосредуют везикулярный экзоцитоз на плазматических мембранах. VoNT/X является первым VoNT, который способен расщеплять SNARE, опосредуя различные события внутриклеточной мембранной миграции.

Интересно, что и VAMP4, и Ykt6 имеют повышенное содержание в нейронах. Недавние исследования показали, что VAMP4 также может вносить вклад в асинхронный синаптический везикулярный экзоцитоз, экзоцитоз ростосом и зависимый от активности объемный эндоцитоз (ADBE) в нейронах<sup>61-63</sup>. Роль Ykt6 в нейронах еще предстоит установить, но показали, что он подавляет токсичность  $\alpha$ -синуклеина в моделях болезни Паркинсона<sup>71-72</sup>. Другой субстрат VoNT/X, VAMP5, в основном экспрессируется в мышечных клетках, и его функция еще не установлена<sup>64</sup>. VoNT/X будет мощным инструментом для исследования функций VAMP4, Ykt6 и VAMP5, а также связанных с ними событий мембранной миграции. Кроме того, VAMP4 участвует в высвобождении гранул в иммунных клетках<sup>65</sup>, таким образом, VoNT/X может обладать уникальным потенциалом среди всех VoNT для модулирования воспалительной секреции в иммунных клетках.

### **Протеолитическая активация VoNT/X**

VoNT изначально продуцируется как один полипептид. Линкерный участок между LC и H<sub>N</sub> должен быть расщеплен либо бактериальными, либо хозяйскими протеазами в процессе, известном как «активация», что важно для активности VoNT. LC и H<sub>N</sub> в VoNT остаются соединенными межцепочечной дисульфидной связью до транслокации LC в цитозоль клеток, где дисульфидная связь восстанавливается для высвобождения LC в цитозоль. Выравнивание последовательностей показало, что VoNT/X содержит самый длинный линкерный участок между двумя консервативными цистеинами по сравнению со всеми другими VoNT (C423-C467, фиг. 3A). Кроме того, линкерный участок VoNT/X содержит дополнительный цистеин (C461), который является уникальным для VoNT/X.

Для проверки того, является ли линкерный участок между LC и H<sub>N</sub> в VoNT/X восприимчивым к протеолитическому расщеплению, получали рекомбинантный фрагмент X-LC-H<sub>N</sub> (остатки 1-891) в *E. coli* и подвергали ограниченному протеолизу с помощью

эндопротеиназы Lys-C, которая разрезает по С-терминальной стороне лизиновых остатков. Для идентификации восприимчивого сайта расщепления при условиях ограниченного протеолиза X-LC-H<sub>N</sub> анализировали с использованием мечения Tandem Mass Tag (ТМТ) и подхода тандемной масс-спектрометрии. Метки ТМТ не имеют N-конец (и лизины). Ограниченный протеолиз с помощью Lys-C дает дополнительные свободные N-концы, которые не могут существовать в интактном образце X-LC-H<sub>N</sub> (подробности см. ниже). Вкратце, интактные образцы X-LC-H<sub>N</sub> метили легкой ТМТ и равное количество образцов X-LC-H<sub>N</sub> подвергали Lys-C, а затем метили тяжелой ТМТ. Затем оба образца расщепляли химотрипсином, объединяли вместе и подвергали количественному анализу масс-спектрометрии. Перечень идентифицированных пептидов показан в таблице 2, ниже. Отношение легкая ТМТ: тяжелая ТМТ обычно были в 2 раза больше друг относительно друга для каждого пептида, за исключением 5 пептидов, начиная с N439, которые не показали сигнала для мечения легкой ТМТ, что указывает на то, что это новый N-конец, создается за счет разрезания Lys-C (фиг. 3А, таблица 2). Таким образом, Lys-C предпочтительно разрезает K438-N439 в ограниченных протеолитических условиях, демонстрируя, что линкерный участок является чувствительным к протеазам (фиг. 3А).

Далее проверяли важность этой протеолитической активации для функции ВоNT/X. Ранее показали, что инкубация высоких концентраций LC-H<sub>N</sub> ВоNT с культивируемыми нейронами приводила к проникновению LC-H<sub>N</sub> в нейронах, вероятно из-за неспецифического поглощения в нейронах<sup>46, 47</sup>. С использованием данного подхода сравнивали эффективность интактного и активированного X-LC-H<sub>N</sub> в культивируемых кортикальных нейронах крысы. Нейроны подвергали X-LC-H<sub>N</sub> в среде в течение 12 часов. Клеточные лизаты собирали и выполняли анализ иммуноблоттинга для изучения расщепления белков SNARE. Как показано на фиг. 3В, X-LC-H<sub>N</sub> проникал в нейроны и расщеплял VAMP2 в зависимости от концентрации. X-LC-H<sub>N</sub>, активированный Lys-C, демонстрировал значительно более высокую эффективность, чем интактный X-LC-H<sub>N</sub>: 10 нМ активированного X-LC-H<sub>N</sub> расщепляли подобные уровни VAMP2 как 150 нМ интактного X-LC-H<sub>N</sub> (фиг. 3В). Следует отметить, что интактный X-LC-H<sub>N</sub>, вероятно, чувствителен к протеолитическому расщеплению протеазами клеточной поверхности, поэтому он все еще активен в нейронах при высоких концентрациях. Интересно, что активированный X-LC-H<sub>N</sub>, по-видимому, является более мощным, чем активированный LC-H<sub>N</sub> ВоNT/A (A-LC-H<sub>N</sub>) и ВоNT/B (B-LC-H<sub>N</sub>), который не показал какого-либо выявляемого расщепления их субстратов SNARE в нейронах в тех же условиях анализа (фиг. 3В).

**Таблица 2. Пептидные фрагменты X-LC-H<sub>N</sub> при ограниченном протеолизе анализировали с помощью мечения TMT количественной масс-спектрометрии**

His6-меченный рекомбинантный X-LC-H<sub>N</sub> метили легкой TMT. Равное количество образцов X-LC-H<sub>N</sub> подвергали Lys-C, а затем метили тяжелой TMT. Затем оба образца расщепляли химотрипсином, объединяли вместе и подвергали количественному анализу масс-спектрометрии. Представлен перечень идентифицированных пептидов. Отношение легкая TMT: тяжелая TMT в 2 раза больше друг относительно друга для всех пептидов, за исключением пяти пептидов (подчеркнутых), начиная с N439. Эти пять пептидов не показали сигнала для мечения легкой TMT, что указывает на то, что N439 является новым N-концом, созданным за счет разрезания Lys-C. Пептидные последовательности в таблице 2 соответствуют, сверху вниз, SEQ ID NO: 94-226.

ScanF	Z	Теор. масса/заряд	PPM	X Corr	Δ Corr	Этал.	Пептид	Стартовое полож.	Конечное полож.	Макс. тяж.	Макс. легк.	Отношение тяж./легк.
16633	2	611,384	1,46	1,751	0,651	xLcH <sub>N</sub>	K.LJEINK#F.N	3	8	4,03E+04	2,92E+04	1,38
16638	2	606,3736	0,95	1,71	0,654	xLcH <sub>N</sub>	K.LEINKF.N	3	8	4,03E+04	2,92E+04	1,38
15946	2	912,456	2,74	4,083	0,877	xLcH <sub>N</sub>	F.NJYNDPIDGINV ITM*.R	9	22	4,34E+05	9,26E+05	0,47
15942	2	909,9508	2,28	4,546	0,661	xLcH <sub>N</sub>	F.NYNDPIDGINVI TM*.R	9	22	4,34E+05	9,26E+05	0,47
17201	2	785,9092	1,26	2,455	0,273	xLcH <sub>N</sub>	F.NYNDPIDGINVI T	9	20	1,14E+06	1,94E+06	0,59
11082	2	679,833	1,17	1,74	0,754	xLcH <sub>N</sub>	F.NYNDPIDGIN.V	9	18	8,01E+05	1,20E+06	0,67
11083	2	682,3382	0,96	2,6	0,742	xLcH <sub>N</sub>	F.NJYNDPIDGIN.V	9	18	8,01E+05	1,20E+06	0,67
19628	2	535,3264	0,97	1,391	0,701	xLcH <sub>N</sub>	D.PJIDGINVI.T	13	20	6,55E+04	1,23E+05	0,53
19626	2	532,8211	0,68	1,474	0,608	xLcH <sub>N</sub>	D.PIDGINVI.T	13	20	6,55E+04	1,23E+05	0,53
20815	4	802,2073	2,19	2,962	0,582	xLcH <sub>N</sub>	Y.NJPNYLNTPSE K#DEFLQGVK#V L.E	78	99	4,57E+04	1,21E+05	0,38
20463	4	802,2073	1,96	2,726	0,385	xLcH <sub>N</sub>	Y.NJPNYLNTPSE K#DEFLQGVK#V L.E	78	99	2,96E+04	8,18E+04	0,36
20799	4	798,4495	1,91	3,647	0,659	xLcH <sub>N</sub>	Y.NPNYLNTPSEK DEFLQGVKVL.E	78	99	4,57E+04	1,21E+05	0,38
20568	4	798,4495	1,63	2,639	0,419	xLcH <sub>N</sub>	Y.NPNYLNTPSEK DEFLQGVKVL.E	78	99	2,96E+04	8,18E+04	0,36
22720	2	753,4631	1,96	2,339	0,222	xLcH <sub>N</sub>	L.LELISSSIPLPL.V	112	123	1,40E+04	2,80E+04	0,50
21170	2	696,9211	1,9	1,781	0,326	xLcH <sub>N</sub>	L.LELISSSIPLPL.V	113	123	2,75E+04	4,15E+04	0,66
21281	2	696,9211	1,86	2,099	0,282	xLcH <sub>N</sub>	L.LELISSSIPLPL.V	113	123	2,75E+04	4,15E+04	0,66
21378	2	696,9211	1,83	1,593	0,149	xLcH <sub>N</sub>	L.LELISSSIPLPL.V	113	123	2,75E+04	4,15E+04	0,66

19246	2	578,363	1,18	1,443	0,27	xLcH <sub>N</sub>	L.IJSSSIPLPL.V	115	123	1,61E+04	4,12E+04	0,39
19365	2	578,363	1,08	1,624	0,135	xLcH <sub>N</sub>	L.IJSSSIPLPL.V	115	123	1,61E+04	4,12E+04	0,39
19241	2	575,8577	1	1,484	0,209	xLcH <sub>N</sub>	L.ISSSIPLPL.V	115	123	1,61E+04	4,12E+04	0,39
19360	2	575,8577	0,91	1,673	0,298	xLcH <sub>N</sub>	L.ISSSIPLPL.V	115	123	1,61E+04	4,12E+04	0,39
13952	2	948,9912	2,47	2,562	0,54	xLcH <sub>N</sub>	L.VJNSGALTLSD NETIAY.Q	124	139	2,51E+05	3,67E+05	0,68
13949	2	946,486	2,42	1,729	0,599	xLcH <sub>N</sub>	L.VNSGALTLSDN ETIAY.Q	124	139	2,51E+05	3,67E+05	0,68
6712	2	392,7318	0,19	1,523	0,206	xLcH <sub>N</sub>	L.VNSGAL.T	124	129	1,18E+05	2,03E+05	0,58
10243	2	678,3482	0,73	1,499	0,616	xLcH <sub>N</sub>	L.TJLSDNETIAY.Q	130	139	2,14E+05	3,67E+05	0,58
10242	2	675,843	0,69	1,594	0,842	xLcH <sub>N</sub>	L.TLSDNETIAY.Q	130	139	2,14E+05	3,67E+05	0,58
15890	2	1110,579	2,74	2,243	0,6	xLcH <sub>N</sub>	L.QJANLVIYGPGP DIANNATY.G	150	168	5,20E+04	9,82E+04	0,53
15881	2	1108,073	1,86	2,121	0,673	xLcH <sub>N</sub>	L.QANLVIYGPGP DIANNATY.G	150	168	5,20E+04	9,82E+04	0,53
11142	2	727,3879	1,39	1,945	0,635	xLcH <sub>N</sub>	L.VIYGPGPDIAN N.A	154	165	1,91E+04	3,90E+04	0,49
12879	2	894,962	1,24	2,673	0,731	xLcH <sub>N</sub>	L.VIYGPGPDIAN NATY.G	154	168	6,62E+05	1,25E+06	0,53
10964	2	707,3541	2,8	1,39	0,466	xLcH <sub>N</sub>	Y.GPGPDIANNAT Y.G	157	168	1,42E+04	2,24E+04	0,63
11091	2	456,2473	0,78	1,352	0,765	xLcH <sub>N</sub>	N.ATYGLY.S	166	171	3,55E+04	8,08E+04	0,44
17435	2	1094,055	2,53	3,418	0,69	xLcH <sub>N</sub>	Y.GJLYSTPISNGE GTLSEVSF.S	169	187	1,55E+05	2,27E+05	0,68
17410	2	1091,549	2,48	3,748	0,738	xLcH <sub>N</sub>	Y.GLYSTPISNGE GTLSEVSF.S	169	187	1,55E+05	2,27E+05	0,68
19830	2	1259,631	2,15	2,885	0,676	xLcH <sub>N</sub>	Y.GJLYSTPISNGE GTLSEVSFSPF.Y	169	190	1,98E+04	2,46E+04	0,81
20131	3	838,4197	2,08	2,781	0,742	xLcH <sub>N</sub>	Y.GLYSTPISNGE GTLSEVSFSPF.Y	169	190	4,60E+05	5,32E+05	0,86
12546	2	862,9488	1,9	1,817	0,401	xLcH <sub>N</sub>	Y.GJLYSTPISNGE GTLS.E	169	183	7,95E+04	7,83E+04	1,02
12571	2	860,4436	1,84	1,528	0,588	xLcH <sub>N</sub>	Y.GLYSTPISNGE GTLS.E	169	183	7,95E+04	7,83E+04	1,02
19819	3	838,4197	1,61	2,655	0,662	xLcH <sub>N</sub>	Y.GLYSTPISNGE GTLSEVSFSPF.Y	169	190	4,13E+04	4,59E+04	0,90
9948	2	851,4307	2,54	2,044	0,765	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVS.F	172	186	1,92E+04	2,39E+04	0,81
18409	2	1090,541	2,45	4,434	0,844	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89
18417	2	1090,541	2,39	3,307	0,82	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89
18418	2	1093,047	2,39	2,983	0,845	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89
18876	2	1093,047	1,97	1,841	0,679	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89
14591	2	927,4701	1,96	3,362	0,646	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSF.S	172	187	2,09E+05	1,42E+05	1,48
14803	2	924,9649	1,88	1,934	0,462	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS	172	187	2,96E+05	4,65E+05	0,64

							EVSF.S						
14852	2	924,9649	1,87	1,538	0,369	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSF.S	172	187	2,96E+05	4,65E+05	0,64	
18554	2	1093,047	1,72	3,044	0,86	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89	
18552	2	1090,541	1,68	3,643	0,813	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89	
14978	2	927,4701	1,68	1,401	0,31	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSF.S	172	187	4,96E+04	7,37E+04	0,67	
18680	2	1093,047	1,66	1,656	0,717	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89	
20660	2	1093,047	1,63	2,182	0,831	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL SEVSFSPF.Y	172	190	5,24E+05	5,44E+05	0,96	
17226	2	924,9649	1,62	2,459	0,698	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSF.S	172	187	3,25E+05	5,31E+05	0,61	
17306	2	924,9649	1,62	2,126	0,588	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSF.S	172	187	3,25E+05	5,31E+05	0,61	
10139	2	696,3644	1,61	1,942	0,628	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL S.E	172	183	6,39E+04	8,46E+04	0,76	
18674	2	1090,541	1,59	2,423	0,765	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSFSPF.Y	172	190	8,21E+05	9,22E+05	0,89	
20642	2	1090,541	1,55	2,608	0,823	xLcH <sub>N</sub>	Y.STPISNGEGTLS EVSFSPF.Y	172	190	5,24E+05	5,44E+05	0,96	
8077	2	696,3644	1,54	1,763	0,707	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTPISNGEGTL S.E	172	183	1,09E+05	1,29E+05	0,84	
18476	2	562,2872	1,17	1,812	0,784	xLcH <sub>N</sub>	L.SEVSFSPF.Y	183	190	4,49E+04	7,11E+04	0,63	
18478	2	564,7924	0,95	1,57	0,965	xLcH <sub>N</sub>	L.SJEVSFSPF.Y	183	190	4,49E+04	7,11E+04	0,63	
13190	3	652,0048	0,97	2,099	0,697	xLcH <sub>N</sub>	F.YJLK#PFDESYG NY.R	191	202	1,98E+06	3,09E+06	0,64	
12839	3	540,6289	0,38	2,441	0,423	xLcH <sub>N</sub>	F.YJLK#PFDESY.G	191	199	2,43E+05	5,45E+05	0,44	
7115	2	538,7403	0,69	1,476	0,615	xLcH <sub>N</sub>	F.DJESYGN.Y.R	196	202	1,44E+05	3,14E+05	0,46	
16124	3	661,3911	1,14	2,123	0,575	xLcH <sub>N</sub>	Y.GJNYRSLVNIV NK#.V	200	212	2,81E+04	2,27E+04	1,24	
11646	3	474,5894	0,49	2,077	0,602	xLcH <sub>N</sub>	H.NLYGISNRNF.Y	235	244	2,80E+05	4,38E+05	0,64	
10091	4	603,8103	1,23	2,98	0,756	xLcH <sub>N</sub>	F.YYNFDTGKIET SRQQN.S	245	260	3,05E+05	1,94E+05	1,57	
9932	4	603,8103	1,08	2,5	0,638	xLcH <sub>N</sub>	F.YYNFDTGKIET SRQQN.S	245	260	3,05E+05	1,94E+05	1,57	
10782	3	820,4359	0,65	2,156	0,438	xLcH <sub>N</sub>	Y.YJNFDTGK#IET SRQQNSL.I	246	262	7,40E+04	1,33E+05	0,56	
15039	3	819,1317	1,41	2,281	0,516	xLcH <sub>N</sub>	L.ISERLNTVTVEN DLLKY.I	298	314	1,45E+05	2,76E+05	0,53	
13824	3	619,6838	1,27	2,021	0,44	xLcH <sub>N</sub>	L.NTVTENDLLK Y.I	303	314	3,10E+04	5,07E+04	0,61	
10975	2	760,4251	1,45	2,089	0,663	xLcH <sub>N</sub>	F.VJLNESLAQRF .S	345	355	4,63E+05	6,60E+05	0,70	
17696	3	966,86	2,14	2,704	0,532	xLcH <sub>N</sub>	H.YJLK#ERPIDIY VNILDDNSY.S	363	382	8,61E+04	1,42E+05	0,61	
20823	2	827,9299	2,21	2,495	0,806	xLcH <sub>N</sub>	D.PJIYVNILDDNS Y.S	371	382	7,80E+04	8,16E+04	0,96	

20825	2	825,4247	2,17	2,958	0,881	xLcH <sub>N</sub>	D.PIYVNILDDNS Y.S	371	382	7,80E+04	8,16E+04	0,96
12614	2	685,3561	1,34	1,843	0,609	xLcH <sub>N</sub>	N.IJLDDNSYSTL.E	376	385	1,01E+05	2,57E+05	0,39
11272	2	441,7421	1,48	1,795	0,903	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTLEGF.N	383	388	4,45E+04	1,36E+05	0,33
11261	2	439,2369	1,08	1,536	0,514	xLcH <sub>N</sub>	Y.STLEGF.N	383	388	4,45E+04	1,36E+05	0,33
14260	2	441,7421	0,49	1,462	0,848	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJTLEGF.N	383	388	5,41E+04	1,32E+05	0,41
14246	2	439,2369	0,38	1,46	0,844	xLcH <sub>N</sub>	Y.STLEGF.N	383	388	5,41E+04	1,32E+05	0,41
13808	2	916,4629	2,48	2,036	0,498	xLcH <sub>N</sub>	F.NISSQGSNDFQ GQLL.E	389	403	2,86E+04	6,39E+04	0,45
17314	3	815,7238	2,05	2,149	0,621	xLcH <sub>N</sub>	F.NISSQGSNDFQ GQLLESSYF.E	389	408	1,26E+05	2,71E+05	0,47
6340	2	803,3788	0,75	2,554	0,721	xLcH <sub>N</sub>	F.NISSQGSNDFQ GQ.L	389	401	1,03E+04	2,21E+04	0,47
11696	2	493,2814	0,67	1,62	0,518	xLcH <sub>N</sub>	L.LJYNAIY.R	429	434	1,19E+05	1,87E+05	0,63
11692	2	490,7762	0,6	1,57	0,118	xLcH <sub>N</sub>	L.LYNAIY.R	429	434	1,19E+05	1,87E+05	0,63
14021	3	756,4332	2,14	2,305	0,363	xLcH <sub>N</sub>	K.NJYLNNIDLED K#K#T.T	439	451	6,85E+05	5,12E+03	133, 95
12997	3	1009,909	1,93	3,044	0,553	xLcH <sub>N</sub>	K.NJYLNNIDLED K#K#TTSK#TN.V	439	456	4,24E+05	0,00E+00	#DI V/0!
12932	3	1009,909	1,92	4,251	0,695	xLcH <sub>N</sub>	K.NJYLNNIDLED K#K#TTSK#TN.V	439	456	4,24E+05	0,00E+00	#DI V/0!
14003	3	790,1157	1,59	2,894	0,542	xLcH <sub>N</sub>	K.NJYLNNIDLED K#K#T.T.S	439	452	4,40E+06	1,13E+04	389, 24
13105	4	729,173	1	3	0,599	xLcH <sub>N</sub>	K.NJYLNNIDLED K#K#TTSK#T.N	439	455	3,39E+06	3,14E+03	1078 97
11567	3	747,091	1,33	2,711	0,518	xLcH <sub>N</sub>	N.YLNNIDLEDKK T.T.S	440	452	1,22E+04	9,52E+04	0,13
11515	3	747,091	1,33	2,729	0,496	xLcH <sub>N</sub>	N.YLNNIDLEDKK T.T.S	440	452	1,22E+04	9,52E+04	0,13
17001	2	857,9579	1,99	1,967	0,713	xLcH <sub>N</sub>	G.CIEVENKDLF.L	467	476	3,29E+04	1,64E+05	0,20
16337	4	941,793	1,76	2,419	0,135	xLcH <sub>N</sub>	F.LJISNK#DSLNDI NLSEEK#IK#PETT VF.F	477	501	1,27E+06	1,06E+06	1,19
16394	4	941,793	1,72	2,19	0,391	xLcH <sub>N</sub>	F.LJISNK#DSLNDI NLSEEK#IK#PETT VF.F	477	501	1,27E+06	1,06E+06	1,19
17983	3	993,888	2,4	3,193	0,657	xLcH <sub>N</sub>	K.DJSLNDINLSEE K#IK#PETTVF.F	482	501	3,27E+04	2,59E+03	12,6 4
18031	3	955,5456	2,06	3,607	0,764	xLcH <sub>N</sub>	D.SJLNDINLSEEK #IK#PETTVF.F	483	501	4,90E+04	4,12E+04	1,19
11720	2	834,8912	2,14	1,689	0,726	xLcH <sub>N</sub>	L.SNYDFTEANSIP S.I	514	526	2,91E+04	2,50E+04	1,17
13409	2	1065,513	2,12	4,742	0,769	xLcH <sub>N</sub>	L.SJNYDFTEANSI PSISQQ.N	514	530	7,05E+04	7,52E+04	0,94
8896	2	642,7908	1,42	1,851	0,708	xLcH <sub>N</sub>	L.SNYDFTEAN.S	514	522	2,12E+05	2,27E+05	0,94
8883	2	645,296	1,39	2,362	0,879	xLcH <sub>N</sub>	L.SJNYDFTEAN.S	514	522	2,12E+05	2,27E+05	0,94
17774	2	1051,044	2,7	1,967	0,9	xLcH <sub>N</sub>	Y.DFTEANSIP SIS QQNIL.E	517	533	3,52E+04	3,28E+04	1,07

17438	2	1051,044	2,55	1,944	0,665	xLcH <sub>N</sub>	Y.DFTEANSIPSIS QQNILE	517	533	9,04E+04	8,08E+04	1,12
12784	2	880,9387	1,87	2,537	0,778	xLcH <sub>N</sub>	Y.DFTEANSIPSIS QQ.N	517	530	4,72E+05	5,06E+05	0,93
12779	2	883,4439	1,73	3,423	0,797	xLcH <sub>N</sub>	Y.DJFTEANSIPSIS QQ.N	517	530	4,72E+05	5,06E+05	0,93
16126	4	911,7114	1,6	3,934	0,579	xLcH <sub>N</sub>	Y.DFTEANSIPSIS QQNILERNEELYE PIRN.S	517	545	5,41E+05	2,02E+05	2,67
12449	2	937,9602	1,56	3,012	0,73	xLcH <sub>N</sub>	Y.DFTEANSIPSIS QQN.I	517	531	5,16E+05	5,72E+05	0,90
12151	2	940,4654	1,47	1,476	0,458	xLcH <sub>N</sub>	Y.DJFTEANSIPSIS QQN.I	517	531	4,65E+05	4,96E+05	0,94
20080	3	1106,923	2,52	3,592	0,677	xLcH <sub>N</sub>	N.SJIPSISQQNILE RNEELYEPIRNSL F.E	523	548	1,86E+04	1,52E+04	1,23
11314	3	700,7002	1,59	2,563	0,763	xLcH <sub>N</sub>	L.TDSVDEALSNP NKVY.S	583	597	1,74E+05	1,84E+05	0,95
11315	3	704,0405	1,56	2,444	0,262	xLcH <sub>N</sub>	L.TJDSVDEALSNP NK#VY.S	583	597	1,74E+05	1,84E+05	0,95
11916	3	700,7002	1,52	2,049	0,508	xLcH <sub>N</sub>	L.TDSVDEALSNP NKVY.S	583	597	2,27E+05	2,78E+05	0,82
7902	2	635,3637	0,25	1,478	0,567	xLcH <sub>N</sub>	L.SNPKNKVY.S	591	597	6,79E+05	8,90E+05	0,76
7903	2	640,3742	0,25	1,485	0,282	xLcH <sub>N</sub>	L.SJNPNK#VY.S	591	597	6,79E+05	8,90E+05	0,76
14536	3	927,1457	1,59	2,027	0,553	xLcH <sub>N</sub>	Y.SJPFK#NM*SNT INSIETGITSTY.I	598	618	1,47E+05	8,07E+04	1,83
14487	3	923,8054	1,54	2,35	0,708	xLcH <sub>N</sub>	Y.SPFCNM*SNTI NSIETGITSTY.I	598	618	1,47E+05	8,07E+04	1,83
13108	3	813,421	2,03	2,046	0,548	xLcH <sub>N</sub>	F.KNM*SNTINSIE TGITSTY.I	601	618	2,41E+06	2,42E+06	1,00
12962	3	813,421	1,98	2,378	0,482	xLcH <sub>N</sub>	F.KNM*SNTINSIE TGITSTY.I	601	618	2,41E+06	2,42E+06	1,00
13079	3	813,421	1,98	2,245	0,617	xLcH <sub>N</sub>	F.KNM*SNTINSIE TGITSTY.I	601	618	2,41E+06	2,42E+06	1,00
13194	2	915,4701	2,12	1,504	0,654	xLcH <sub>N</sub>	M.SJNTINSIETGIT STY.I	604	618	1,74E+05	3,22E+05	0,54
13170	2	912,9649	1,99	1,791	0,699	xLcH <sub>N</sub>	M.SNTINSIETGIT STY.I	604	618	1,74E+05	3,22E+05	0,54
12405	2	812,4274	2,38	1,349	0,781	xLcH <sub>N</sub>	N.TINSIETGITSTY .I	606	618	2,94E+04	3,41E+04	0,86
14318	3	837,465	1,53	2,439	0,647	xLcH <sub>N</sub>	F.SJDETGK#IDVI DK#SSDTL.A	632	648	2,23E+04	1,55E+04	1,44
19535	2	586,368	0,52	1,753	0,731	xLcH <sub>N</sub>	L.AJIVPYIGPLL	649	657	7,93E+05	1,16E+06	0,69
19564	2	442,268	0,43	1,498	0,892	xLcH <sub>N</sub>	V.PYIGPLL	652	657	1,30E+04	2,64E+04	0,49
9998	2	715,396	1,76	2,148	0,33	xLcH <sub>N</sub>	V.IJGGELAREQVE .A	699	709	8,53E+04	1,32E+04	6,44
5372	3	494,9536	0,34	2,943	0,626	xLcH <sub>N</sub>	L.SRQANAIKM*.N	754	762	2,50E+05	1,57E+04	15,9 7
5363	3	494,9536	0,32	3,357	0,734	xLcH <sub>N</sub>	L.SRQANAIKM*.N	754	762	2,50E+05	1,57E+04	15,9 7
17794	2	734,3537	1,89	2,212	0,79	xLcH <sub>N</sub>	F.SEFDDLINQY.K	879	888	3,00E+05	4,05E+05	0,74



14171	4	757,641	0,97	2,289	0,421	xLcH <sub>N</sub>	F.DDLINQYKNEG SILPETGGLEHH.H	882	904	1,02E+04	3,96E+04	0,26
7676	4	679,3532	1,49	2,624	0,624	xLcH <sub>N</sub>	Y.KNEGSILPETG GLEHHHHHHH.-	889	908	3,63E+04	3,74E+04	0,97
13193	3	588,3365	1,18	2,307	0,629	xLcH <sub>N</sub>	Y.KNEGSILPETG GLE	889	901	2,81E+05	3,08E+05	0,91
10362	3	677,037	1,15	2,582	0,615	xLcH <sub>N</sub>	Y.KNEGSILPETG GLEH.H	889	903	8,01E+05	1,17E+06	0,68
9325	4	542,2943	1,06	2,617	0,58	xLcH <sub>N</sub>	Y.KNEGSILPETG GLEHH.H	889	904	2,17E+05	2,96E+05	0,73

### Уникальная особенность дисульфидной связи в VoNT/X

Линкерный участок VoNT/X содержит дополнительный цистеин (C461), который является уникальным для VoNT/X. Для определения того, какой цистеин формирует дисульфидную связь, соединяющую LC и H<sub>C</sub>, создавали трех мутантов X-LC-H<sub>N</sub> с каждым из трех мутантных цистеиновых остатков (C423S, C461S и C467S). Эти три цистеиновых мутанта, а также X-LC-H<sub>N</sub> дикого типа (WT) подвергали ограниченному протеолизу, а затем анализировали путем SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим с восстанавливающим средством DTT или без такового (фиг. 3С). Выявили, что мутирующий цистеин в LC (C423S) давали в результате белок, который разделялся на две полосы ~ 50 кДа с DTT или без такового, что указывает на то, что C423S аннулировал межцепочечную дисульфидную связь. Напротив, мутанты, содержащие либо C461S, либо C467S, демонстрировали одну полосу при 100 кДа при отсутствии DTT, которые разделялись на две полосы ~50 кДа в присутствии DTT, подтверждая, что и C461, и C467 в H<sub>N</sub> могут формировать межцепочечную дисульфидную связь с C423 в LC. Также мутант X-LC-H<sub>N</sub> (C423S), по-видимому, более восприимчив к Lys-C, чем мутанты как C461S, так и C467S, что приводило к дальнейшему расщеплению белка (фиг. 3С). Этот результат говорит о том, что потеря межцепочечной дисульфидной связи может увеличить свободу LC и H<sub>N</sub>, обнажая тем самым больше площадей поверхности. Кроме того, часть X-LC-H<sub>N</sub> WT образовала агрегаты в верхней части геля SDS-PAGE (фиг. 3С). Эти агрегаты обусловлены образованием межмолекулярной дисульфидной связи, поскольку они исчезали в присутствии DTT (фиг. 3С, + DTT). C423, C461 и C467 являются единственными тремя цистеинами в X-LC-H<sub>N</sub>. Мутирование любого из трех цистеинов уничтожило агрегаты X-LC-H<sub>N</sub> (фиг. 3С, -DTT), что указывает на то, что образование межмолекулярной дисульфидной связи обусловлено наличием дополнительного цистеина в линкерном участке.

Большая часть активированного X-LC-H<sub>N</sub> WT также разделялось на две полосы ~50 кДа в геле SDS-PAGE без DTT (фиг. 3С). С другой стороны, X-LC-H<sub>N</sub> WT так же устойчив к Lys-C, как мутанты C461S и C467S, и он не демонстрировал дальнейшего разложения, как это сделал мутант C423S (фиг. 3С, +DTT), что подтверждает, что X-LC-

H<sub>N</sub> WT отличается от мутанта C423S. Одним из возможных объяснений является перетасовка дисульфидной связи из-за наличия двух цистеинов, близких к каждому в H<sub>N</sub> (C461 и C467), которые могут перегруппировать дисульфидную связь из межцепочечных C423-C467 или C423-C467 во внутрицепочечные C461-C467 в денатурированных условиях<sup>48, 49</sup>. Чтобы проверить эту гипотезу, использовали алкилирующий реагент, N-этилmaleимид (NEM), который реагирует с сульфгидрилами свободного цистеина и постоянно блокирует любые свободные цистеины. Как показано на фиг. 3D, X-LC-H<sub>N</sub> WT, предварительно обработанный NEM, демонстрировал в основном одну полосу при 100 кДа при отсутствии DTT и разделялся на две полосы ~50 кДа в присутствии DTT. Эти результаты подтвердили, что нативный X-LC-H<sub>N</sub> WT содержит в основном межцепочечную дисульфидную связь, которая подвержена перетасовке дисульфидной связи из-за наличия третьего цистеина в линкерном участке.

Наконец, исследовали активность трех цистеиновых мутантов X-LC-H<sub>N</sub> в культивируемых нейронах. Как показано на фиг. 3E, мутирование цистеина в LC (C423S) аннулировало активность X-LC-H<sub>N</sub>, о чем свидетельствует отсутствие расщепления VAMP2 в нейронах. Мутация одного из двух цистеинов в H<sub>N</sub> (C461 или C467) не оказывала значительного влияния на активность X-LC-H<sub>N</sub> по сравнению с X-LC-H<sub>N</sub> дикого типа (WT) (фиг. 3E). Эти результаты подтвердили, что межцепочечная дисульфидная связь важна для активности VoNT/X, и продемонстрировали, что функциональная межцепочечная дисульфидная связь может быть образована либо через C423-C461, либо через C423-C467.

### **Создание VoNT/X полной длины путем опосредованного сортазой лигирования**

Для оценивания того, что VoNT/X является функциональным токсином, было необходимо создать и протестировать VoNT/X полной длины. Однако VoNT являются одними из наиболее опасных потенциальных биотеррористических средств. Поэтому, были приняты необходимые меры предосторожности, и ген активного токсина полной длины не создавали. Вместо этого разрабатывали подход для создания ограниченных количеств VoNT полной длины в тестовых пробирках в контролируемых условиях путем ферментативного лигирования двух нетоксичных фрагментов VoNT. В этом способе используется транспептидаза, известная как сортаза, которая распознает специфические пептидные мотивы и ковалентно связывает два пептида вместе, образуя нативную пептидную связь (фиг. 4A). Этот подход ранее использовался для создания химерных токсинов и других белков слияния<sup>50, 51</sup>.

Создавали сконструированную сортазу А, известную как SrtA\*, из *Staphylococcus aureus*<sup>51</sup>. SrtA\* распознает пептидный мотив LPXTG (SEQ ID NO: 57), расщепляет между T-G и одновременно формирует новую пептидную связь между белком, содержащим LPXTG (SEQ ID NO: 57), с другими белками/пептидами, содержащими один или несколько N-концевых глицинов (фиг. 4А). Получали два нетоксичных фрагмента ВоNT/X: (1) LC-Н<sub>N</sub> с мотивом LPETGG (SEQ ID NO: 58) и His6-меткой, слитой с С-концом; (2) Н<sub>C</sub> ВоNT/X (X-Н<sub>C</sub>) с меткой GST и сайтом расщепления тромбином на своем N-конце. Разрезание тромбином высвобождает X-Н<sub>C</sub> со свободным глицином на N-конце. Инкубация этих двух фрагментов с SrtA\* создавала ограниченное количество ~150-кДа ВоNT/X полной длины, содержащего короткий линкер (LPETGS, SEQ ID NO: 59) между LC-Н<sub>N</sub> и Н<sub>C</sub> (фиг. 4А-4В).

Наблюдали, что X-Н<sub>C</sub> демонстрировал сильную тенденцию к агрегации в растворе по неизвестным причинам при разрезании его от метки GST, что может быть причиной низкой эффективности лигирования для ВоNT/X (фиг. 4В). Напротив, лигирование X-LC-Н<sub>N</sub> с Н<sub>C</sub> ВоNT/A (А-Н<sub>C</sub>) с использованием того же подхода достигало гораздо более высокой эффективности, при этом большинство X-LC-Н<sub>N</sub> лигировали в химерный токсин ХА полной длины (фиг. 8А).

### **ВоNT/X является активным в культивируемых нейронах**

Для анализа активности ВоNT/X полной длины применяли культивируемые кортикальные нейроны крысы в качестве модельной системы. Нейроны подвергали смеси для опосредованного сортазой лигирования и различным контрольным смесям в среде. Клеточные лизаты собирали через 12 часов и выполняли анализ иммуноблоттинга для проверки расщепления белков SNARE. Как показано на фиг. 4С, X-LC-Н<sub>N</sub> отдельно расщеплял некоторое количество VAMP2 благодаря его высокой концентрации в реакционной смеси. Контрольная смесь, содержащая X-LC-Н<sub>N</sub> и X-Н<sub>C</sub>, а не сортазу, слегка усиливала расщепление VAMP2 по сравнению с X-LC-Н<sub>N</sub> отдельно. Этот результат подтверждает, что X-Н<sub>C</sub> может быть связан с X-LC-Н<sub>N</sub> путем нековалентных взаимодействий. Это взаимодействие, по-видимому, является специфическим, поскольку контрольная смесь, содержащая X-LC-Н<sub>N</sub> и А-Н<sub>C</sub>, показывала тот же уровень расщепления VAMP2, что и X-LC-Н<sub>N</sub> отдельно (фиг. 8В). Лигирование X-LC-Н<sub>N</sub> и X-Н<sub>C</sub> сортазой усиливало расщепление VAMP2 по смеси X-LC-Н<sub>N</sub> и X-Н<sub>C</sub> без сортазы (фиг. 4С), демонстрируя, что лигированный ВоNT/X полной длины может проникать в нейроны и расщеплять VAMP2. Подобным образом, лигированный химерный токсин ХА полной длины также проникал в нейроны и расщеплял VAMP2 (фиг. 8В).

Смешивание X-H<sub>C</sub> с X-LC-H<sub>N</sub> увеличивало количества агрегатов в верхней части геля SDS-PAGE по сравнению с X-LC-H<sub>N</sub> отдельно. Эти агрегаты исчезали в присутствии DTT, что позволяет предположить, что часть X-H<sub>C</sub> формировала межмолекулярную дисульфидную связь с X-LC-H<sub>N</sub>. Присутствие DTT также увеличивало количество лигированного VoNT/X полной длины, что указывает на то, что часть VoNT/X агрегировала через межмолекулярную дисульфидную связь (фиг. 4B). Образование этих агрегатов может значительно снизить эффективные концентрации мономера токсина в растворе. Это может быть присущим недостатком последовательности VoNT/X. X-H<sub>C</sub> содержит один цистеин (C1240), и мутирование этого цистеина не влияло на активность лигированного VoNT/X (фиг. 9). Кроме того, мутант C1240S может быть объединен с мутациями C461S или C467S в X-LC-H<sub>N</sub> с созданием модифицированного VoNT/X без свободных цистеинов (фиг. 9). Эти мутантные токсины поддерживали те же уровни активности, что и VoNT/X WT, но являются более стабильным в раствор как мономеры, чем VoNT/X WT.

#### **VoNT/X индуцировал атрофический паралич *in vivo* у мышей**

*In vivo* активность VoNT/X проверяли с использованием хорошо установленного нелетального анализа на мышах, известного как показатель отведения пальца (DAS). С помощью данного анализа измеряют локальный мышечный паралич после инъекции VoNT в мышцы задней конечности мыши<sup>52, 53</sup>. VoNT вызывает атрофический паралич мышц конечности, который может быть выявлен по неспособности растопырить пальцы при стартл-рефлексе. Активированную сортазой реакционная смесь (фиг. 4B, дорожка 7) вводили инъекцией в икроножные мышцы правой задней конечности у мышей. В пределах 12 часов в правой конечности развивался типичный атрофический паралич, и пальцы не могли растопыриваться (фиг. 4D). Эти результаты подтверждают, что VoNT/X способен вызывать атрофический паралич *in vivo*, как и другие VoNT.

#### **VoNT/X не распознавался антисывороткой, вырабатываемой против всех известных VoNT**

Для дополнительного подтверждения того, что VoNT/X является серологически уникальным VoNT, выполняли дот-блот-анализы с использованием антисыворотки, вырабатываемой против известных VoNT, в том числе всех семи серотипов, а также одного мозаичного токсина (VoNT/DC). Использовали четыре лошадиных антисыворотки (трехвалентное антитело против VoNT/A, B и E, антитело против VoNT/C, антитело против VoNT/DC и антитело против VoNT/F), а также две антисыворотки козы (антитело против VoNT/G и антитело против VoNT/D). Все эти антисыворотки были способны

нейтрализовать соответствующие им целевые BoNT и предотвращали расщепление белков SNARE в нейронах (фиг. 10), что тем самым подтверждало их специфичность и эффективность. Как показано на фиг. 4E, данные антисыворотки распознавали соответствующие им целевые токсины, но ни одна из них не распознавала BoNT/X. Следует отметить, что антисыворотки, вырабатываемые против BoNT/DC и BoNT/C перекрестно реагировали друг с другом, поскольку они обладают высокой степенью подобия в их Нс. Данный результат доказывал то, что BoNT/X является новым серологическим типом BoNT.

### **Неактивный BoNT/X полной длины**

Наконец, исследовали возможность получения BoNT/X в виде растворимого белка. Чтобы обеспечить требование биобезопасности, вводили мутации в LC BoNT/X, которые инактивируют его токсичность. Показали, что мутации по двум остаткам R362A/Y365F в BoNT/A инактивируют протеазную активность LC *in vitro* и устраняют токсичность BoNT/A полной длины у мышей *in vivo*<sup>54-56</sup>. Эти два остатка являются консервативными во всех BoNT, в том числе в BoNT/X. Поэтому, вводили соответствующие мутации в эти два сайта (R360A/Y363F в BoNT/X). Как показано на фиг. 4F, эту полноразмерную инактивированную форму BoNT/X (BoNT/X<sub>RY</sub>) получали и очищали как His6-меченный белок в *E. coli* рекомбинантно. Он не обладает какой-либо активностью в отношении нейронов, поскольку VAMP2 не расщепляется в нейронах (фиг. 11).

Существенная часть BoNT/X<sub>RY</sub> формировала агрегаты в верхней части геля SDS-PAGE (фиг. 4F). Вероятно, это объясняется формированием межмолекулярной дисульфидной связи из дополнительного цистеина в линкерном участке и цистеина в Нс, поскольку добавлением DTT превращало агрегаты в мономерный BoNT/X<sub>RY</sub> (фиг. 4F). Мутирование этих цистеинов не влияет на активность BoNT/X (фиг. 9) и полезно тем, что предотвращает образование межмолекулярной дисульфидной связи и агрегацию BoNT/X.

Неактивная форма BoNT/X может использоваться в качестве среды-носителя для доставки терапевтических средств в нейроны. Инактивация может быть достигнута мутациями в любом из следующих остатков или в их комбинациях: R360, Y363, H227, E228 или H231, причем последние три остатка образуют консервативный мотив протеазы.

### **Очистка неактивного BoNT/X полной длины в промышленном масштабе**

Исследовали возможность очистки BoNT/X полной длины до высокой степени чистоты и с хорошим выходом, что будет важно для промышленного получения BoNT/X (или его производных) в качестве терапевтического токсина. Тестировали некоторые параметры клеточного роста и экспрессии, такие как температура, время индуцирования и

концентрации IPTG. Оптимальными параметрами, выбранными для экспрессии белка, были культивирование клеток при 37°C до тех пор, пока они не достигали экспоненциального роста, на этой стадии температуру снижали до 18°C, а экспрессию индуцировали добавлением 1 mM IPTG в среду. Затем клетки культивировали в течение 16-18 часов до сбора. Присутствие VoNT/X подтверждали с помощью SDS-PAGE и показывали высокий уровень надэкспрессии в растворимой фракции (фиг. 11B).

Для оптимизации процесса получения выполняли несколько испытаний очистки в лабораторных масштабах. Механический клеточный лизис с использованием Emulsiflex-C3 (Avestin, Mannheim, Germany) был предпочтительным способом для экстракции внутриклеточного белка и оказался более эффективным, чем обработка ультразвуком. Различные буферные условия также подлежали оценке для оптимального извлечения VoNT/X. Восстановитель был включен в процесс очистки и значительно уменьшил склонность к нежелательной агрегации. Кроме того, глицерин был использован в качестве добавки на ранней стадии процесса очистки и улучшал стабильность белка.

Конструкция VoNT/X была экспрессирована с HIS6-меткой, которую можно использовать для аффинной хроматографии в качестве первой стадии очистки. Для испытания лабораторного масштаба использовали 5-мл колонку HisTrapFF (GE Healthcare, Danderyd, Sweden). Для достижения максимальной чистоты исходной хроматографии тестировали различные концентрации имидазола. VoNT/X элюировали из концентрации 100 mM имидазола; однако основная примесь легко очищалась совместно с токсином. Эта примесь, по-видимому, неспецифически взаимодействует с VoNT/X и была идентифицирована с помощью масс-спектрометрии как белок-хозяин *E. coli* (бифункциональный белок полимиксиновой устойчивости AgnA). Присутствие этой примеси резко снижалось при введении высокой концентрации соли (500 mM NaCl) и при проведении дополнительной стадии промывания при 100 mM имидазола во время очистки. Это позволило элюировать более чистую фракцию VoNT/X при 250 mM имидазола. Эта более поздняя фракция может быть затем обработана эксклюзионной хроматографией.

После этого этот протокол расширяли в масштабе путем пересчета на 12 л среды с условиями, описанными выше. Кроме того, получали матрицу более высокоаффинной хроматографии, состоящую из 15 мл Protino® Ni-NTA агарозы (Macherey-Nagel, Düren, Germany) для повышения выхода извлеченного VoNT/X. Стадию конечной очистки выполняли эксклюзионной хроматографией с использованием колонки Superdex200-16/60 (GE Healthcare, Danderyd, Sweden). С использованием этого способа достигали чистоты от 85 до 90% (фиг. 11C). Белок мог быть концентрирован (с использованием концентратора Vivaspin с порогом 100 кДа; GE Healthcare, Danderyd, Sweden) и казался стабильным до 10 мг/мл. Полные подробности процесса получения описаны ниже. Выход полученного

BoNT/X составлял приблизительно 3 мг на литр клеточной культуры. Вместе эти результаты продемонстрировали, что BoNT/X может быть очищен в промышленном масштабе до высокой степени чистоты.

Следует отметить, что очистку выполняли в присутствии восстановителя, который мог восстанавливать дисульфидную связь между LC и HC так, что очищенный токсин не мог быть активным. Однако сконструированное производное BoNT/X, содержащее мутации по цистеиновым сайтам (одну мутацию в C461 или C467, объединенную с мутацией в C1240), могло быть очищено без восстановителей. Следует отметить, что неактивная форма BoNT/X (и его производное с цистеиновыми мутациями) может быть использована как среда-носитель для доставки терапевтических средств в нейроны. Инактивация может быть достигнута путем мутаций по любому из следующих остатков или их комбинаций: R360, Y363, H227, E228 или H231 (последние три остатка из консервативного протеазного мотива).

### **Идентификация ганглиозидов в качестве рецепторов для BoNT/X**

Ганглиозиды являются хорошо установленными липидными корецепторами для всех BoNT, и мотив связывания ганглиозида является достаточно консервативным в BoNT/X (фиг. 1C). Использовали высокоочищенный неактивный BoNT/X полной длины для изучения связывания BoNT/X с нейрональными клетками через ганглиозиды. Разрабатывали *in vitro* анализ ELISA для тестирования взаимодействия с четырьмя основными ганглиозидами головного мозга: GD1a, GD1b, GT1b и GM1. A-LC применяли в качестве отрицательного контроля для оценивания неспецифического связывания. Выполняли прямое сравнение с доменом связывания с рецептором BoNT/A (A-HC). Связывание белков выявляли с использованием антитела против His6-метки. Выяснили, что BoNT/X демонстрировал зависимое от дозы связывание со всеми четырьмя ганглиозидами на уровне неспецифического связывания A-LC (фиг. 12), что подтверждало тот факт, что BoNT/X способен использовать все четыре ганглиозида головного мозга в качестве корецепторов. В соответствии с предыдущими сообщениями BoNT/A отдавал равное предпочтение GD1a и GT1b (фиг 12F) и их терминальному фрагменту NAcGal-GalNAcNeu (с очевидными значениями EC50 0,7 и 1,0 мкМ, соответственно, при использовании сигмоидальной модели доза-ответ). Напротив, BoNT/X показывал более высокую аффинность для GD1b и GM1 по сравнению с GD1a и GT1b (фиг 12E). Это позволяет предположить, что BoNT/X характеризуется предпочтительным паттерном распознавания сиаловой кислоты, также наблюдаемым в BoNT/B и TeNT. BoNT/X обладает консервативным мотивом SxWY в гомологичном местоположении с одним из других токсинов. Тот факт, что может распознавать все четыре ганглиозида, хотя и с

низкой аффинностью, может свидетельствовать о множественных сайтах связывания углеводов.

### *Обсуждение*

Было идентифицировано восемь серотипов BoNT за 45 лет после идентификации последнего основного серотипа BoNT. BoNT/X обладает наименьшей идентичностью белковых последовательностей по отношению к любым другим BoNT и TeNT из данного семейства токсинов, и такой низкий уровень идентичности равномерно распределен по последовательности токсина. Как и предполагали, BoNT/X не распознавался никакой антисывороткой, вырабатываемой против известных BoNT. Он явно представляет уникальную и отличную эволюционную ветвь семейства токсинов.

BoNT/X был выявлен путем поиска геномных последовательностей штаммов *Clostridium botulinum* и представляет первый основной тип токсина, идентифицированный с помощью геномного секвенирования и биоинформационного подхода. Штамм 111, который содержит ген BoNT/X, изначально идентифицировали у больного ботулизмом пациента-младенца в 1990-х годах. Предварительные характеристики с использованием классического анализа нейтрализации установили, что BoNT/B2 является основным токсином этого штамма. Вероятно, что BoNT/X является молчащим геном токсина, или он не экспрессировался при выявляемых уровнях токсичности в условиях культивирования в лаборатории. Следовательно, его можно идентифицировать только путем секвенирования штамма 111. Это иллюстрирует важность геномного секвенирования и подходов биоинформатики для понимания микробных вирулентных факторов.

Молчащие гены BoNT часто идентифицировали в различных штаммах *Clostridium botulinum*. Не ясно, почему эти бактерии содержат молчащий ген токсина. Это может быть эволюционно вырожденный ген. Это явно тот случай, когда молчащие гены токсина содержат мутации преждевременного стоп-кода. Однако имеются также случаи, когда молчащий ген кодирует BoNT полной длины. Вопрос о том, могут ли эти молчащие BoNT полной длины экспрессироваться и проявлять токсичность при определенных условиях окружающей среды, остается интригующим вопросом.

Общие трехдоменные структуры и функции BoNT хорошо сохраняются в BoNT/X, но у него также есть несколько уникальных характеристик: (1) он использует VAMP в качестве своей цели в нейронах как и BoNT/B, D, F и G, но он разрезает VAMP по новому сайту (R66-A67 в VAMP2), который является уникальным для этого токсина. Это еще больше расширяет репертуар токсинов, которые можно использовать для удаления VAMP в разных участках. (2) Межцепочечная дисульфидная связь, соединяющая LC и H<sub>N</sub>, сохраняется в BoNT/X, но она также содержит уникальный дополнительный цистеин в



линкерном участке, который может привести к перетасовке дисульфидной связи. Дополнительный цистеин на  $H_N$  не является существенным для активности LC- $H_N$  (фиг. 3D), и его мутирование имеет преимущество в предотвращении образования межмолекулярной дисульфидной связи (фиг. 3D, 4B).

His6-меченый фрагмент X-LC- $H_N$  стабилен в буферах в качестве рекомбинантных белков. Он показал более высокий уровень активности на нейронах, чем A-LC- $H_N$  и B-LC- $H_N$  (фиг. 3B), что подтверждает, что его мембранная транслокационная и/или протеазная активность может быть более эффективной, чем у соответствующих фрагментов в VoNT/A и VoNT/B. X-LC- $H_N$  может быть полезным реагентом для нацеливания на VAMP1/2/3 в широком диапазоне типов клеток и тканей, поскольку его проникновение может не ограничиваться нейронами. Например, он потенциально может быть использован для уменьшения боли в локальной области путем воздействия как на сенсорные нейроны, так и на другие клетки, которые секретируют воспалительные сигналы. Его также можно использовать для получения химерных токсинов, таких как Ха (фиг. 8).

X- $H_C$  является функциональным, так как его присутствие усиливает расщепление VAMP2 в нейронах по сравнению с LC- $H_N$  отдельно (фиг. 4C). Однако X- $H_C$  может иметь некоторые неблагоприятные характеристики, которые еще предстоит оценить. Например, достаточные уровни растворимого X- $H_C$  были получены только тогда, когда он был слит с GST, который, как известно, облегчает сворачивание/растворимость белка, но не с His6-меткой. После освобождения от метки GST X- $H_C$  склоняется к агрегации. Кроме того, цистеин в X- $H_C$  также может образовывать межмолекулярную дисульфидную связь (фиг. 4B). Неактивный VoNT/X полной длины может быть очищен и может существовать в виде растворимого белка, что позволяет предположить, что проблема растворимости с X- $H_C$  может, по меньшей мере частично, объясняться отделением этого домена от X-LC- $H_N$ . Например, X-LC- $H_N$  может взаимодействовать с X- $H_C$  и покрывать его потенциальные гидрофобные сегменты в контексте полной длины, что не является чем-то необычным для многодоменного белка.

Ганглиозиды уже давно установлены как нейрональные рецепторы для всех подтипов VoNT. Показали, что VoNT/X может связываться со всеми четырьмя наиболее распространенными ганглиозидами: GD1a, GD1b, GT1b и GM1. Кроме того, он характеризуется заметной разницей в аффинности и специфичности по сравнению с VoNT/A. Это интригующее свойство, так как другие VoNT, по-видимому, имеют различные степени предпочтения по отношению к подгруппе ганглиозидов. Например, VoNT/A, E, F и G предпочитают GD1a и GT1b. VoNT/X может потенциально распознавать более широкий спектр типов нейронов по сравнению с другими VoNT.

Возможно, что VoNT/X обладает низкой токсичностью *in vivo*, что может объяснить тот факт, почему активность VoNT/X не была выявлена в первоначальном исследовании штамма 111. Если это так, то пониженная токсичность, вероятно, обусловлена его доменом Н<sub>С</sub>, поскольку X-LC-Н<sub>Н</sub> представляется более активным, чем A-LC-Н<sub>Н</sub> и B-LC-Н<sub>Н</sub>. Образование межмолекулярной дисульфидной связи может также снизить эффективную концентрацию токсина. Для определения его активности *in vivo* необходимо будет получить нативный VoNT/X полной длины, но будет важно создать нейтрализующую антисыворотку с использованием нетоксичных фрагментов VoNT/X до продуцирования токсина полной длины.

Введение гена активного токсина полной длины в любые системы/организмы экспрессии всегда является серьезной проблемой в области биобезопасности, и это стало серьезным препятствием для исследования структурных функций биологических токсинов. Это особенно важно для VoNT, так как они являются одним из шести потенциальных биотеррористических средств категории А<sup>4</sup>. В соответствии с настоящим изобретением разрабатывали способ биохимической сборки ограниченного количества токсина полной длины из двух комплементарных и нетоксичных фрагментов. Каждый фрагмент экспрессируется и очищается индивидуально, а затем лигируется вместе с помощью сортазы в тестовых пробирках. Другие способы лигирования белков, такие как интеиновые системы расщепления, которые сливают два фрагмента белка посредством транс-сплайсинга белка, также могут быть использованы<sup>57</sup>. Контролируя количество фрагментов-предшественников в реакции, можно строго контролировать количество лигированного токсина полной длины. Такой «полусинтетический» подход может быть использован для получения мультидоменных биологических токсинов и других токсичных белков в контролируемых условиях. Он также предоставляет универсальную платформу для создания слитых и химерных токсинов, таких как замещение Н<sub>С</sub> двух VoNT, замена Н<sub>С</sub> VoNT другими целевыми белками или присоединение дополнительного груза к токсинам. Поскольку никогда не образуется cDNA токсина полной длины, и экспрессия токсинов в бактериях или любых других живых организмах отсутствует, этот подход значительно смягчает проблемы биобезопасности, связанные с продуцированием токсинов дикого типа и мутантных токсинов, и будет значительно облегчать исследования структурных функций биологических токсинов и токсичных белков.

#### *Материалы и способы*

**Материалы:** Моноклональные антитела мыши против синтаксина 1 (HPC-1), SNAP-25 (C171.2) и VAMP2 (C169.1) были любезно предоставлены E. Chapman (Madison, WI) и доступны от Synaptic Systems (Goettingen, Germany). Моноклональное антитело

мышь против актина приобретали в Sigma (AC-15). Лошадиную поликлональную антисыворотку против VoNT/A/B/E, VoNT/C, VoNT/DC, VoNT/F и козью поликлональную антисыворотку против VoNT/G получали от FDA. Козье поликлональное антитело против VoNT/D приобретали в Fisher Scientific (NB10062469). VoNT/A, VoNT/B, VoNT/C, VoNT/DC, VoNT/E, VoNT/F и VoNT/G приобретали в Metabionics (Madison, WI). VoNT/D был любезно предоставлен E. Johnson (Madison, WI).

**cDNA и конструкции:** Синтезировали cDNA, кодирующие X-LC (остатки 1-439) и X-H<sub>C</sub> (остатки 893-1306). cDNA, кодирующую X-H<sub>N</sub> получали в собственной лаборатории с использованием способа сборки Gibson. cDNA, кодирующие A-LC (остатки 1-425, M30196) и B-LC (остатки 1-439, AB232927) синтезировали с помощью GenScript (New Brunswick, NJ). Эти LC клонировали в векторы pET28 для экспрессии в виде His<sub>6</sub>-меченных белков. X-H<sub>C</sub> клонировали в pGEX4T для экспрессии в виде GST-меченного белка. X-LC-H<sub>N</sub>, A-LC-H<sub>N</sub> и B-LC-H<sub>N</sub> субклонировали в вектор pET28, при этом пептидная последовательность LPETGG (SEQ ID NO: 58) сливалась с их C-концами, и очищали как His<sub>6</sub>-меченные белки. Неактивную форму VoNT/X полной длины собирали в собственной лаборатории из мутантного X-LC (R360A/Y363F), X-H<sub>N</sub> и X-H<sub>C</sub>. Ее клонировали в вектор pET28, при этом His<sub>6</sub>-метка сливалась с C-концом VoNT/X. cDNA, кодирующая VAMP2 крысы, была любезно предоставлена E. Chapman (Madison, WI). VAMP2 (1-96) был клонирован в вектор pET28 и экспрессирован как His<sub>6</sub>-меченный белок. VAMP2 (33-86) был клонирован в вектор pGEX4T и экспрессирован как GST-меченный белок. cDNA, кодирующая мышинный VAMP1, VAMP3, крысиный VAMP7 и VAMP8, была любезно предоставлена С. Ну (Louisville, KY). Их клонировали в модифицированные векторы pсDNA3.1, при этом метка HA слита с их C-концами. Конструкция, кодирующая His<sub>6</sub>-меченную сортазу (SrtA\*), была любезно предоставлена В. Pentelute (Boston, MA) и была описана ранее<sup>51</sup>.

**Биоинформатика:** Выполняли поиск по базе данных Uniprot с JackHMMER на веб-сервере HMMER с использованием последовательности VoNT типа А (номер доступа в Uniprot A5HZZ9) до конвергенции. Возвращенные последовательности выравнивали с Clustal Omega и филогенетической сетью NeighborNet, оцениваемой с SplitsTree4.

**Очистка белка:** *E. coli* BL21 (DE3) использовали для экспрессии белка. Индуцирование экспрессии выполняли с 0,1 мМ IPTG при 22°C на протяжении ночи. Бактериальные осадки разрушали в буфере для лизиса (50 мМ Tris, pH 7,5, 150 мМ NaCl) с помощью обработки ультразвуком и надосадочные жидкости собирали после центрифугирования при 20000 g в течение 30 минут при 4°C. Очистку белка выполняли с использованием системы АКТА Prime FPLC (GE) и очищенные белки далее обессоливали с колонкой PD-10 (GE, 17-0851-01). В частности, неактивный VoNT/X полной длины

(BoNT/X<sub>RY</sub>) клонировали в вектор pET22b. Соответствующую плазмиду трансформировали в компетентные клетки *E. coli* BL21 (DE3). Полученные в результате колонии применяли для инокуляции 100 мл культивируемых на протяжении ночи культур в среде ТВ, содержащей 100 мкг/мл карбенициллина, в 250-мл встряхиваемой колбе и выращивали при 37°C. Культуры для экспрессии сначала выращивали с использованием LEX Bioreactor (EpiPhyte3, Ontario, Canada) при 37°C в 1,5 л среды ТВ до достижения OD<sub>600</sub> 0,8. Затем температуру снижали до 18°C для индуцирования экспрессии с 1 mM IPTG и выращивали в течение 16-17 часов. Клетки собирали и повторно суспендировали на льду в 50 mM HEPES, pH 7,2, 500 mM NaCl, 25 mM имидазола, 5% глицерина, 2 mM TCEP для обеспечения лизиса клеток с Emulsiflex-C3 (Avestin, Mannheim, German) при 20000 фунтов на квадратный дюйм. Лизат ультрацентрифугировали при 200000 g в течение 45 минут при 4°C. Надосадочную жидкость загружали в колонку с 15 мл агарозы Protino® Ni-NTA (Macherey-Nagen, Düren, Germany), которую затем промывали 50 mM HEPES, pH 7,2, 500 mM NaCl, 100 mM имидазола, 5% глицерина, 1 mM TCEP. Элюирование выполняли с 50 mM HEPES, pH 7,2, 500 mM NaCl, 250 mM имидазола, 5% глицерина, 1 mM TCEP. Элюат диализировали на протяжении ночи в 50 mM HEPES, pH 7,2, 500 mM NaCl, 5% глицерина, 0,5 mM TCEP при 4°C. Диализат концентрировали с использованием концентратора Vivaspin (порог отсечения 100 кДа, GE Healthcare, Danderyd, Sweden) перед загрузкой в колонку Superdex200-16/60 (GE Healthcare, Danderyd, Sweden), предварительно уравновешенную тем же буфером, что использовали для диализа. Пик элюирования, соответствующий BoNT/X, собирали и концентрировали так, что конечный образец имел концентрацию 10 мг/мл. Образец аликвотировали и молниеносно замораживали в жидком азоте для хранения при -80°C.

**Анализ связывания ганглиозида:** Очищенные ганглиозиды GD1a, GD1b, GT1b и GM1 (Carbosynth, Compton, UK) растворяли в DMSO и разбавляли метанолом до достижения конечной концентрации 2,5 мкг/мл; 100 мкл вносили в каждую лунку 96-луночного PVC аналитического планшета (№ по каталогу 2595, Corning; Corning, NY). После выпаривания растворителя при 21°C лунки промывали 200 мкл PBS/0,1% (масса/объем) BSA. Сайты неспецифического связывания блокировали путем инкубации в течение 2,5 часа при 4°C в 200 мкл PBS/2% (масса/объем) BSA. Анализы связывания выполняли в 100 мкл PBS/0,1% (масса/объем) BSA на лунку в течение 1 часа при 4°C с содержанием образцов (в трех повторностях) при концентрациях, варьирующих от 6 мкМ до 0,05 мкМ (в серийном 2-кратном разведении). После инкубации лунки промывали три раза с помощью PBS/0,1% (масса/объем) BSA и инкубировали с HRP-конъюгированным моноклональным антителом против бxHis (1:2000, ThermoFisher) в течение 1 часа при 4°C. После трех стадий промывания с PBS/0,1% (масса/объем) BSA связанные образцы

выявляли с использованием Ultra-TMB (100 мкл/лунка, ThermoFisher) в качестве субстрата. Реакцию останавливали после 15 минут путем добавления 100 мкл 0,2 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и измеряли поглощение при 450 нм с использованием устройства для считывания планшетов Infinite M200PRO (Tecan, Männedorf, Switzerland). Данные анализировали с Prism7 (программное обеспечение GraphPad).

**Расщепление белков SNARE в экстрактах в поверхностно-активном веществе головного мозга крысы (BDE):** BDE крысы получали из свежеессеченного головного мозга взрослых крыс, как описано ранее<sup>58</sup>. Вкратце, головной мозг крысы гомогенизировали в 15 мл 320 мМ сахарозного буфера, а затем центрифугировали при 5000 оборотах в минуту в течение 2 минут при 4°C. Надосадочные жидкости собирали и центрифугировали при 11000 оборотах в минуту в течение 12 минут. Осадок собирали и солюбилизировали в течение 30 минут в 15 мл Tris-буферного солевого раствора (TBS: 20 мМ Tris, 150 мМ NaCl) плюс 2% Triton X-100 и коктейль ингибиторов протеазы (Roche, CA). Затем образцы центрифугировали при 17000 оборотах в минуту в течение 20 минут для удаления нерастворимых материалов. Конечная концентрация BDE составляет ~ 2 мг/мл белков. BDE (60 мкл) инкубировали с X-LC (0,5 мкМ), A-LC (1 мкМ) или B-LC (1 мкМ), соответственно, в течение 1 часа при 37°C, а затем анализировали с помощью иммуноблоттинга с использованием способа усиленной хемилюминесценции (ECL) (Pierce). В качестве контролей LC предварительно инкубировали с 20 мМ EDTA в течение 20 минут при комнатной температуре (RT) для деактивации их активности перед добавлением в BDE.

**Расщепление рекомбинантного VAMP с помощью X-LC:** VAMP2 (1-96) экспрессировали и очищали как His6-меченный белок, а VAMP2 (33-86) экспрессировали и очищали как GST-меченный белок. Эти белки (0,6 мг/мл) инкубировали с 0,1 мкМ X-LC в буфере TBS в течение 1 часа при 37°C. Образцы либо анализировали с помощью геля SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим, либо подвергали анализу масс-спектрометрии.

**Расщепление VAMP в клеточных лизатах:** HA-меченные VAMP1, 3, 7 и 8 полной длины трансфицировали в клетки HEK293 с использованием реагентов трансфекции PolyJet (SignaGen, MD) согласно инструкции изготовителя. Клеточные лизаты собирали через 48 часов в буфер RIPA (50 мМ Tris, 1% NP40, 150 мМ NaCl, 0,5% дезоксихолата натрия, 0,1% SDS, 400 мкл на 10-см чашку) плюс коктейль ингибиторов протеазы (Sigma-Aldrich). Клеточные лизаты (250 мкл) инкубировали с X-LC (0,5 мкМ) в течение 1 часа при 37°C. Затем образцы анализировали с помощью иммуноблоттинга.

**Анализ цельного белка с помощью LC-MS/MS:** Образцы анализировали в профильном центре биологической масс-спектрометрии Tarlin в Медицинской школе Harvard. Вкратце, образцы цельного белка загружали в колонку с 100-мкм внутренним

диаметром C18 для обращенно-фазовой HPLC, упакованную 3 см гранул в автономном режиме с использованием ячейки давления. Колонку повторно присоединяли к насосу Accela 600 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Использовали быстрый градиент повышающегося ацетонитрила для элюирования белка/пептида из колонки HPLC. По мере элюирования пептидов их подвергали ионизации электрораспылением, а затем вводили в масс-спектрометр LTQ Orbitrap Velos Pro с ионной ловушкой (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) для осуществления FTMS-сканирования с высоким разрешением при разрешении 60000, второго сканирования с низким разрешением в ионной ловушке и окончательного сканирования для выполнения зависимой от данных MS/MS. «Конверты» в заряженном состоянии извлекали вручную, чтобы получить моноизотопные массы, когда это возможно, или средние массы для белков. Идентичность пептидов и белков определяли путем сопоставления баз данных белков с полученным паттерном фрагментации с помощью программного обеспечения Sequest (Thermo Fisher Scientific). Все базы данных содержат обратную версию всех последовательностей, и данные были отфильтрованы до уровня ложноположительных результатов обнаружения пептида от одного до двух процентов.

**Идентификация сайта расщепления протеазой между LC и H<sub>N</sub>:** His6-меченный рекомбинантный фрагмент X-LC-H<sub>N</sub> (остатки 1-891) очищали в *E. coli* и подвергали ограниченному протеолизу с помощью эндопротеиназы Lys-C (Sigma P2289, молярное отношение 100:1 (токсин: Lys-C), 25 минут при комнатной температуре). Сайт расщепления определяли путем мечения Tandem Mass Tag (TMT) и подхода тандемной масс-спектрометрии. Вкратце, интактные образцы X-LC-H<sub>N</sub> метили легкой TMT и равное количество образцов X-LC-H<sub>N</sub> подвергали Lys-C, а затем метили тяжелой TMT. И те, и другие образцы затем расщепляли химотрипсином, объединяли вместе и подвергали количественному анализу масс-спектрометрии.

**Алкилирование цистеина с помощью NEM:** Lys-C активированный фрагмент X-LC-H<sub>N</sub> разбавляли в натрийфосфатном буфере (10 mM, pH 6,5) при конечной концентрации 0,3 мг/мл, с NEM или без такового при указанных концентрациях (20, 10 и 5 mM) и инкубировали в течение 10 минут при RT. NEM получали свежим в натрийфосфатном буфере. Образцы смешивали с 3 × нейтральным Loading Dye (200 mM Tris, pH 6,8, 30% глицерина, 6% додецилсульфата лития, 10 mM NEM и 0,06% BPB). Для образцов без NEM использовали тот же 3 × SDS Loading Dye без NEM. Образцы далее инкубировали с Loading Dye при RT в течение 10 минут, нагревали в течение 10 минут при 55°C, а затем анализировали с помощью SDS-PAGE и окрашивания кумасси синим.

**Культура нейронов и анализ иммуноблоттинга:** Первичные кортикальные нейроны крысы получали из зародышей E18-19 с использованием набора диссоциации

папаином (Worthington Biochemical, NJ), как авторы настоящего изобретения описывали ранее<sup>58</sup>. Эксперименты выполняли в DIV 14-16. Нейроны подвергали фрагментам BoNT/X или смеси для опосредованного сортазой лигирования в среде в течение 12 часов. Затем клетки промывали и лизировали буфером RIPA (50 мМ Tris, 1% NP40, 150 мМ NaCl, 0,5% дезоксихолата натрия, 0,1% SDS) плюс коктейль ингибиторов протеазы (Sigma-Aldrich). Лизаты центрифугировали в течение 10 минут при максимальной скорости с использованием микроцентрифуги при 4°C. Надосадочные жидкости подвергали SDS-PAGE и анализу иммуноблоттинга.

**Дот-блот:** BoNT (0,2 мкг в 1 мкл) пятнами наносили на нитроцеллюлозные мембраны и сушили (10 минут при комнатной температуре). Мембраны блокировали 5% молоком в TBST (TBS плюс 0,05% Tween20) в течение 30 минут, а затем инкубировали с указанной антисывороткой (разведение 1:500) в течение 30 минут. Затем мембраны промывали три раза TBST и инкубировали с конъюгированными с HRP (пероксидазой хрена) вторичными антителами в течение 30 минут, промывали еще три раза с помощью TBST и анализировали способом ECL (Pierce). Следует отметить, что образец BoNT/X состоял из очищенного X-LC-H<sub>N</sub> и X-H<sub>C</sub> при отношении 1:1.

**Опосредованное сортазой лигирование:** GST-X-H<sub>C</sub> расщепляли на протяжении ночи при 4°C с помощью тромбина перед добавлением в смесь белков. Реакцию лигирования осуществляли в 50 мкл буфера TBS с добавлением X-LC-H<sub>N</sub> (8 мкМ), расщепленного тромбином GST-X-H<sub>C</sub> (25 мкМ), Ca<sup>2+</sup> (10 мМ) и сортазы (10 мкМ) в течение 40 минут при RT. На фиг. 4C нейроны подвергали 5 мкл смеси в среде в течение 12 часов. В анализе DAS, описанном на фиг. 4D, 25 мкл смеси вводили мышам инъекцией в заднюю конечность.

**Анализ DAS:** Смесь для опосредованного сортазой лигирования сначала активировали ограниченным протеолизом с использованием трипсина (молярное отношение 60:1 (общее количество белков: трипсин), 30 минут при RT). Выбирали трипсин вместо Lys-C, поскольку могли остановить протеолиз путем добавления ингибитора трипсина (соевого ингибитора трипсина, отношение 1:10 (трипсин: ингибитор трипсина)). Мышей (штамма CD-1, 21-25 г, n = 6) анестезировали изофлураном (3-4%) и вводили инъекцией смесь для опосредованного сортазой лигирования с использованием иглы 30 калибра, присоединенной к стерильным шприцам Hamilton, в икроножные мышцы правой задней конечности. BoNT приводили к параличу задней лапы в отношении стартл-рефлекса. Мышечный паралич наблюдали в пределах 12 часов после инъекции, как описано ранее<sup>52, 53</sup>.

1. Schiavo, G., Matteoli, M. & Montecucco, C. Neurotoxins affecting neuroexocytosis. *Physiol Rev* **80**, 717-766 (2000).
2. Montal, M. Botulinum neurotoxin: a marvel of protein design. *Annu Rev Biochem* **79**, 591-617 (2010).
3. Rossetto, O., Pirazzini, M. & Montecucco, C. Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nat Rev Microbiol* **12**, 535-549 (2014).
4. Arnon, S.S., *et al.* Botulinum toxin as a biological weapon: medical and public health management. *Jama* **285**, 1059-1070 (2001).
5. Pirazzini, M., *et al.* Thioredoxin and its reductase are present on synaptic vesicles, and their inhibition prevents the paralysis induced by botulinum neurotoxins. *Cell Rep* **8**, 1870-1878 (2014).
6. Pirazzini, M., *et al.* The thioredoxin reductase--Thioredoxin redox system cleaves the interchain disulphide bond of botulinum neurotoxins on the cytosolic surface of synaptic vesicles. *Toxicon* **107**, 32-36 (2015).
7. JaHN, R. & Scheller, R.H. SNAREs--engines for membrane fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol* **7**, 631-643 (2006).
8. Sudhof, T.C. & Rothman, J.E. Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins. *Science* **323**, 474-477 (2009).
9. Gu, S., *et al.* Botulinum neurotoxin is shielded by NTNHA in an interlocked complex. *Science* **335**, 977-981 (2012).
10. Lee, K., *et al.* Molecular basis for disruption of E-cadherin adhesion by botulinum neurotoxin A complex. *Science* **344**, 1405-1410 (2014).
11. Lee, K., *et al.* Structure of a bimodular botulinum neurotoxin complex provides insights into its oral toxicity. *PLoS Pathog* **9**, e1003690 (2013).
12. Sugawara, Y., *et al.* Botulinum hemagglutinin disrupts the intercellular epithelial barrier by directly binding E-cadherin. *J Cell Biol* **189**, 691-700 (2010).
13. Hill, K.K., Xie, G., Foley, B.T. & Smith, T.J. Genetic diversity within the botulinum neurotoxin-producing bacteria and their neurotoxins. *Toxicon* **107**, 2-8 (2015).
14. Johnson, E.A. Clostridial toxins as therapeutic agents: benefits of nature's most toxic proteins. *Annu Rev Microbiol* **53**, 551-575 (1999).
15. Aoki, K.R. Botulinum toxin: a successful therapeutic protein. *Curr Med Chem* **11**, 3085-3092 (2004).
16. Montecucco, C. & Molgo, J. Botulinum neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol* **5**, 274-279 (2005).
17. Dolly, J.O., Lawrence, G.W., Meng, J. & Wang, J. Neuro-exocytosis: botulinum toxins as inhibitory probes and versatile therapeutics. *Curr Opin Pharmacol* **9**, 326-335 (2009).



18. Burke, G.S. Notes on *Bacillus botulinus*. *J Bacteriol* **4**, 555-570 551 (1919).
19. Gimenez, D.F. & Ciccarelli, A.S. Another type of *Clostridium botulinum*. *Zentralbl Bakteriolog Orig* **215**, 221-224 (1970).
20. Lange, O., *et al.* Neutralizing antibodies and secondary therapy failure after treatment with botulinum toxin type A: much ado about nothing? *Clin Neuropharmacol* **32**, 213-218 (2009).
21. Dong, M., *et al.* SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A. *Science* **312**, 592-596 (2006).
22. Dong, M., *et al.* Synaptotagmins I and II mediate entry of botulinum neurotoxin B into cells. *J Cell Biol* **162**, 1293-1303 (2003).
23. Mahrhold, S., Rummel, A., Bigalke, H., Davletov, B. & Binz, T. The synaptic vesicle protein 2C mediates the uptake of botulinum neurotoxin A into phrenic nerves. *FEBS Lett* **580**, 2011-2014 (2006).
24. Nishiki, T., *et al.* Identification of protein receptor for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin in rat brain synaptosomes. *J Biol Chem* **269**, 10498-10503 (1994).
25. Schiavo, G., *et al.* Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* **359**, 832-835 (1992).
26. Schiavo, G., *et al.* Botulinum neurotoxins serotypes A and E cleave SNAP-25 at distinct COOH-terminal peptide bonds. *FEBS Lett* **335**, 99-103 (1993).
27. Blasi, J., *et al.* Botulinum neurotoxin A selectively cleaves the synaptic protein SNAP-25. *Nature* **365**, 160-163 (1993).
28. Smith, T.J., *et al.* Sequence variation within botulinum neurotoxin serotypes impacts antibody binding and neutralization. *Infect Immun* **73**, 5450-5457 (2005).
29. Hill, K.K., *et al.* Genetic diversity among Botulinum Neurotoxin-producing clostridial strains. *J Bacteriol* **189**, 818-832 (2007).
30. Montecucco, C. & Rasotto, M.B. On botulinum neurotoxin variability. *MBio* **6**(2015).
31. Dover, N., Barash, J.R., Hill, K.K., Xie, G. & Arnon, S.S. Molecular characterization of a novel botulinum neurotoxin type H gene. *J Infect Dis* **209**, 192-202 (2014).
32. Barash, J.R. & Arnon, S.S. A novel strain of *Clostridium botulinum* that produces type B and type H botulinum toxins. *J Infect Dis* **209**, 183-191 (2014).
33. Maslanka, S.E., *et al.* A Novel Botulinum Neurotoxin, Previously Reported as Serotype H, Has a Hybrid-Like Structure With Regions of Similarity to the Structures of Serotypes A and F and Is Neutralized With Serotype A Antitoxin. *J Infect Dis* (2015).
34. Kalb, S.R., *et al.* Functional characterization of botulinum neurotoxin serotype H as a hybrid of known serotypes F and A (BoNT F/A). *Anal Chem* **87**, 3911-3917 (2015).

35. Luquez, C., Raphael, B.H. & Maslanka, S.E. Neurotoxin gene clusters in *Clostridium botulinum* type Ab strains. *Appl Environ Microbiol* **75**, 6094-6101 (2009).
36. Dover, N., *et al.* *Clostridium botulinum* strain Af84 contains three neurotoxin gene clusters: bont/A2, bont/F4 and bont/F5. *PLoS One* **8**, e61205 (2013).
37. Dabritz, H.A., *et al.* Molecular epidemiology of infant botulism in California and elsewhere, 1976-2010. *J Infect Dis* **210**, 1711-1722 (2014).
38. Franciosa, G., Ferreira, J.L. & Hatheway, C.L. Detection of type A, B, and E botulism neurotoxin genes in *Clostridium botulinum* and other *Clostridium* species by PCR: evidence of unexpressed type B toxin genes in type A toxigenic organisms. *J Clin Microbiol* **32**, 1911-1917 (1994).
39. Hutson, R.A., *et al.* Genetic characterization of *Clostridium botulinum* type A containing silent type B neurotoxin gene sequences. *J Biol Chem* **271**, 10786-10792 (1996).
40. Kakinuma, H., Maruyama, H., Takahashi, H., Yamakawa, K. & Nakamura, S. The first case of type B infant botulism in Japan. *Acta Paediatr Jpn* **38**, 541-543 (1996).
41. Kozaki, S., *et al.* Characterization of *Clostridium botulinum* type B neurotoxin associated with infant botulism in Japan. *Infect Immun* **66**, 4811-4816 (1998).
42. Ihara, H., *et al.* Sequence of the gene for *Clostridium botulinum* type B neurotoxin associated with infant botulism, expression of the C-terminal half of heavy chain and its binding activity. *Biochim Biophys Acta* **1625**, 19-26 (2003).
43. Rummel, A., Bade, S., Alves, J., Bigalke, H. & Binz, T. Two carbohydrate binding sites in the H(CC)-domain of tetanus neurotoxin are required for toxicity. *J Mol Biol* **326**, 835-847 (2003).
44. Rummel, A., Mahrhold, S., Bigalke, H. & Binz, T. The HCC-domain of botulinum neurotoxins A and B exhibits a singular ganglioside binding site displaying serotype specific carbohydrate interaction. *Mol Microbiol* **51**, 631-643 (2004).
45. Rossetto, O., *et al.* SNARE motif and neurotoxins. *Nature* **372**, 415-416 (1994).
46. Masuyer, G., Beard, M., Cadd, V.A., Chaddock, J.A. & Acharya, K.R. Structure and activity of a functional derivative of *Clostridium botulinum* neurotoxin B. *J Struct Biol* **174**, 52-57 (2011).
47. Chaddock, J.A., *et al.* Expression and purification of catalytically active, non-toxic endopeptidase derivatives of *Clostridium botulinum* toxin type A. *Protein Expr Purif* **25**, 219-228 (2002).
48. Ewbank, J.J. & Creighton, T.E. The molten globule protein conformation probed by disulphide bonds. *Nature* **350**, 518-520 (1991).

49. Nagy, P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. *Antioxid Redox Signal* **18**, 1623-1641 (2013).
50. Popp, M.W., Antos, J.M., Grotenbreg, G.M., Spooner, E. & Ploegh, H.L. Sortagging: a versatile method for protein labeling. *Nat Chem Biol* **3**, 707-708 (2007).
51. McCluskey, A.J. & Collier, R.J. Receptor-directed chimeric toxins created by sortase-mediated protein fusion. *Mol Cancer Ther* **12**, 2273-2281 (2013).
52. Broide, R.S., *et al.* The rat Digit Abduction Score (DAS) assay: a physiological model for assessing botulinum neurotoxin-induced skeletal muscle paralysis. *Toxicon* **71**, 18-24 (2013).
53. Aoki, K.R. A comparison of the safety margins of botulinum neurotoxin serotypes A, B, and F in mice. *Toxicon* **39**, 1815-1820 (2001).
54. Binz, T., Bade, S., Rummel, A., Kollwe, A. & Alves, J. Arg(362) and Tyr(365) of the botulinum neurotoxin type a light chain are involved in transition state stabilization. *Biochemistry* **41**, 1717-1723 (2002).
55. Fu, Z., *et al.* Light chain of botulinum neurotoxin serotype A: structural resolution of a catalytic intermediate. *Biochemistry* **45**, 8903-8911 (2006).
56. Pier, C.L., *et al.* Recombinant holotoxoid vaccine against botulism. *Infect Immun* **76**, 437-442 (2008).
57. Mootz, H.D. Split inteins as versatile tools for protein semisynthesis. *Chembiochem* **10**, 2579-2589 (2009).
58. Peng, L., Tepp, W.H., Johnson, E.A. & Dong, M. Botulinum neurotoxin D uses synaptic vesicle protein SV2 and gangliosides as receptors. *PLoS Pathog* **7**, e1002008 (2011).
59. Steegmaier, M., Klumperman, J., Foletti, D.L., Yoo, J.S. & Scheller, R.H. Vesicle-associated membrane protein 4 is implicated in trans-Golgi network vesicle trafficking. *Mol Biol Cell* **10**, 1957-1972 (1999).
60. Brandhorst, D., *et al.* Homotypic fusion of early endosomes: SNAREs do not determine fusion specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 2701-2706 (2006).
61. Raingo, J., *et al.* VAMP4 directs synaptic vesicles to a pool that selectively maintains asynchronous neurotransmission. *Nat Neurosci* **15**, 738-745 (2012).
62. Cocucci, E., Racchetti, G., Rupnik, M. & Meldolesi, J. The regulated exocytosis of enlargeosomes is mediated by a SNARE machinery that includes VAMP4. *J Cell Sci* **121**, 2983-2991 (2008).
63. Nicholson-Fish, J.C., Kokotos, A.C., Gillingwater, T.H., Smillie, K.J. & Cousin, M.A. VAMP4 Is an Essential Cargo Molecule for Activity-Dependent Bulk Endocytosis. *Neuron* **88**, 973-984 (2015).

64. Zeng, Q., *et al.* A novel synaptobrevin/VAMP homologous protein (VAMP5) is increased during *in vitro* myogenesis and present in the plasma membrane. *Mol Biol Cell* **9**, 2423-2437 (1998).
65. Krzewski, K., Gil-Krzewska, A., Watts, J., Stern, J.N. & Strominger, J.L. VAMP4- and VAMP7-expressing vesicles are both required for cytotoxic granule exocytosis in NK cells. *Eur J Immunol* **41**, 3323-3329 (2011).
66. Yamamoto, H., *et al.* Specificity of botulinum protease for human VAMP family proteins. *Microbiol Immunol* **56**, 245-253 (2012).
67. McNew, J.A., *et al.* Ykt6p, a prenylated SNARE essential for endoplasmic reticulum-Golgi transport. *J Biol Chem* **272**, 17776-17783 (1997).
68. Kweon, Y., Rothe, A., Conibear, E. & Stevens, T.H. Ykt6p is a multifunctional yeast R-SNARE that is required for multiple membrane transport pathways to the vacuole. *Mol Biol Cell* **14**, 1868-1881 (2003).
69. Hasegawa, H., *et al.* Mammalian ykt6 is a neuronal SNARE targeted to a specialized compartment by its profilin-like amino terminal domain. *Mol Biol Cell* **14**, 698-720 (2003).
70. Daste, F., Galli, T. & Tareste, D. Structure and function of longin SNAREs. *J Cell Sci* **128**, 4263-4272 (2015).
71. Cooper, A.A., *et al.* Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models. *Science* **313**, 324-328 (2006).
72. Thayyanidhi, N., *et al.* Alpha-synuclein delays endoplasmic reticulum (ER)-to-Golgi transport in mammalian cells by antagonizing ER/Golgi SNAREs. *Mol Biol Cell* **21**, 1850-1863 (2010).

### **Другие варианты осуществления**

Все признаки, раскрываемые в настоящем описании, могут быть объединены в любой комбинации. Каждый признак, раскрытый в настоящем описании, может быть заменен альтернативным признаком, который служит той же, эквивалентной или подобной цели. Таким образом, если прямо не указано иное, каждый раскрытый признак является лишь примером общей серии эквивалентных или сходных признаков.

Из приведенного выше описания специалист в данной области сможет легко установить основные характеристики настоящего раскрытия и, не отступая от его сущности и объема, сможет внести различные изменения и модификации в настоящее раскрытие, чтобы адаптировать его к различным применениям и условиям. Таким образом, другие варианты осуществления также попадают в объем формулы изобретения.

### **Эквиваленты и объем**

В то время как в настоящем документе описаны и проиллюстрированы некоторые варианты осуществления настоящего изобретения, специалистам в данной области будет очевиден ряд других средств и/или структур для осуществления функции и/или получения результатов и/или одного или нескольких из преимуществ, описываемых в настоящем документе, и каждая из таких вариаций и/или модификаций попадает в объем вариантов осуществления настоящего изобретения, описываемых в настоящем документе. В целом, специалисты в данной области легко определяют, что все параметры, измерения, материалы и конфигурации, описываемые в настоящем документе, являются типичными, и что фактические параметры, измерения, материалы и/или конфигурации будут зависеть от конкретного применения или применений, для которых используют идеи настоящего изобретения. Специалисты в данной области смогут распознать или установить, используя не более чем рутинные эксперименты, множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения, описываемых в настоящем документе. Следовательно, следует понимать, что вышеизложенные варианты осуществления представлены исключительно в качестве примера, и что в пределах объема прилагаемой формулы изобретения и ее эквивалентов варианты осуществления настоящего изобретения могут применяться на практике иначе, чем конкретно описано и заявлено. Варианты осуществления настоящего изобретения направлены на каждые отдельные признак, систему, изделие, материал, набор и/или способ, описываемые в настоящем документе. Кроме того, любая комбинация двух или более таких признаков, систем, изделий, материалов, наборов и/или способов, если такие признаки, системы, изделия, материалы, наборы и/или способы не являются взаимно несовместимыми, включена в объем изобретения в соответствии с настоящим раскрытием.

Следует понимать, что все определения, определяемые и применяемые в настоящем документе, контролируют словарные определения, определения в документах, включенных посредством ссылки, и/или обычные значения определяемых терминов.

Все ссылки, патенты и заявки на выдачу патентов, раскрываемые в настоящем документе, включены посредством ссылки в отношении заявляемого предмета, для которого каждая из них цитируется, при этом в некоторых случаях ссылка может охватывать документ полностью.

Использование в настоящем документе объектов в единственном числе в описании и формуле изобретения, если явно не указано иное, следует понимать как «по меньшей мере один».

Фразу «и/или», используемую в настоящем документе в описании и формуле изобретения, следует понимать как «один или оба» из элементов, соединенных таким

образом, т.е. элементов, которые в одном случае присутствуют совместно, а в других случаях отдельно. Несколько элементов, перечисленных с помощью «и/или», должны толковаться одинаково, т.е. «один или несколько» элементов, соединенных таким образом. Необязательно могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, специально указанных условием «и/или», независимо от того, связаны они или не связаны с теми элементами, которые конкретно определены. Таким образом, в качестве неограничивающего примера, ссылка на «А и/или В», когда используется вместе в открытой фразе, такой как «содержащий», может ссылаться в одном варианте осуществления только на А (необязательно включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления только к В (необязательно включая элементы, отличные от А); в одном варианте осуществления и к А, и к В (необязательно включая другие элементы); и т.п.

Используемый в настоящем документе в описании и в формуле изобретения союз «или» следует понимать как имеющий то же значение, что и союз «и/или», определяемый выше. Например, при разделении элементов в перечне союз «или» или «и/или» должен интерпретироваться как включающий, т.е. включение по меньшей мере одного, но также включение более одного из ряда или перечня элементов и необязательно дополнительных не перечисленных элементов. Только термины, четко обозначенные как противоположные, такие как «только один из» или «исключительно один из», или при применении в формуле изобретения, «состоящий из», будет относиться к включению ровно одного элемента из ряда или перечня элементов. Как правило, термин «или», используемый в настоящем документе, должен толковаться только как указывающий на исключительные альтернативы (т.е. «один или другой, но не оба»), когда ему предшествуют термины исключительности, такие как «либо», «один из», «только один из» или «исключительно один из». Термин «состоящий по сути из», используемый в формуле изобретения, имеет свое обычное значение, используемое в области патентного права.

Используемую в настоящем документе в описании и формуле изобретения фразу «по меньшей мере один» в отношении перечня одного или нескольких элементов следует понимать как означающую по меньшей мере один элемент, выбранный из любого одного или нескольких элементов в перечне элементов, но не обязательно включает в себя по меньшей мере один из каждого элемента, конкретно указанного в перечне элементов и не исключает какие-либо комбинации элементов в перечне элементов. Это определение также допускает, что необязательно могут присутствовать элементы, отличные от элементов, конкретно определенных в перечне элементов, к которым относится фраза «по меньшей мере один», независимо от того, связаны они или не связаны с теми элементами, которые конкретно определены. Таким образом, в качестве неограничивающего примера,

«по меньшей мере один из А и В» (или, что эквивалентно, «по меньшей мере один из А или В»), или что эквивалентно, «по меньшей мере один из А и/или В») может относиться согласно одному варианту осуществления к по меньшей мере одному, необязательно в том числе более чем одному, А, без присутствия В (и необязательно включая элементы, отличные от В); согласно другому варианту осуществления к по меньшей мере одному, необязательно в том числе более чем одному В, без присутствия А (и необязательно включая элементы, отличные от А); согласно другому варианту осуществления к по меньшей мере одному, необязательно в том числе более чем одному А и по меньшей мере одному, необязательно в том числе более чем одному В (и необязательно включая другие элементы); и т.п.

Следует также учитывать, что, если явно не указано обратное, в любых способах, заявляемых в настоящем документе, которые предусматривают более чем одну стадию или действие, порядок стадий или действий способа не обязательно ограничен порядком, в котором стадии или действия способа изложены.

В формуле изобретения, а также в приведенном выше описании все переходные фразы, такие как «содержащий», «включающий в себя», «несущий», «имеющий», «включающий», «состоящий из» и подобные, следует понимать как открытые, т.е. означающие «в том числе без ограничения». Только переходные фразы «состоящий из» и «состоящий по сути из» является закрытыми или полужакрытыми переходными фразами, соответственно, как указано в руководстве по процедурам патентной экспертизы Патентного ведомства США, раздел 2111.03.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Чилдренс медикал сентер корпорейшн

<120> НОВЫЙ БОТУЛИНИЧЕСКИЙ НЕЙРОТОКСИН И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ

<130> C1233.70106US00

<140> Еще не присвоен

<141> Одновременно с данным документом

<150> US 62/360239

<151> 2016-07-08

<160> 226

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 1306

<212> Белок

<213> Clostridium botulinum

<400> 1

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
 1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
 20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
 35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
 50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
 65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160



Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 2

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 2

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn

65					70					75					80
Tyr	Leu	Asn	Thr	Pro	Ser	Glu	Lys	Asp	Glu	Phe	Leu	Gln	Gly	Val	Ile
				85					90					95	
Lys	Val	Leu	Glu	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Pro	Glu	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu
			100					105					110		
Glu	Leu	Ile	Ser	Ser	Ser	Ile	Pro	Leu	Pro	Leu	Val	Ser	Asn	Gly	Ala
		115					120					125			
Leu	Thr	Leu	Ser	Asp	Asn	Glu	Thr	Ile	Ala	Tyr	Gln	Glu	Asn	Asn	Asn
	130					135					140				
Ile	Val	Ser	Asn	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Gly	Pro
145					150					155					160
Asp	Ile	Ala	Asn	Asn	Ala	Thr	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Ser	Thr	Pro	Ile	Ser
			165						170					175	
Asn	Gly	Glu	Gly	Thr	Leu	Ser	Glu	Val	Ser	Phe	Ser	Pro	Phe	Tyr	Leu
			180					185					190		
Lys	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Arg	Ser	Leu	Val	Asn	Ile
		195					200					205			
Val	Asn	Lys	Phe	Val	Lys	Arg	Glu	Phe	Ala	Pro	Asp	Pro	Ala	Ser	Thr
	210					215					220				
Leu	Met	His	Glu	Leu	Val	His	Val	Thr	His	Asn	Leu	Tyr	Gly	Ile	Ser
225					230					235					240
Asn	Arg	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Asn	Phe	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile	Glu	Thr	Ser
				245					250					255	
Arg	Gln	Gln	Asn	Ser	Leu	Ile	Phe	Glu	Glu	Leu	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly
			260					265					270		
Ile	Asp	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Ser	Leu	Ile	Ile	Lys	Lys	Ile	Ile	Glu
		275					280					285			
Thr	Ala	Lys	Asn	Asn	Tyr	Thr	Thr	Leu	Ile	Ser	Glu	Arg	Leu	Asn	Thr
	290					295					300				
Val	Thr	Val	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Lys	Tyr	Ile	Lys	Asn	Lys	Ile	Pro
305					310					315					320
Val	Gln	Gly	Arg	Leu	Gly	Asn	Phe	Lys	Leu	Asp	Thr	Ala	Glu	Phe	Glu

325

330

335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn

580

585

590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile



835

840

845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 3

<211> 439

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 3

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn  
435

<210> 4  
<211> 1306  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 4

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu

180

185

190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp

435

440

445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala

690

695

700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe

945 950 955 960  
Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975  
Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990  
Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005  
Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020  
Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035  
Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050  
Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065  
Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080  
Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095  
Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110  
Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125  
Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140  
Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155  
Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170  
Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185  
Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala

1190                                 1195                                 1200  
 Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
   1205                                         1210                                 1215  
  
 Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
   1220                                         1225                                 1230  
  
 Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
   1235                                         1240                                 1245  
  
 Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
   1250                                         1255                                 1260  
  
 Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
   1265                                         1270                                 1275  
  
 Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
   1280                                         1285                                 1290  
  
 Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
   1295                                         1300                                 1305  
  
 <210> 5  
 <211> 1306  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетический полипептид  
  
 <400> 5  
  
 Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
   1                                         5                                 10                                 15  
  
 Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
                                        20                                 25                                 30  
  
 Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
                                        35                                 40                                 45  
  
 Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
   50                                         55                                 60  
  
 Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
   65                                         70                                 75                                 80  
  
 Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
                                        85                                 90                                 95



Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ala Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 6

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 6

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly

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

260

265

270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser

515

520

525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala



770

775

780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser

1025						1030						1035			
Ile	Val	Tyr	Val	Asn	Gly	Ser	Lys	Ile	Glu	Glu	Lys	Asp	Ile	Ser	
1040						1045					1050				
Ser	Ile	Trp	Asn	Thr	Glu	Val	Asp	Asp	Pro	Ile	Ile	Phe	Arg	Leu	
1055						1060					1065				
Lys	Asn	Asn	Arg	Asp	Thr	Gln	Ala	Phe	Thr	Leu	Leu	Asp	Gln	Phe	
1070						1075					1080				
Ser	Ile	Tyr	Arg	Lys	Glu	Leu	Asn	Gln	Asn	Glu	Val	Val	Lys	Leu	
1085						1090					1095				
Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Ser	Asn	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Trp	Gly	
1100						1105					1110				
Asn	Pro	Leu	Gln	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Thr	Gln	Asp	
1115						1120					1125				
Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Ile	Arg	Glu	Tyr	Trp	Ser	Ser	Phe	Gly	
1130						1135					1140				
Tyr	Asp	Tyr	Val	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Pro	
1145						1150					1155				
Asn	Asn	Ile	Arg	Tyr	Gly	Ala	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	
1160						1165					1170				
Ile	Lys	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Asn	Lys	Asp	
1175						1180					1185				
Phe	Ile	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gly	Tyr	Asn	Met	Gly	Ile	Ser	Ala	
1190						1195					1200				
Asp	Arg	Phe	Asn	Glu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ile	Gly	Thr	Thr	Tyr	Gly	
1205						1210					1215				
Thr	Thr	His	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Phe	Glu	Ile	Ile	Gln	Arg	Gln	
1220						1225					1230				
Glu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Tyr	Cys	Gln	Leu	Lys	Thr	Pro	Tyr	Asn	Ile	
1235						1240					1245				
Phe	His	Lys	Ser	Gly	Leu	Met	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	
1250						1255					1260				
Phe	His	Asp	Tyr	Arg	Asp	Trp	Val	Tyr	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Phe	

1265

1270

1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 7

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 7

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ala Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 8

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 8

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile



85

90

95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala

340

345

350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn

595

600

605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg

850

855

860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly

1100						1105								1110
Asn	Pro	Leu	Gln	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Thr	Gln	Asp
1115						1120					1125			
Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Ile	Arg	Glu	Tyr	Trp	Ser	Ser	Phe	Gly
1130						1135					1140			
Tyr	Asp	Tyr	Val	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Pro
1145						1150					1155			
Asn	Asn	Ile	Arg	Tyr	Gly	Ala	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Leu
1160						1165					1170			
Ile	Lys	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Asn	Lys	Asp
1175						1180					1185			
Phe	Ile	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gly	Tyr	Asn	Met	Gly	Ile	Ser	Ala
1190						1195					1200			
Asp	Arg	Phe	Asn	Glu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ile	Gly	Thr	Thr	Tyr	Gly
1205						1210					1215			
Thr	Thr	His	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Phe	Glu	Ile	Ile	Gln	Arg	Gln
1220						1225					1230			
Glu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Tyr	Ser	Gln	Leu	Lys	Thr	Pro	Tyr	Asn	Ile
1235						1240					1245			
Phe	His	Lys	Ser	Gly	Leu	Met	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr
1250						1255					1260			
Phe	His	Asp	Tyr	Arg	Asp	Trp	Val	Tyr	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Phe
1265						1270					1275			
Gln	Asn	Tyr	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Arg	Lys	His	Thr	Lys	Thr	Asn
1280						1285					1290			
Trp	Tyr	Phe	Ile	Pro	Lys	Asp	Glu	Gly	Trp	Asp	Glu	Asp		
1295						1300					1305			

<210> 9  
 <211> 1306  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 9

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
 1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
 20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
 35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
 50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
 65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765



Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
 1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
 1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
 1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
 1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
 1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
 1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
 1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
 1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
 1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
 1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
 1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
 1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 10

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 10

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser

165

170

175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala

420

425

430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe

675

680

685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile

930

935

940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp

1175                                    1180                                    1185  
 Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
 1190                                    1195                                    1200  
 Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
 1205                                    1210                                    1215  
 Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
 1220                                    1225                                    1230  
 Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
 1235                                    1240                                    1245  
 Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
 1250                                    1255                                    1260  
 Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
 1265                                    1270                                    1275  
 Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
 1280                                    1285                                    1290  
 Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
 1295                                    1300                                    1305  
  
 <210> 11  
 <211> 1306  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетический полипептид  
  
 <400> 11  
  
 Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
 1                                    5                                    10                                    15  
  
 Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
                                   20                                    25                                    30  
  
 Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
                                   35                                    40                                    45  
  
 Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
 50                                    55                                    60  
  
 Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
 65                                    70                                    75                                    80



Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640 645

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
 1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
 1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
 1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
 1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
 1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
 1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
 1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
 1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
 1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
 1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
 1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ser Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
 1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
 1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
 1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
 1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
 1295 1300 1305

<210> 12  
 <211> 1306  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Синтетический полипептид

<400> 12

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser

245

250

255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ala Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr

500

505

510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu



755

760

765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn

1010						1015						1020			
Gly	Trp	Asn	Leu	Ile	Thr	Ile	Thr	Asn	Asn	Arg	Ser	Lys	Gly	Ser	
1025						1030					1035				
Ile	Val	Tyr	Val	Asn	Gly	Ser	Lys	Ile	Glu	Glu	Lys	Asp	Ile	Ser	
1040						1045					1050				
Ser	Ile	Trp	Asn	Thr	Glu	Val	Asp	Asp	Pro	Ile	Ile	Phe	Arg	Leu	
1055						1060					1065				
Lys	Asn	Asn	Arg	Asp	Thr	Gln	Ala	Phe	Thr	Leu	Leu	Asp	Gln	Phe	
1070						1075					1080				
Ser	Ile	Tyr	Arg	Lys	Glu	Leu	Asn	Gln	Asn	Glu	Val	Val	Lys	Leu	
1085						1090					1095				
Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Ser	Asn	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Trp	Gly	
1100						1105					1110				
Asn	Pro	Leu	Gln	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Thr	Gln	Asp	
1115						1120					1125				
Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Ile	Arg	Glu	Tyr	Trp	Ser	Ser	Phe	Gly	
1130						1135					1140				
Tyr	Asp	Tyr	Val	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Pro	
1145						1150					1155				
Asn	Asn	Ile	Arg	Tyr	Gly	Ala	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	
1160						1165					1170				
Ile	Lys	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Asn	Lys	Asp	
1175						1180					1185				
Phe	Ile	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gly	Tyr	Asn	Met	Gly	Ile	Ser	Ala	
1190						1195					1200				
Asp	Arg	Phe	Asn	Glu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ile	Gly	Thr	Thr	Tyr	Gly	
1205						1210					1215				
Thr	Thr	His	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Phe	Glu	Ile	Ile	Gln	Arg	Gln	
1220						1225					1230				
Glu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Tyr	Ser	Gln	Leu	Lys	Thr	Pro	Tyr	Asn	Ile	
1235						1240					1245				
Phe	His	Lys	Ser	Gly	Leu	Met	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	

1250 1255 1260  
Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275  
Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290  
Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305  
<210> 13  
<211> 1306  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетический полипептид  
<400> 13  
Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15  
Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30  
Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45  
Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60  
Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80  
Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95  
Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110  
Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125  
Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140  
Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ala Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 14

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 14

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn



65					70					75					80
Tyr	Leu	Asn	Thr	Pro	Ser	Glu	Lys	Asp	Glu	Phe	Leu	Gln	Gly	Val	Ile
				85					90					95	
Lys	Val	Leu	Glu	Arg	Ile	Lys	Ser	Lys	Pro	Glu	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu
			100					105					110		
Glu	Leu	Ile	Ser	Ser	Ser	Ile	Pro	Leu	Pro	Leu	Val	Ser	Asn	Gly	Ala
		115					120					125			
Leu	Thr	Leu	Ser	Asp	Asn	Glu	Thr	Ile	Ala	Tyr	Gln	Glu	Asn	Asn	Asn
	130					135					140				
Ile	Val	Ser	Asn	Leu	Gln	Ala	Asn	Leu	Val	Ile	Tyr	Gly	Pro	Gly	Pro
145				150						155					160
Asp	Ile	Ala	Asn	Asn	Ala	Thr	Tyr	Gly	Leu	Tyr	Ser	Thr	Pro	Ile	Ser
			165						170					175	
Asn	Gly	Glu	Gly	Thr	Leu	Ser	Glu	Val	Ser	Phe	Ser	Pro	Phe	Tyr	Leu
			180					185					190		
Lys	Pro	Phe	Asp	Glu	Ser	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Arg	Ser	Leu	Val	Asn	Ile
		195					200					205			
Val	Asn	Lys	Phe	Val	Lys	Arg	Glu	Phe	Ala	Pro	Asp	Pro	Ala	Ser	Thr
	210					215					220				
Leu	Met	His	Glu	Leu	Val	His	Val	Thr	His	Asn	Leu	Tyr	Gly	Ile	Ser
225					230					235					240
Asn	Arg	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Asn	Phe	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile	Glu	Thr	Ser
				245					250					255	
Arg	Gln	Gln	Asn	Ser	Leu	Ile	Phe	Glu	Glu	Leu	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly
			260					265					270		
Ile	Asp	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Ser	Leu	Ile	Ile	Lys	Lys	Ile	Ile	Glu
		275					280					285			
Thr	Ala	Lys	Asn	Asn	Tyr	Thr	Thr	Leu	Ile	Ser	Glu	Arg	Leu	Asn	Thr
	290					295					300				
Val	Thr	Val	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Lys	Tyr	Ile	Lys	Asn	Lys	Ile	Pro
305					310					315					320
Val	Gln	Gly	Arg	Leu	Gly	Asn	Phe	Lys	Leu	Asp	Thr	Ala	Glu	Phe	Glu

325

330

335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn

580

585

590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile

835

840

845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
 1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu

1085						1090									1095
Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Ser	Asn	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Trp	Gly	
	1100					1105					1110				
Asn	Pro	Leu	Gln	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Thr	Gln	Asp	
	1115					1120					1125				
Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Ile	Arg	Glu	Tyr	Trp	Ser	Ser	Phe	Gly	
	1130					1135					1140				
Tyr	Asp	Tyr	Val	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Pro	
	1145					1150					1155				
Asn	Asn	Ile	Arg	Tyr	Gly	Ala	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	
	1160					1165					1170				
Ile	Lys	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Asn	Lys	Asp	
	1175					1180					1185				
Phe	Ile	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gly	Tyr	Asn	Met	Gly	Ile	Ser	Ala	
	1190					1195					1200				
Asp	Arg	Phe	Asn	Glu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ile	Gly	Thr	Thr	Tyr	Gly	
	1205					1210					1215				
Thr	Thr	His	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Phe	Glu	Ile	Ile	Gln	Arg	Gln	
	1220					1225					1230				
Glu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Tyr	Ala	Gln	Leu	Lys	Thr	Pro	Tyr	Asn	Ile	
	1235					1240					1245				
Phe	His	Lys	Ser	Gly	Leu	Met	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	
	1250					1255					1260				
Phe	His	Asp	Tyr	Arg	Asp	Trp	Val	Tyr	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Phe	
	1265					1270					1275				
Gln	Asn	Tyr	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Arg	Lys	His	Thr	Lys	Thr	Asn	
	1280					1285					1290				
Trp	Tyr	Phe	Ile	Pro	Lys	Asp	Glu	Gly	Trp	Asp	Glu	Asp			
	1295					1300					1305				

<210> 15

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 15

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750



Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
 1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
 1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
 1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
 1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
 1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
 1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
 1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
 1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
 1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
 1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
 1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ser Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
 1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 16

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 16

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro



405

410

415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ala Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560 565

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala

660

665

670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly

915

920

925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
 1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
 1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
 1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
 1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
 1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
 1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu

1160 1165 1170  
Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185  
Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200  
Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215  
Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230  
Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ser Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245  
Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260  
Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275  
Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290  
Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305  
<210> 17  
<211> 1306  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> Синтетический полипептид  
<400> 17  
Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15  
Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30  
Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45  
Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60



Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ala Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
 965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
 980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
 995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
 1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
 1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
 1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
 1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
 1085 1090 1095  
 Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
 1100 1105 1110  
 Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
 1115 1120 1125  
 Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
 1130 1135 1140  
 Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
 1145 1150 1155  
 Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
 1160 1165 1170  
 Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
 1175 1180 1185  
 Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
 1190 1195 1200  
 Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
 1205 1210 1215  
 Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
 1220 1225 1230  
 Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Ala Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
 1235 1240 1245  
 Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
 1250 1255 1260  
 Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
 1265 1270 1275  
 Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
 1280 1285 1290  
 Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
 1295 1300 1305

<210> 18  
 <211> 892  
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 18

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser

225                                    230                                    235                                    240  
 Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
                                          245                                    250                                    255  
 Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
                                          260                                    265                                    270  
 Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
                                          275                                    280                                    285  
 Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
                                          290                                    295                                    300  
 Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305                                    310                                    315  
 Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
                                          325                                    330                                    335  
 Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
                                          340                                    345                                    350  
 Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
                                          355                                    360                                    365  
 Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
                                          370                                    375                                    380  
 Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385                                    390                                    395                                    400  
 Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
                                          405                                    410                                    415  
 Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
                                          420                                    425                                    430  
 Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
                                          435                                    440                                    445  
 Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ala Ser Leu Leu  
                                          450                                    455                                    460  
 Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465                                    470                                    475                                    480  
 Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro

485

490

495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala



740

745

750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 19

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 19

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 20

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 20

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro



405

410

415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ala Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560 565

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala

660

665

670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 21

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность



<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 21

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 22

<211> 1316

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 22

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn



325

330

335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn

580

585

590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile

835

840

845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Ile Asn Thr  
 885 890 895

Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser  
 900 905 910

Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro  
 915 920 925

Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile  
 930 935 940

Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn  
 945 950 955 960

Phe Ser Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile  
 965 970 975

Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser  
 980 985 990

Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln  
 995 1000 1005

Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln  
 1010 1015 1020

Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr  
 1025 1030 1035

Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly  
 1040 1045 1050

Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His  
 1055 1060 1065

Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr  
 1070 1075 1080

His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu



1085						1090						1095			
Leu	Asn	Glu	Lys	Glu	Ile	Lys	Asp	Leu	Tyr	Asp	Asn	Gln	Ser	Asn	
1100						1105					1110				
Ser	Gly	Ile	Leu	Lys	Asp	Phe	Trp	Gly	Asp	Tyr	Leu	Gln	Tyr	Asp	
1115						1120					1125				
Lys	Pro	Tyr	Tyr	Met	Leu	Asn	Leu	Tyr	Asp	Pro	Asn	Lys	Tyr	Val	
1130						1135					1140				
Asp	Val	Asn	Asn	Val	Gly	Ile	Arg	Gly	Tyr	Met	Tyr	Leu	Lys	Gly	
1145						1150					1155				
Pro	Arg	Gly	Ser	Val	Met	Thr	Thr	Asn	Ile	Tyr	Leu	Asn	Ser	Ser	
1160						1165					1170				
Leu	Tyr	Arg	Gly	Thr	Lys	Phe	Ile	Ile	Lys	Lys	Tyr	Ala	Ser	Gly	
1175						1180					1185				
Asn	Lys	Asp	Asn	Ile	Val	Arg	Asn	Asn	Asp	Arg	Val	Tyr	Ile	Asn	
1190						1195					1200				
Val	Val	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Tyr	Arg	Leu	Ala	Thr	Asn	Ala	Ser	
1205						1210					1215				
Gln	Ala	Gly	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Ile	Pro	Asp	
1220						1225					1230				
Val	Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Val	Val	Val	Met	Lys	Ser	Lys	Asn	Asp	
1235						1240					1245				
Gln	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Cys	Lys	Met	Asn	Leu	Gln	Asp	Asn	Asn	
1250						1255					1260				
Gly	Asn	Asp	Ile	Gly	Phe	Ile	Gly	Phe	His	Gln	Phe	Asn	Asn	Ile	
1265						1270					1275				
Ala	Lys	Leu	Val	Ala	Ser	Asn	Trp	Tyr	Asn	Arg	Gln	Ile	Glu	Arg	
1280						1285					1290				
Ser	Ser	Arg	Thr	Leu	Gly	Cys	Ser	Trp	Glu	Phe	Ile	Pro	Val	Asp	
1295						1300					1305				
Asp	Gly	Trp	Gly	Glu	Arg	Pro	Leu								
1310						1315									

<211> 1324  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 23

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Leu Asn Asn  
 885 890 895

Ile Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser  
 900 905 910

Gly Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Glu Leu Asn Asp  
 915 920 925

Lys Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val  
 930 935 940

Thr Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe Leu Asp Phe Ser  
 945 950 955 960

Val Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln  
 965 970 975

Asn Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn  
 980 985 990

Ser Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp Thr Leu  
 995 1000 1005

Ile Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Asn  
 1010 1015 1020

Ile Arg Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val  
 1025 1030 1035

Thr Ile Thr Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly  
 1040 1045 1050

Lys Leu Glu Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile Arg Glu Val Ile  
 1055 1060 1065

Ala Asn Gly Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg  
 1070 1075 1080

Thr Gln Phe Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu  
 1085 1090 1095

Leu Ser Gln Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr  
 1100 1105 1110

Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn  
 1115 1120 1125

Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly Asn Lys Asn Ser Tyr Ile  
 1130 1135 1140

Lys Leu Lys Lys Asp Ser Pro Val Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ser  
 1145 1150 1155

Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Arg Asp Leu Tyr  
 1160 1165 1170

Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn Ser Gln Ser  
 1175 1180 1185

Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr Leu Asp  
 1190 1195 1200

Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Thr Tyr Lys Tyr  
 1205 1210 1215

Phe Lys Lys Glu Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Pro Ile Ser Asp  
 1220 1225 1230

Ser Asp Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu  
1235 1240 1245

Gln Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu  
1250 1255 1260

Ser Thr Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu  
1265 1270 1275

Ser Gly Ile Val Phe Glu Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser  
1280 1285 1290

Lys Trp Tyr Leu Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Leu Lys  
1295 1300 1305

Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr  
1310 1315 1320

Glu

<210> 24

<211> 1316

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 24

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu

100

105

110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro



355

360

365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu

610

615

620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu



1115		1120		1125
Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn Ile Asp				
1130		1135		1140
Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile Val Phe				
1145		1150		1155
Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile				
1160		1165		1170
Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg				
1175		1180		1185
Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr Ile Asn Asn Lys Ala				
1190		1195		1200
Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met Tyr Ala Asp Asn His				
1205		1210		1215
Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu Arg Glu Gln Thr Lys				
1220		1225		1230
Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile Gln Pro Met Asn Asn				
1235		1240		1245
Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys Ser Asn Phe Asn Gly				
1250		1255		1260
Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly Thr Tyr Arg Phe Arg				
1265		1270		1275
Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr Leu Val Pro Thr Val				
1280		1285		1290
Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr Ser Thr His				
1295		1300		1305
Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu				
1310		1315		

<210> 25  
 <211> 1316  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность  
  
 <220>  
 <223> Синтетический полипептид  
  
 <400> 25

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
 1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
 20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
 35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
 50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
 65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Ile Asn Thr  
885 890 895

Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser  
900 905 910

Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro  
915 920 925

Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile  
930 935 940

Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn  
945 950 955 960

Phe Ser Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Phe Asn Ser Ile  
965 970 975

Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Glu Asn Asn Ser  
980 985 990

Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile Trp Thr Leu Gln  
995 1000 1005

Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys Tyr Ser Gln  
1010 1015 1020



Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe Val Thr  
 1025 1030 1035

Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn Gly  
 1040 1045 1050

Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His  
 1055 1060 1065

Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr  
 1070 1075 1080

His Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu  
 1085 1090 1095

Leu Asn Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn  
 1100 1105 1110

Ser Gly Ile Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp  
 1115 1120 1125

Lys Pro Tyr Tyr Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val  
 1130 1135 1140

Asp Val Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly  
 1145 1150 1155

Pro Arg Gly Ser Val Met Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser  
 1160 1165 1170

Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly  
 1175 1180 1185

Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn  
 1190 1195 1200

Val Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg Leu Ala Thr Asn Ala Ser  
 1205 1210 1215

Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala Leu Glu Ile Pro Asp  
 1220 1225 1230

Val Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys Ser Lys Asn Asp  
 1235 1240 1245

Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln Asp Asn Asn  
 1250 1255 1260

Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn Asn Ile  
1265 1270 1275

Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg  
1280 1285 1290

Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp  
1295 1300 1305

Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu  
1310 1315

<210> 26

<211> 1324

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 26

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro



405

410

415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560 565

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala

660

665

670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Leu Asn Asn  
885 890 895

Ile Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser  
900 905 910

Gly Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Glu Leu Asn Asp

915

920

925

Lys Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val  
 930 935 940

Thr Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe Leu Asp Phe Ser  
 945 950 955 960

Val Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln  
 965 970 975

Asn Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn  
 980 985 990

Ser Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp Thr Leu  
 995 1000 1005

Ile Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Asn  
 1010 1015 1020

Ile Arg Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val  
 1025 1030 1035

Thr Ile Thr Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly  
 1040 1045 1050

Lys Leu Glu Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile Arg Glu Val Ile  
 1055 1060 1065

Ala Asn Gly Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg  
 1070 1075 1080

Thr Gln Phe Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu  
 1085 1090 1095

Leu Ser Gln Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr  
 1100 1105 1110

Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn  
 1115 1120 1125

Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly Asn Lys Asn Ser Tyr Ile  
 1130 1135 1140

Lys Leu Lys Lys Asp Ser Pro Val Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ser  
 1145 1150 1155

Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Arg Asp Leu Tyr

1160 1165 1170  
Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn Ser Gln Ser  
1175 1180 1185  
Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr Leu Asp  
1190 1195 1200  
Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Thr Tyr Lys Tyr  
1205 1210 1215  
Phe Lys Lys Glu Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Pro Ile Ser Asp  
1220 1225 1230  
Ser Asp Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu  
1235 1240 1245  
Gln Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu  
1250 1255 1260  
Ser Thr Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu  
1265 1270 1275  
Ser Gly Ile Val Phe Glu Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser  
1280 1285 1290  
Lys Trp Tyr Leu Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Leu Lys  
1295 1300 1305  
Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr  
1310 1315 1320

Glu

<210> 27  
<211> 1316  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 27

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
 35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
 50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
 65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285



Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Asn Asp Ser  
 885 890 895

Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser  
 900 905 910

Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro  
 915 920 925

Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly  
 930 935 940

Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr  
 945 950 955 960

Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser  
 965 970 975

Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly  
 980 985 990

Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln  
 995 1000 1005

Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn Phe Ser Tyr Asp Ile Ser  
 1010 1015 1020

Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr Val Thr  
 1025 1030 1035

Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu  
 1040 1045 1050

Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile Asn Phe Ser  
 1055 1060 1065

Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile Pro Asp Thr Gly Leu  
 1070 1075 1080

Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg Asp Phe  
 1085 1090 1095

Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys Asp Ile Asn Ile Leu  
 1100 1105 1110

Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr Trp Gly  
 1115 1120 1125

Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn Ile Asp  
 1130 1135 1140

Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile Val Phe  
 1145 1150 1155

Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile  
 1160 1165 1170

Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg  
 1175 1180 1185

Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr Ile Asn Asn Lys Ala  
 1190 1195 1200

Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met Tyr Ala Asp Asn His  
 1205 1210 1215

Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu Arg Glu Gln Thr Lys  
 1220 1225 1230

Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile Gln Pro Met Asn Asn  
 1235 1240 1245

Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys Ser Asn Phe Asn Gly  
 1250 1255 1260

Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly Thr Tyr Arg Phe Arg  
 1265 1270 1275

Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr Leu Val Pro Thr Val  
 1280 1285 1290

Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr Ser Thr His  
1295 1300 1305

Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu  
1310 1315

<210> 28  
<211> 1316  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 28

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu

180

185

190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp

435

440

445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala

690

695

700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Ile Asn Thr  
 885 890 895

Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu Ile Asp Leu Ser  
 900 905 910

Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val Asn Phe Asp Pro  
 915 920 925

Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu Ser Ser Lys Ile  
 930 935 940

Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr Glu Asn





1190		1195		1200											
Val	Val	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Tyr	Arg	Leu	Ala	Thr	Asn	Ala	Ser	
1205						1210					1215				
Gln	Ala	Gly	Val	Glu	Lys	Ile	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Ile	Pro	Asp	
1220						1225					1230				
Val	Gly	Asn	Leu	Ser	Gln	Val	Val	Val	Met	Lys	Ser	Lys	Asn	Asp	
1235						1240					1245				
Gln	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Cys	Lys	Met	Asn	Leu	Gln	Asp	Asn	Asn	
1250						1255					1260				
Gly	Asn	Asp	Ile	Gly	Phe	Ile	Gly	Phe	His	Gln	Phe	Asn	Asn	Ile	
1265						1270					1275				
Ala	Lys	Leu	Val	Ala	Ser	Asn	Trp	Tyr	Asn	Arg	Gln	Ile	Glu	Arg	
1280						1285					1290				
Ser	Ser	Arg	Thr	Leu	Gly	Cys	Ser	Trp	Glu	Phe	Ile	Pro	Val	Asp	
1295						1300					1305				
Asp	Gly	Trp	Gly	Glu	Arg	Pro	Leu								
1310						1315									
<210>	29														
<211>	1324														
<212>	Белок														
<213>	Искусственная последовательность														
<220>															
<223>	Синтетический полипептид														
<400>	29														
Met	Lys	Leu	Glu	Ile	Asn	Lys	Phe	Asn	Tyr	Asn	Asp	Pro	Ile	Asp	Gly
1				5					10					15	
Ile	Asn	Val	Ile	Thr	Met	Arg	Pro	Pro	Arg	His	Ser	Asp	Lys	Ile	Asn
		20						25					30		
Lys	Gly	Lys	Gly	Pro	Phe	Lys	Ala	Phe	Gln	Val	Ile	Lys	Asn	Ile	Trp
		35					40					45			
Ile	Val	Pro	Glu	Arg	Tyr	Asn	Phe	Thr	Asn	Asn	Thr	Asn	Asp	Leu	Asn
						50					60				
Ile	Pro	Ser	Glu	Pro	Ile	Met	Glu	Ala	Asp	Ala	Ile	Tyr	Asn	Pro	Asn
65					70					75					80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
 85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
 100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Ser Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640 645

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Leu Asn Asn  
 885 890 895

Ile Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu Ile Asp Leu Ser  
 900 905 910

Gly Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val Glu Leu Asn Asp  
 915 920 925

Lys Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser Lys Ile Arg Val  
 930 935 940

Thr Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe Leu Asp Phe Ser  
 945 950 955 960

Val Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn Asp Gly Ile Gln  
 965 970 975

Asn Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met Lys Asn Asn  
 980 985 990

Ser Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile Ile Trp Thr Leu  
 995 1000 1005

Ile Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe Glu Tyr Asn  
 1010 1015 1020

Ile Arg Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe Phe Val  
 1025 1030 1035

Thr Ile Thr Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn Gly  
 1040 1045 1050

Lys Leu Glu Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile Arg Glu Val Ile  
 1055 1060 1065

Ala Asn Gly Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg  
 1070 1075 1080

Thr Gln Phe Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu  
 1085 1090 1095

Leu Ser Gln Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr  
 1100 1105 1110

Ser Glu Tyr Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asn Pro Leu Met Tyr Asn  
 1115 1120 1125

Lys Glu Tyr Tyr Met Phe Asn Ala Gly Asn Lys Asn Ser Tyr Ile  
 1130 1135 1140

Lys Leu Lys Lys Asp Ser Pro Val Gly Glu Ile Leu Thr Arg Ser  
 1145 1150 1155

Lys Tyr Asn Gln Asn Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Arg Asp Leu Tyr  
 1160 1165 1170

Ile Gly Glu Lys Phe Ile Ile Arg Arg Lys Ser Asn Ser Gln Ser  
 1175 1180 1185

Ile Asn Asp Asp Ile Val Arg Lys Glu Asp Tyr Ile Tyr Leu Asp  
 1190 1195 1200

Phe Phe Asn Leu Asn Gln Glu Trp Arg Val Tyr Thr Tyr Lys Tyr  
 1205 1210 1215

Phe Lys Lys Glu Glu Glu Lys Leu Phe Leu Ala Pro Ile Ser Asp  
 1220 1225 1230

Ser Asp Glu Phe Tyr Asn Thr Ile Gln Ile Lys Glu Tyr Asp Glu  
 1235 1240 1245

Gln Pro Thr Tyr Ser Cys Gln Leu Leu Phe Lys Lys Asp Glu Glu  
 1250 1255 1260

Ser Thr Asp Glu Ile Gly Leu Ile Gly Ile His Arg Phe Tyr Glu  
 1265 1270 1275

Ser Gly Ile Val Phe Glu Glu Tyr Lys Asp Tyr Phe Cys Ile Ser  
 1280 1285 1290

Lys Trp Tyr Leu Lys Glu Val Lys Arg Lys Pro Tyr Asn Leu Lys  
 1295 1300 1305

Leu Gly Cys Asn Trp Gln Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Thr  
 1310 1315 1320

Glu

<210> 30  
<211> 1316  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 30

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr



210						215						220				
Leu	Met	His	Glu	Leu	Val	His	Val	Thr	His	Asn	Leu	Tyr	Gly	Ile	Ser	
225					230					235					240	
Asn	Arg	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Asn	Phe	Asp	Thr	Gly	Lys	Ile	Glu	Thr	Ser	
				245					250					255		
Arg	Gln	Gln	Asn	Ser	Leu	Ile	Phe	Glu	Glu	Leu	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	
			260					265					270			
Ile	Asp	Ser	Lys	Ala	Ile	Ser	Ser	Leu	Ile	Ile	Lys	Lys	Ile	Ile	Glu	
		275					280					285				
Thr	Ala	Lys	Asn	Asn	Tyr	Thr	Thr	Leu	Ile	Ser	Glu	Arg	Leu	Asn	Thr	
	290					295					300					
Val	Thr	Val	Glu	Asn	Asp	Leu	Leu	Lys	Tyr	Ile	Lys	Asn	Lys	Ile	Pro	
305					310					315					320	
Val	Gln	Gly	Arg	Leu	Gly	Asn	Phe	Lys	Leu	Asp	Thr	Ala	Glu	Phe	Glu	
				325					330					335		
Lys	Lys	Leu	Asn	Thr	Ile	Leu	Phe	Val	Leu	Asn	Glu	Ser	Asn	Leu	Ala	
			340					345					350			
Gln	Arg	Phe	Ser	Ile	Leu	Val	Arg	Lys	His	Tyr	Leu	Lys	Glu	Arg	Pro	
		355					360					365				
Ile	Asp	Pro	Ile	Tyr	Val	Asn	Ile	Leu	Asp	Asp	Asn	Ser	Tyr	Ser	Thr	
	370					375					380					
Leu	Glu	Gly	Phe	Asn	Ile	Ser	Ser	Gln	Gly	Ser	Asn	Asp	Phe	Gln	Gly	
385					390					395					400	
Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Ser	Tyr	Phe	Glu	Lys	Ile	Glu	Ser	Asn	Ala	Leu	
				405					410					415		
Arg	Ala	Phe	Ile	Lys	Ile	Cys	Pro	Arg	Asn	Gly	Leu	Leu	Tyr	Asn	Ala	
			420					425					430			
Ile	Tyr	Arg	Asn	Ser	Lys	Asn	Tyr	Leu	Asn	Asn	Ile	Asp	Leu	Glu	Asp	
		435					440					445				
Lys	Lys	Thr	Thr	Ser	Lys	Thr	Asn	Val	Ser	Tyr	Pro	Cys	Ser	Leu	Leu	
	450					455					460					
Asn	Gly	Ser	Ile	Glu	Val	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Phe	Leu	Ile	Ser	Asn	

465                                    470                                    475                                    480  
 Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
                                          485                                    490                                    495  
 Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
                                          500                                    505                                    510  
 Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
                                          515                                    520                                    525  
 Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
                                          530                                    535                                    540  
 Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
                                          545                                    550                                    555                                    560  
 Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
                                          565                                    570                                    575  
 Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
                                          580                                    585                                    590  
 Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
                                          595                                    600                                    605  
 Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
                                          610                                    615                                    620  
 Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
                                          625                                    630                                    635                                    640  
 Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
                                          645                                    650                                    655  
 Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
                                          660                                    665                                    670  
 Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
                                          675                                    680                                    685  
 Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
                                          690                                    695                                    700  
 Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
                                          705                                    710                                    715                                    720  
 Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly

725

730

735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Ile Asn Asp Ser  
 885 890 895

Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys Asn Thr Leu Val Asp Thr Ser  
 900 905 910

Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu Gly Asp Val Gln Leu Asn Pro  
 915 920 925

Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly Ser Ser Gly Glu Asp Arg Gly  
 930 935 940

Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn Ile Val Tyr Asn Ser Met Tyr  
 945 950 955 960

Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Arg Ile Asn Lys Trp Val Ser  
 965 970 975

Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp Ser Val Lys Asn Asn Ser Gly

980

985

990

Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe Leu Val Phe Thr Leu Lys Gln  
 995 1000 1005

Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn Phe Ser Tyr Asp Ile Ser  
 1010 1015 1020

Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr Val Thr  
 1025 1030 1035

Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys Leu  
 1040 1045 1050

Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile Asn Phe Ser  
 1055 1060 1065

Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile Pro Asp Thr Gly Leu  
 1070 1075 1080

Ile Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg Asp Phe  
 1085 1090 1095

Tyr Ile Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys Asp Ile Asn Ile Leu  
 1100 1105 1110

Phe Asn Ser Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr Trp Gly  
 1115 1120 1125

Asn Asp Leu Arg Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn Ile Asp  
 1130 1135 1140

Tyr Leu Asn Arg Tyr Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile Val Phe  
 1145 1150 1155

Asn Thr Arg Arg Asn Asn Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile  
 1160 1165 1170

Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly Asn Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg  
 1175 1180 1185

Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp Met Thr Ile Asn Asn Lys Ala  
 1190 1195 1200

Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr Met Tyr Ala Asp Asn His  
 1205 1210 1215

Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu Arg Glu Gln Thr Lys



Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Ala Lys His Phe Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880



Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 32

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 32

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn

20

25

30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met Tyr Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu

275

280

285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg

530

535

540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met



1040						1045									1050
Ser	Ile	Trp	Asn	Thr	Glu	Val	Asp	Asp	Pro	Ile	Ile	Phe	Arg	Leu	
1055						1060					1065				
Lys	Asn	Asn	Arg	Asp	Thr	Gln	Ala	Phe	Thr	Leu	Leu	Asp	Gln	Phe	
1070						1075					1080				
Ser	Ile	Tyr	Arg	Lys	Glu	Leu	Asn	Gln	Asn	Glu	Val	Val	Lys	Leu	
1085						1090					1095				
Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Asn	Ser	Asn	Tyr	Ile	Arg	Asp	Ile	Trp	Gly	
1100						1105					1110				
Asn	Pro	Leu	Gln	Tyr	Asn	Lys	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Gln	Thr	Gln	Asp	
1115						1120					1125				
Lys	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Ile	Arg	Glu	Tyr	Trp	Ser	Ser	Phe	Gly	
1130						1135					1140				
Tyr	Asp	Tyr	Val	Ile	Leu	Ser	Asp	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Phe	Pro	
1145						1150					1155				
Asn	Asn	Ile	Arg	Tyr	Gly	Ala	Leu	Tyr	Asn	Gly	Ser	Lys	Val	Leu	
1160						1165					1170				
Ile	Lys	Asn	Ser	Lys	Lys	Leu	Asp	Gly	Leu	Val	Arg	Asn	Lys	Asp	
1175						1180					1185				
Phe	Ile	Gln	Leu	Glu	Ile	Asp	Gly	Tyr	Asn	Met	Gly	Ile	Ser	Ala	
1190						1195					1200				
Asp	Arg	Phe	Asn	Glu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ile	Gly	Thr	Thr	Tyr	Gly	
1205						1210					1215				
Thr	Thr	His	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Phe	Glu	Ile	Ile	Gln	Arg	Gln	
1220						1225					1230				
Glu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Tyr	Cys	Gln	Leu	Lys	Thr	Pro	Tyr	Asn	Ile	
1235						1240					1245				
Phe	His	Lys	Ser	Gly	Leu	Met	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	
1250						1255					1260				
Phe	His	Asp	Tyr	Arg	Asp	Trp	Val	Tyr	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Phe	
1265						1270					1275				
Gln	Asn	Tyr	Glu	Asn	Leu	Asn	Leu	Arg	Lys	His	Thr	Lys	Thr	Asn	

1280

1285

1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 33

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 33

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190



Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Gln Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
 865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Glu Asp Tyr Glu  
 885 890 895

Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile Lys Asp Leu Ser Gly  
 900 905 910

Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile Glu Leu Ala Asp Gly  
 915 920 925

Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser Glu Asn Ser Thr Ile  
 930 935 940

Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser Ala Thr Asp Asn Phe  
 945 950 955 960

Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro Thr Asn Leu Leu Asn  
965 970 975

Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe Asn Gln Arg Gly Trp  
980 985 990

Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp Tyr Leu Arg Asp His  
995 1000 1005

Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr Ile Ala Phe Asn  
1010 1015 1020

Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser Lys Gly Ser  
1025 1030 1035

Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp Ile Ser  
1040 1045 1050

Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg Leu  
1055 1060 1065

Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
1070 1075 1080

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu  
1085 1090 1095

Tyr Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly  
1100 1105 1110

Asn Pro Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp  
1115 1120 1125

Lys Pro Gly Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly  
1130 1135 1140

Tyr Asp Tyr Val Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro  
1145 1150 1155

Asn Asn Ile Arg Tyr Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu  
1160 1165 1170

Ile Lys Asn Ser Lys Lys Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp  
1175 1180 1185

Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala  
1190 1195 1200

Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly  
1205 1210 1215

Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe Glu Ile Ile Gln Arg Gln  
1220 1225 1230

Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys Thr Pro Tyr Asn Ile  
1235 1240 1245

Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr Ser Lys Pro Thr  
1250 1255 1260

Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala Trp Tyr Phe  
1265 1270 1275

Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys Thr Asn  
1280 1285 1290

Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
1295 1300 1305

<210> 34

<211> 1306

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 34

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu

100

105

110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val Tyr Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro

355

360

365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu

610

615

620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
 785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
 805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
 820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
 835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
 850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu







Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Ala Lys His Phe Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
 705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
 725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
 740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
 755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
 770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 36

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 36

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu

100

105

110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
 115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
 130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
 165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
 180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met Tyr Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro

355

360

365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu



610

615

620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu

865

870

875

880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 37

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 37

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
 195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
 210 215 220

Leu Met His Gln Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
 225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
 245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
 275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
 530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
 545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
 565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
 580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
 595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
 610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
 625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
 645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
 660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
 675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
 690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815

Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile  
885 890

<210> 38

<211> 892

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 38

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn

20

25

30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val Tyr Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu

275

280

285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
 290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
 305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
 325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
 340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
 355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
 370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
 385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
 405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
 420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
 435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
 450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
 465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
 485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
 515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg

530

535

540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met





Val Ile Tyr Phe Phe Thr  
115

<210> 40  
<211> 116  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 40

Met Ser Ala Thr Ala Ala Thr Ala Pro Pro Ala Ala Pro Ala Gly Glu  
1 5 10 15

Gly Gly Pro Pro Ala Pro Pro Pro Asn Leu Thr Ser Asn Arg Arg Leu  
20 25 30

Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile Met Arg Val  
35 40 45

Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser Glu Leu Asp  
50 55 60

Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Thr Ser  
65 70 75 80

Ala Ala Lys Leu Lys Arg Lys Tyr Trp Trp Lys Asn Leu Lys Met Met  
85 90 95

Ile Ile Leu Gly Val Ile Cys Ala Ile Ile Leu Ile Ile Ile Ile Val  
100 105 110

Tyr Phe Ser Ser  
115

<210> 41  
<211> 103  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 41

Met Ser Thr Gly Val Pro Ser Gly Ser Ser Ala Ala Thr Gly Ser Asn  
1 5 10 15

Arg Arg Leu Gln Gln Thr Gln Asn Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile  
20 25 30

Met Arg Val Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser  
35 40 45

Glu Leu Asp Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe  
50 55 60

Glu Thr Ser Ala Ala Lys Leu Lys Arg Lys Tyr Trp Trp Lys Asn Cys  
65 70 75 80

Lys Met Trp Ala Ile Gly Ile Ser Val Leu Val Ile Ile Val Ile Ile  
85 90 95

Ile Ile Val Trp Cys Val Ser  
100

<210> 42

<211> 141

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 42

Met Pro Pro Lys Phe Lys Arg His Leu Asn Asp Asp Asp Val Thr Gly  
1 5 10 15

Ser Val Lys Ser Glu Arg Arg Asn Leu Leu Glu Asp Asp Ser Asp Glu  
20 25 30

Glu Glu Asp Phe Phe Leu Arg Gly Pro Ser Gly Pro Arg Phe Gly Pro  
35 40 45

Arg Asn Asp Lys Ile Lys His Val Gln Asn Gln Val Asp Glu Val Ile  
50 55 60

Asp Val Met Gln Glu Asn Ile Thr Lys Val Ile Glu Arg Gly Glu Arg  
65 70 75 80

Leu Asp Glu Leu Gln Asp Lys Ser Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ala Thr  
85 90 95

Ala Phe Ser Asn Arg Ser Lys Gln Leu Arg Arg Gln Met Trp Trp Arg  
100 105 110

Gly Cys Lys Ile Lys Ala Ile Met Ala Leu Val Ala Ala Ile Leu Leu  
115 120 125

Leu Val Ile Ile Ile Leu Ile Val Met Lys Tyr Arg Thr

130

135

140

<210> 43  
<211> 116  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 43

Met Ala Gly Ile Glu Leu Glu Arg Cys Gln Gln Gln Ala Asn Glu Val  
1 5 10 15

Thr Glu Ile Met Arg Asn Asn Phe Gly Lys Val Leu Glu Arg Gly Val  
20 25 30

Lys Leu Ala Glu Leu Gln Gln Arg Ser Asp Gln Leu Leu Asp Met Ser  
35 40 45

Ser Thr Phe Asn Lys Thr Thr Gln Asn Leu Ala Gln Lys Lys Cys Trp  
50 55 60

Glu Asn Ile Arg Tyr Arg Ile Cys Val Gly Leu Val Val Val Gly Val  
65 70 75 80

Leu Leu Ile Ile Leu Ile Val Leu Leu Val Val Phe Leu Pro Gln Ser  
85 90 95

Ser Asp Ser Ser Ser Ala Pro Arg Thr Gln Asp Ala Gly Ile Ala Ser  
100 105 110

Gly Pro Gly Asn  
115

<210> 44  
<211> 198  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 44

Met Lys Leu Tyr Ser Leu Ser Val Leu Tyr Lys Gly Glu Ala Lys Val  
1 5 10 15

Val Leu Leu Lys Ala Ala Tyr Asp Val Ser Ser Phe Ser Phe Phe Gln  
20 25 30

Arg Ser Ser Val Gln Glu Phe Met Thr Phe Thr Ser Gln Leu Ile Val

35

40

45

Glu Arg Ser Ser Lys Gly Thr Arg Ala Ser Val Lys Glu Gln Asp Tyr  
50 55 60

Leu Cys His Val Tyr Val Arg Asn Asp Ser Leu Ala Gly Val Val Ile  
65 70 75 80

Ala Asp Asn Glu Tyr Pro Ser Arg Val Ala Phe Thr Leu Leu Glu Lys  
85 90 95

Val Leu Asp Glu Phe Ser Lys Gln Val Asp Arg Ile Asp Trp Pro Val  
100 105 110

Gly Ser Pro Ala Thr Ile His Tyr Pro Ala Leu Asp Gly His Leu Ser  
115 120 125

Arg Tyr Gln Asn Pro Arg Glu Ala Asp Pro Met Thr Lys Val Gln Ala  
130 135 140

Glu Leu Asp Glu Thr Lys Ile Ile Leu His Asn Thr Met Glu Ser Leu  
145 150 155 160

Leu Glu Arg Gly Glu Lys Leu Asp Asp Leu Val Ser Lys Ser Glu Val  
165 170 175

Leu Gly Thr Gln Ser Lys Ala Phe Tyr Lys Thr Ala Arg Lys Gln Asn  
180 185 190

Ser Cys Cys Ala Ile Ile  
195

<210> 45

<211> 898

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 45

Met Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly  
1 5 10 15

Ile Asn Val Ile Thr Met Arg Pro Pro Arg His Ser Asp Lys Ile Asn  
20 25 30

Lys Gly Lys Gly Pro Phe Lys Ala Phe Gln Val Ile Lys Asn Ile Trp  
35 40 45

Ile Val Pro Glu Arg Tyr Asn Phe Thr Asn Asn Thr Asn Asp Leu Asn  
50 55 60

Ile Pro Ser Glu Pro Ile Met Glu Ala Asp Ala Ile Tyr Asn Pro Asn  
65 70 75 80

Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu Gln Gly Val Ile  
85 90 95

Lys Val Leu Glu Arg Ile Lys Ser Lys Pro Glu Gly Glu Lys Leu Leu  
100 105 110

Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val Ser Asn Gly Ala  
115 120 125

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln Glu Asn Asn Asn  
130 135 140

Ile Val Ser Asn Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser  
165 170 175

Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr Leu  
180 185 190

Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile  
195 200 205

Val Asn Lys Phe Val Lys Arg Glu Phe Ala Pro Asp Pro Ala Ser Thr  
210 215 220

Leu Met His Glu Leu Val His Val Thr His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser  
225 230 235 240

Asn Arg Asn Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser  
245 250 255

Arg Gln Gln Asn Ser Leu Ile Phe Glu Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gly  
260 265 270

Ile Asp Ser Lys Ala Ile Ser Ser Leu Ile Ile Lys Lys Ile Ile Glu  
275 280 285

Thr Ala Lys Asn Asn Tyr Thr Thr Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr  
290 295 300

Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile Lys Asn Lys Ile Pro  
305 310 315 320

Val Gln Gly Arg Leu Gly Asn Phe Lys Leu Asp Thr Ala Glu Phe Glu  
325 330 335

Lys Lys Leu Asn Thr Ile Leu Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala  
340 345 350

Gln Arg Phe Ser Ile Leu Val Arg Lys His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro  
355 360 365

Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr  
370 375 380

Leu Glu Gly Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly  
385 390 395 400

Gln Leu Leu Glu Ser Ser Tyr Phe Glu Lys Ile Glu Ser Asn Ala Leu  
405 410 415

Arg Ala Phe Ile Lys Ile Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala  
420 425 430

Ile Tyr Arg Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp  
435 440 445

Lys Lys Thr Thr Ser Lys Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu  
450 455 460

Asn Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu Ile Ser Asn  
465 470 475 480

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
485 490 495

Glu Thr Thr Val Phe Phe Lys Asp Lys Leu Pro Pro Gln Asp Ile Thr  
500 505 510

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
515 520 525

Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg  
530 535 540

Asn Ser Leu Phe Glu Ile Lys Thr Ile Tyr Val Asp Lys Leu Thr Thr  
545 550 555 560

Phe His Phe Leu Glu Ala Gln Asn Ile Asp Glu Ser Ile Asp Ser Ser  
565 570 575

Lys Ile Arg Val Glu Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn  
580 585 590

Pro Asn Lys Val Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn  
595 600 605

Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile Phe Tyr Gln Trp Leu  
610 615 620

Arg Ser Ile Val Lys Asp Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val  
625 630 635 640

Ile Asp Lys Ser Ser Asp Thr Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro  
645 650 655

Leu Leu Asn Ile Gly Asn Asp Ile Arg His Gly Asp Phe Val Gly Ala  
660 665 670

Ile Glu Leu Ala Gly Ile Thr Ala Leu Leu Glu Tyr Val Pro Glu Phe  
675 680 685

Thr Ile Pro Ile Leu Val Gly Leu Glu Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala  
690 695 700

Arg Glu Gln Val Glu Ala Ile Val Asn Asn Ala Leu Asp Lys Arg Asp  
705 710 715 720

Gln Lys Trp Ala Glu Val Tyr Asn Ile Thr Lys Ala Gln Trp Trp Gly  
725 730 735

Thr Ile His Leu Gln Ile Asn Thr Arg Leu Ala His Thr Tyr Lys Ala  
740 745 750

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn Met Glu Phe Gln Leu  
755 760 765

Ala Asn Tyr Lys Gly Asn Ile Asp Asp Lys Ala Lys Ile Lys Asn Ala  
770 775 780

Ile Ser Glu Thr Glu Ile Leu Leu Asn Lys Ser Val Glu Gln Ala Met  
785 790 795 800

Lys Asn Thr Glu Lys Phe Met Ile Lys Leu Ser Asn Ser Tyr Leu Thr  
805 810 815



Lys Glu Met Ile Pro Lys Val Gln Asp Asn Leu Lys Asn Phe Asp Leu  
820 825 830

Glu Thr Lys Lys Thr Leu Asp Lys Phe Ile Lys Glu Lys Glu Asp Ile  
835 840 845

Leu Gly Thr Asn Leu Ser Ser Ser Leu Arg Arg Lys Val Ser Ile Arg  
850 855 860

Leu Asn Lys Asn Ile Ala Phe Asp Ile Asn Asp Ile Pro Phe Ser Glu  
865 870 875 880

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Ile Leu Pro Glu Thr  
885 890 895

Gly Gly

<210> 46

<211> 415

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 46

Gly Glu Asp Tyr Glu Val Leu Asn Leu Gly Ala Glu Asp Gly Lys Ile  
1 5 10 15

Lys Asp Leu Ser Gly Thr Thr Ser Asp Ile Asn Ile Gly Ser Asp Ile  
20 25 30

Glu Leu Ala Asp Gly Arg Glu Asn Lys Ala Ile Lys Ile Lys Gly Ser  
35 40 45

Glu Asn Ser Thr Ile Lys Ile Ala Met Asn Lys Tyr Leu Arg Phe Ser  
50 55 60

Ala Thr Asp Asn Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Lys His Pro Lys Pro  
65 70 75 80

Thr Asn Leu Leu Asn Asn Gly Ile Glu Tyr Thr Leu Val Glu Asn Phe  
85 90 95

Asn Gln Arg Gly Trp Lys Ile Ser Ile Gln Asp Ser Lys Leu Ile Trp  
100 105 110

Tyr Leu Arg Asp His Asn Asn Ser Ile Lys Ile Val Thr Pro Asp Tyr

115

120

125

Ile Ala Phe Asn Gly Trp Asn Leu Ile Thr Ile Thr Asn Asn Arg Ser  
 130 135 140

Lys Gly Ser Ile Val Tyr Val Asn Gly Ser Lys Ile Glu Glu Lys Asp  
 145 150 155 160

Ile Ser Ser Ile Trp Asn Thr Glu Val Asp Asp Pro Ile Ile Phe Arg  
 165 170 175

Leu Lys Asn Asn Arg Asp Thr Gln Ala Phe Thr Leu Leu Asp Gln Phe  
 180 185 190

Ser Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Asn Gln Asn Glu Val Val Lys Leu Tyr  
 195 200 205

Asn Tyr Tyr Phe Asn Ser Asn Tyr Ile Arg Asp Ile Trp Gly Asn Pro  
 210 215 220

Leu Gln Tyr Asn Lys Lys Tyr Tyr Leu Gln Thr Gln Asp Lys Pro Gly  
 225 230 235 240

Lys Gly Leu Ile Arg Glu Tyr Trp Ser Ser Phe Gly Tyr Asp Tyr Val  
 245 250 255

Ile Leu Ser Asp Ser Lys Thr Ile Thr Phe Pro Asn Asn Ile Arg Tyr  
 260 265 270

Gly Ala Leu Tyr Asn Gly Ser Lys Val Leu Ile Lys Asn Ser Lys Lys  
 275 280 285

Leu Asp Gly Leu Val Arg Asn Lys Asp Phe Ile Gln Leu Glu Ile Asp  
 290 295 300

Gly Tyr Asn Met Gly Ile Ser Ala Asp Arg Phe Asn Glu Asp Thr Asn  
 305 310 315 320

Tyr Ile Gly Thr Thr Tyr Gly Thr Thr His Asp Leu Thr Thr Asp Phe  
 325 330 335

Glu Ile Ile Gln Arg Gln Glu Lys Tyr Arg Asn Tyr Cys Gln Leu Lys  
 340 345 350

Thr Pro Tyr Asn Ile Phe His Lys Ser Gly Leu Met Ser Thr Glu Thr  
 355 360 365

Ser Lys Pro Thr Phe His Asp Tyr Arg Asp Trp Val Tyr Ser Ser Ala

370

375

380

Trp Tyr Phe Gln Asn Tyr Glu Asn Leu Asn Leu Arg Lys His Thr Lys  
385 390 395 400

Thr Asn Trp Tyr Phe Ile Pro Lys Asp Glu Gly Trp Asp Glu Asp  
405 410 415

<210> 47

<211> 424

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 47

Ile Ile Asn Thr Ser Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Glu Ser Asn His Leu  
1 5 10 15

Ile Asp Leu Ser Arg Tyr Ala Ser Lys Ile Asn Ile Gly Ser Lys Val  
20 25 30

Asn Phe Asp Pro Ile Asp Lys Asn Gln Ile Gln Leu Phe Asn Leu Glu  
35 40 45

Ser Ser Lys Ile Glu Val Ile Leu Lys Asn Ala Ile Val Tyr Asn Ser  
50 55 60

Met Tyr Glu Asn Phe Ser Thr Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr  
65 70 75 80

Phe Asn Ser Ile Ser Leu Asn Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys Met  
85 90 95

Glu Asn Asn Ser Gly Trp Lys Val Ser Leu Asn Tyr Gly Glu Ile Ile  
100 105 110

Trp Thr Leu Gln Asp Thr Gln Glu Ile Lys Gln Arg Val Val Phe Lys  
115 120 125

Tyr Ser Gln Met Ile Asn Ile Ser Asp Tyr Ile Asn Arg Trp Ile Phe  
130 135 140

Val Thr Ile Thr Asn Asn Arg Leu Asn Asn Ser Lys Ile Tyr Ile Asn  
145 150 155 160

Gly Arg Leu Ile Asp Gln Lys Pro Ile Ser Asn Leu Gly Asn Ile His  
165 170 175

Ala Ser Asn Asn Ile Met Phe Lys Leu Asp Gly Cys Arg Asp Thr His  
 180 185 190

Arg Tyr Ile Trp Ile Lys Tyr Phe Asn Leu Phe Asp Lys Glu Leu Asn  
 195 200 205

Glu Lys Glu Ile Lys Asp Leu Tyr Asp Asn Gln Ser Asn Ser Gly Ile  
 210 215 220

Leu Lys Asp Phe Trp Gly Asp Tyr Leu Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Tyr  
 225 230 235 240

Met Leu Asn Leu Tyr Asp Pro Asn Lys Tyr Val Asp Val Asn Asn Val  
 245 250 255

Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly Ser Val Met  
 260 265 270

Thr Thr Asn Ile Tyr Leu Asn Ser Ser Leu Tyr Arg Gly Thr Lys Phe  
 275 280 285

Ile Ile Lys Lys Tyr Ala Ser Gly Asn Lys Asp Asn Ile Val Arg Asn  
 290 295 300

Asn Asp Arg Val Tyr Ile Asn Val Val Val Lys Asn Lys Glu Tyr Arg  
 305 310 315 320

Leu Ala Thr Asn Ala Ser Gln Ala Gly Val Glu Lys Ile Leu Ser Ala  
 325 330 335

Leu Glu Ile Pro Asp Val Gly Asn Leu Ser Gln Val Val Val Met Lys  
 340 345 350

Ser Lys Asn Asp Gln Gly Ile Thr Asn Lys Cys Lys Met Asn Leu Gln  
 355 360 365

Asp Asn Asn Gly Asn Asp Ile Gly Phe Ile Gly Phe His Gln Phe Asn  
 370 375 380

Asn Ile Ala Lys Leu Val Ala Ser Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu  
 385 390 395 400

Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp  
 405 410 415

Asp Gly Trp Gly Glu Arg Pro Leu  
 420

<210> 48  
<211> 432  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 48

Ile Leu Asn Asn Ile Ile Leu Asn Leu Arg Tyr Lys Asp Asn Asn Leu  
1 5 10 15

Ile Asp Leu Ser Gly Tyr Gly Ala Lys Val Glu Val Tyr Asp Gly Val  
20 25 30

Glu Leu Asn Asp Lys Asn Gln Phe Lys Leu Thr Ser Ser Ala Asn Ser  
35 40 45

Lys Ile Arg Val Thr Gln Asn Gln Asn Ile Ile Phe Asn Ser Val Phe  
50 55 60

Leu Asp Phe Ser Val Ser Phe Trp Ile Arg Ile Pro Lys Tyr Lys Asn  
65 70 75 80

Asp Gly Ile Gln Asn Tyr Ile His Asn Glu Tyr Thr Ile Ile Asn Cys  
85 90 95

Met Lys Asn Asn Ser Gly Trp Lys Ile Ser Ile Arg Gly Asn Arg Ile  
100 105 110

Ile Trp Thr Leu Ile Asp Ile Asn Gly Lys Thr Lys Ser Val Phe Phe  
115 120 125

Glu Tyr Asn Ile Arg Glu Asp Ile Ser Glu Tyr Ile Asn Arg Trp Phe  
130 135 140

Phe Val Thr Ile Thr Asn Asn Leu Asn Asn Ala Lys Ile Tyr Ile Asn  
145 150 155 160

Gly Lys Leu Glu Ser Asn Thr Asp Ile Lys Asp Ile Arg Glu Val Ile  
165 170 175

Ala Asn Gly Glu Ile Ile Phe Lys Leu Asp Gly Asp Ile Asp Arg Thr  
180 185 190

Gln Phe Ile Trp Met Lys Tyr Phe Ser Ile Phe Asn Thr Glu Leu Ser  
195 200 205

Gln Ser Asn Ile Glu Glu Arg Tyr Lys Ile Gln Ser Tyr Ser Glu Tyr



Ile Asn Asp Ser Lys Ile Leu Ser Leu Gln Asn Arg Lys Asn Thr Leu  
1 5 10 15

Val Asp Thr Ser Gly Tyr Asn Ala Glu Val Ser Glu Glu Gly Asp Val  
20 25 30

Gln Leu Asn Pro Ile Phe Pro Phe Asp Phe Lys Leu Gly Ser Ser Gly  
35 40 45

Glu Asp Arg Gly Lys Val Ile Val Thr Gln Asn Glu Asn Ile Val Tyr  
50 55 60

Asn Ser Met Tyr Glu Ser Phe Ser Ile Ser Phe Trp Ile Arg Ile Asn  
65 70 75 80

Lys Trp Val Ser Asn Leu Pro Gly Tyr Thr Ile Ile Asp Ser Val Lys  
85 90 95

Asn Asn Ser Gly Trp Ser Ile Gly Ile Ile Ser Asn Phe Leu Val Phe  
100 105 110

Thr Leu Lys Gln Asn Glu Asp Ser Glu Gln Ser Ile Asn Phe Ser Tyr  
115 120 125

Asp Ile Ser Asn Asn Ala Pro Gly Tyr Asn Lys Trp Phe Phe Val Thr  
130 135 140

Val Thr Asn Asn Met Met Gly Asn Met Lys Ile Tyr Ile Asn Gly Lys  
145 150 155 160

Leu Ile Asp Thr Ile Lys Val Lys Glu Leu Thr Gly Ile Asn Phe Ser  
165 170 175

Lys Thr Ile Thr Phe Glu Ile Asn Lys Ile Pro Asp Thr Gly Leu Ile  
180 185 190

Thr Ser Asp Ser Asp Asn Ile Asn Met Trp Ile Arg Asp Phe Tyr Ile  
195 200 205

Phe Ala Lys Glu Leu Asp Gly Lys Asp Ile Asn Ile Leu Phe Asn Ser  
210 215 220

Leu Gln Tyr Thr Asn Val Val Lys Asp Tyr Trp Gly Asn Asp Leu Arg  
225 230 235 240

Tyr Asn Lys Glu Tyr Tyr Met Val Asn Ile Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr  
245 250 255

Met Tyr Ala Asn Ser Arg Gln Ile Val Phe Asn Thr Arg Arg Asn Asn  
260 265 270

Asn Asp Phe Asn Glu Gly Tyr Lys Ile Ile Ile Lys Arg Ile Arg Gly  
275 280 285

Asn Thr Asn Asp Thr Arg Val Arg Gly Gly Asp Ile Leu Tyr Phe Asp  
290 295 300

Met Thr Ile Asn Asn Lys Ala Tyr Asn Leu Phe Met Lys Asn Glu Thr  
305 310 315 320

Met Tyr Ala Asp Asn His Ser Thr Glu Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Leu  
325 330 335

Arg Glu Gln Thr Lys Asp Ile Asn Asp Asn Ile Ile Phe Gln Ile Gln  
340 345 350

Pro Met Asn Asn Thr Tyr Tyr Tyr Ala Ser Gln Ile Phe Lys Ser Asn  
355 360 365

Phe Asn Gly Glu Asn Ile Ser Gly Ile Cys Ser Ile Gly Thr Tyr Arg  
370 375 380

Phe Arg Leu Gly Gly Asp Trp Tyr Arg His Asn Tyr Leu Val Pro Thr  
385 390 395 400

Val Lys Gln Gly Asn Tyr Ala Ser Leu Leu Glu Ser Thr Ser Thr His  
405 410 415

Trp Gly Phe Val Pro Val Ser Glu  
420

<210> 50  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 50

Leu Val Pro Arg Gly Ser  
1 5

<210> 51  
<211> 7  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность



<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 51

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly  
1 5

<210> 52  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 52

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro  
1 5

<210> 53  
<211> 4  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 53

Ile Glu Gly Arg  
1

<210> 54  
<211> 4  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 54

Ile Asp Gly Arg  
1

<210> 55  
<211> 5  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 55

Asp Asp Asp Asp Lys  
1 5

<210> 56  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 56

Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly  
1 5

<210> 57  
<211> 5  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной\_признак  
<222> (3)..(3)  
<223> Хаа может представлять собой любую природную аминокислоту

<400> 57

Leu Pro Xaa Thr Gly  
1 5

<210> 58  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 58

Leu Pro Glu Thr Gly Gly  
1 5

<210> 59  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 59

Leu Pro Glu Thr Gly Ser  
1 5

<210> 60

<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> иной\_признак  
<222> (3)..(3)  
<223> Хаа может представлять собой любую природную аминокислоту

<400> 60

Leu Pro Xaa Thr Gly Gly  
1 5

<210> 61  
<211> 101  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 61

Gly Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr Gly  
1 5 10 15

Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp Arg  
20 25 30

Trp Gly Ser Met Ser Ala Thr Ala Ala Thr Val Pro Pro Ala Ala Pro  
35 40 45

Ala Gly Glu Gly Gly Pro Pro Ala Pro Pro Pro Asn Leu Thr Ser Asn  
50 55 60

Arg Arg Leu Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile  
65 70 75 80

Met Arg Val Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser  
85 90 95

Glu Leu Asp Asp Arg  
100

<210> 62  
<211> 27  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 62

Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Thr Ser Ala Ala  
1 5 10 15

Lys Leu Lys Arg Lys Tyr Trp Trp Lys Asn Leu  
20 25

<210> 63

<211> 54

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 63

Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile Met Arg Val  
1 5 10 15

Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser Glu Leu Asp  
20 25 30

Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Thr Ser  
35 40 45

Ala Ala Lys Leu Lys Arg  
50

<210> 64

<211> 54

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 64

Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Glu Glu Val Val Asp Ile Met Arg Val  
1 5 10 15

Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser Glu Leu Asp  
20 25 30

Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Ser Ser  
35 40 45

Ala Ala Lys Leu Lys Arg  
50

<210> 65

<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 65

Gln Gln Thr Gln Asn Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile Met Arg Val  
1 5 10 15

Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser Glu Leu Asp  
20 25 30

Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Thr Ser  
35 40 45

Ala Ala Lys Leu Lys Arg  
50

<210> 66  
<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 66

Lys His Val Gln Asn Gln Val Asp Glu Val Ile Asp Val Met Gln Glu  
1 5 10 15

Asn Ile Thr Lys Val Ile Glu Arg Gly Glu Arg Leu Asp Glu Leu Gln  
20 25 30

Asp Lys Ser Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ala Thr Ala Phe Ser Asn Arg  
35 40 45

Ser Lys Gln Leu Arg Arg  
50

<210> 67  
<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 67

Glu Arg Cys Gln Gln Gln Ala Asn Glu Val Thr Glu Ile Met Arg Asn  
1 5 10 15

Asn Phe Gly Lys Val Leu Glu Arg Gly Val Lys Leu Ala Glu Leu Gln  
20 25 30

Gln Arg Ser Asp Gln Leu Leu Asp Met Ser Ser Thr Phe Asn Lys Thr  
35 40 45

Thr Gln Asn Leu Ala Gln  
50

<210> 68  
<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 68

Thr Glu Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Leu Lys Gly Ile Met Val Arg  
1 5 10 15

Asn Ile Asp Leu Val Ala Gln Arg Gly Glu Arg Leu Glu Leu Leu Ile  
20 25 30

Asp Lys Thr Glu Asn Leu Val Asp Ser Ser Val Thr Phe Lys Thr Thr  
35 40 45

Ser Arg Asn Leu Ala Arg  
50

<210> 69  
<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 69

Arg Asn Leu Gln Ser Glu Val Glu Gly Val Lys Asn Ile Met Thr Gln  
1 5 10 15

Asn Val Glu Arg Ile Leu Ala Arg Gly Glu Asn Leu Asp His Leu Arg  
20 25 30

Asn Lys Thr Glu Asp Leu Glu Ala Thr Ser Glu His Phe Lys Thr Thr  
35 40 45

Ser Gln Lys Val Ala Arg  
50

<210> 70  
<211> 54  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 70

Gly Ser Ile Asn Thr Glu Leu Gln Asp Val Gln Arg Ile Met Val Ala  
1 5 10 15

Asn Ile Glu Glu Val Leu Gln Arg Gly Glu Ala Leu Ser Ala Leu Asp  
20 25 30

Ser Lys Ala Asn Asn Leu Ser Ser Leu Ser Lys Lys Tyr Arg Gln Asp  
35 40 45

Ala Lys Tyr Leu Asn Met  
50

<210> 71  
<211> 50  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 71

Ser Lys Val Gln Ala Glu Leu Asp Glu Thr Lys Ile Ile Leu His Asn  
1 5 10 15

Thr Met Glu Ser Leu Leu Glu Arg Gly Glu Lys Leu Asp Asp Leu Val  
20 25 30

Ser Lys Ser Glu Val Leu Gly Thr Gln Ser Lys Ala Phe Tyr Lys Thr  
35 40 45

Ala Arg  
50

<210> 72  
<211> 25  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 72

Cys Val Arg Gly Ile Ile Thr Ser Lys Thr Lys Ser Leu Asp Lys Gly

1 5 10 15

Tyr Asn Lys Ala Leu Asn Asp Leu Cys  
20 25

<210> 73  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 73

Cys Lys Ser Val Lys Ala Pro Gly Ile Cys  
1 5 10

<210> 74  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 74

Cys His Lys Ala Ile Asp Gly Arg Ser Leu Tyr Asn Lys Thr Leu Asp  
1 5 10 15

Cys

<210> 75  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 75

Cys Leu Arg Leu Thr Lys Asn Ser Arg Asp Asp Ser Thr Cys  
1 5 10

<210> 76  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 76

Cys Lys Asn Ile Val Ser Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Ile Cys



1 5 10 15

<210> 77  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 77

Cys Lys Ser Val Ile Pro Arg Lys Gly Thr Lys Ala Pro Pro Arg Leu  
1 5 10 15

Cys

<210> 78  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 78

Cys Lys Pro Val Met Tyr Lys Asn Thr Gly Lys Ser Glu Gln Cys  
1 5 10 15

<210> 79  
<211> 45  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 79

Cys Pro Arg Asn Gly Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Tyr Arg Asn Ser Lys  
1 5 10 15

Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser Lys  
20 25 30

Thr Asn Val Ser Tyr Pro Cys Ser Leu Leu Asn Gly Cys  
35 40 45

<210> 80  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<220>  
<221> ИНОЙ\_ПРИЗНАК  
<222> (1)..(1)  
<223> Модифицированная GST

<400> 80

Leu Val Pro Arg Gly Ser  
1 5

<210> 81  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 81

Leu Pro Glu Thr Gly Gly His His His His His His  
1 5 10

<210> 82  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 82

Gly Gly His His His His His His  
1 5

<210> 83  
<211> 128  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 83

Gly Gly Ser His His His His His His Gly Met Ala Ser Met Thr Gly  
1 5 10 15

Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp Arg  
20 25 30

Trp Gly Ser Met Ser Ala Thr Ala Ala Thr Val Pro Pro Ala Ala Pro  
35 40 45

Ala Gly Glu Gly Gly Pro Pro Ala Pro Pro Pro Asn Leu Thr Ser Asn

50

55

60

Arg Arg Leu Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile  
65 70 75 80

Met Arg Val Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser  
85 90 95

Glu Leu Asp Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe  
100 105 110

Glu Thr Ser Ala Ala Lys Leu Lys Arg Lys Tyr Trp Trp Lys Asn Leu  
115 120 125

<210> 84

<211> 280

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 84

Met Ser Pro Ile Leu Gly Tyr Trp Lys Ile Lys Gly Leu Val Gln Pro  
1 5 10 15

Thr Arg Leu Leu Leu Glu Tyr Leu Glu Glu Lys Tyr Glu Glu His Leu  
20 25 30

Tyr Glu Arg Asp Glu Gly Asp Lys Trp Arg Asn Lys Lys Phe Glu Leu  
35 40 45

Gly Leu Glu Phe Pro Asn Leu Pro Tyr Tyr Ile Asp Gly Asp Val Lys  
50 55 60

Leu Thr Gln Ser Met Ala Ile Ile Arg Tyr Ile Ala Asp Lys His Asn  
65 70 75 80

Met Leu Gly Gly Cys Pro Lys Glu Arg Ala Glu Ile Ser Met Leu Glu  
85 90 95

Gly Ala Val Leu Asp Ile Arg Tyr Gly Val Ser Arg Ile Ala Tyr Ser  
100 105 110

Lys Asp Phe Glu Thr Leu Lys Val Asp Phe Leu Ser Lys Leu Pro Glu  
115 120 125

Met Leu Lys Met Phe Glu Asp Arg Leu Cys His Lys Thr Tyr Leu Asn  
130 135 140

Gly Asp His Val Thr His Pro Asp Phe Met Leu Tyr Asp Ala Leu Asp  
145 150 155 160

Val Val Leu Tyr Met Asp Pro Met Cys Leu Asp Ala Phe Pro Lys Leu  
165 170 175

Val Cys Phe Lys Lys Arg Ile Glu Ala Ile Pro Gln Ile Asp Lys Tyr  
180 185 190

Leu Lys Ser Ser Lys Tyr Ile Ala Trp Pro Leu Gln Gly Trp Gln Ala  
195 200 205

Thr Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Val Pro Arg  
210 215 220

Gly Ser Gln Gln Thr Gln Ala Gln Val Asp Glu Val Val Asp Ile Met  
225 230 235 240

Arg Val Asn Val Asp Lys Val Leu Glu Arg Asp Gln Lys Leu Ser Glu  
245 250 255

Leu Asp Asp Arg Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu  
260 265 270

Thr Ser Ala Ala Lys Leu Lys Arg  
275 280

<210> 85  
<211> 20  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 85

Ala Asp Ala Leu Gln Ala Gly Ala Ser Gln Phe Glu Thr Ser Ala Ala  
1 5 10 15

Lys Leu Lys Arg  
20

<210> 86  
<211> 260  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 86

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

Leu Asp Asp Arg  
260

<210> 87  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 87

Glu Ser Leu Leu Glu Arg Gly Glu Lys Leu Asp Asp Leu Val Ser Lys  
1 5 10 15

<210> 88  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 88

Asp Glu Leu Gln Asp Lys  
1 5

<210> 89  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 89

Ser Glu Ser Leu Ser Asp Asn Ala Thr Ala Phe  
1 5 10

<210> 90  
<211> 6  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 90

Ala Glu Leu Gln Gln Arg  
1 5

<210> 91  
<211> 11  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 91

Ser Asp Gln Leu Leu Asp Met Ser Ser Thr Phe  
1 5 10

<210> 92

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 92

His Glu Leu Val His  
1 5

<210> 93

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 93

Ser Ala Trp Tyr  
1

<210> 94

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 94

Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn  
1 5

<210> 95

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 95

Lys Leu Glu Ile Asn Lys Phe Asn

1 5

<210> 96  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 96

Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val Ile Thr Met Arg  
1 5 10 15

<210> 97  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 97

Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val Ile Thr Met Arg  
1 5 10 15

<210> 98  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 98

Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val Ile Thr  
1 5 10

<210> 99  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 99

Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val  
1 5 10

<210> 100  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность



<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 100

Phe Asn Tyr Asn Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val  
1 5 10

<210> 101  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 101

Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val Ile Thr  
1 5 10

<210> 102  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 102

Asp Pro Ile Asp Gly Ile Asn Val Ile Thr  
1 5 10

<210> 103  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 103

Tyr Asn Pro Asn Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu  
1 5 10 15

Gln Gly Val Ile Lys Val Leu Glu  
20

<210> 104  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 104

Tyr Asn Pro Asn Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu  
1 5 10 15

Gln Gly Val Ile Lys Val Leu Glu  
20

<210> 105  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 105

Tyr Asn Pro Asn Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu  
1 5 10 15

Gln Gly Val Ile Lys Val Leu Glu  
20

<210> 106  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 106

Tyr Asn Pro Asn Tyr Leu Asn Thr Pro Ser Glu Lys Asp Glu Phe Leu  
1 5 10 15

Gln Gly Val Ile Lys Val Leu Glu  
20

<210> 107  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 107

Leu Leu Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 108  
<211> 13  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 108

Leu Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 109  
<211> 13  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 109

Leu Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 110  
<211> 13  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 110

Leu Glu Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 111  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 111

Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 112  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 112

Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 113  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 113

Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 114  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 114

Leu Ile Ser Ser Ser Ile Pro Leu Pro Leu Val  
1 5 10

<210> 115  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 115

Leu Val Ser Asn Gly Ala Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala  
1 5 10 15

Tyr Gln

<210> 116  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 116

Leu Val Ser Asn Gly Ala Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala  
1 5 10 15

Tyr Gln

<210> 117  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 117

Leu Val Ser Asn Gly Ala Leu Thr  
1 5

<210> 118  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 118

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln  
1 5 10

<210> 119  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 119

Leu Thr Leu Ser Asp Asn Glu Thr Ile Ala Tyr Gln  
1 5 10

<210> 120  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 120

Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro Asp Ile Ala Asn  
1 5 10 15

Asn Ala Thr Tyr Gly  
20

<210> 121  
<211> 21  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 121

Leu Gln Ala Asn Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro Asp Ile Ala Asn  
1 5 10 15

Asn Ala Thr Tyr Gly  
20

<210> 122

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 122

Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro Asp Ile Ala Asn Asn Ala  
1 5 10

<210> 123

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 123

Leu Val Ile Tyr Gly Pro Gly Pro Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr  
1 5 10 15

Gly

<210> 124

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 124

Tyr Gly Pro Gly Pro Asp Ile Ala Asn Asn Ala Thr Tyr Gly  
1 5 10

<210> 125

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 125

Asn Ala Thr Tyr Gly Leu Tyr Ser  
1 5

<210> 126

<211> 21

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 126

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Val Ser Phe Ser  
20

<210> 127

<211> 21

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 127

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Val Ser Phe Ser  
20

<210> 128

<211> 24

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 128

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 129  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 129

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 130  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 130

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu

<210> 131  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 131

Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu

<210> 132  
<211> 24  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 132



Tyr Gly Leu Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser  
1 5 10 15

Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 133  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 133

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe

<210> 134  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 134

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 135  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 135

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 136

<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 136

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 137  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 137

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 138  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 138

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 139  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 139

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser

1 5 10 15

Phe Ser

<210> 140  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 140

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 141  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 141

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 142  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 142

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 143  
<211> 18  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 143

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 144

<211> 21

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 144

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 145

<211> 21

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 145

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 146

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 146

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 147  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 147

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser

<210> 148  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 148

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu  
1 5 10

<210> 149  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 149

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 150  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 150

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu Val Ser  
1 5 10 15

Phe Ser Pro Phe Tyr  
20

<210> 151  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 151

Tyr Ser Thr Pro Ile Ser Asn Gly Glu Gly Thr Leu Ser Glu  
1 5 10

<210> 152  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 152

Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr  
1 5 10

<210> 153  
<211> 10  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 153

Leu Ser Glu Val Ser Phe Ser Pro Phe Tyr  
1 5 10

<210> 154  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 154

Phe Tyr Leu Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg  
1 5 10

<210> 155  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 155

Phe Tyr Leu Lys Pro Phe Asp Glu Ser Tyr Gly  
1 5 10

<210> 156  
<211> 9  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 156

Phe Asp Glu Ser Tyr Gly Asn Tyr Arg  
1 5

<210> 157  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 157

Tyr Gly Asn Tyr Arg Ser Leu Val Asn Ile Val Asn Lys Phe Val  
1 5 10 15

<210> 158  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 158

His Asn Leu Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Asn Phe Tyr  
1 5 10

<210> 159  
<211> 18  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 159

Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser Arg Gln Gln  
1 5 10 15

Asn Ser

<210> 160

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 160

Phe Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser Arg Gln Gln  
1 5 10 15

Asn Ser

<210> 161

<211> 19

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 161

Tyr Tyr Asn Phe Asp Thr Gly Lys Ile Glu Thr Ser Arg Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ser Leu Ile

<210> 162

<211> 19

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 162

Leu Ile Ser Glu Arg Leu Asn Thr Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu  
1 5 10 15

Lys Tyr Ile



<210> 163  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 163

Leu Asn Thr Val Thr Val Glu Asn Asp Leu Leu Lys Tyr Ile  
1 5 10

<210> 164  
<211> 13  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 164

Phe Val Leu Asn Glu Ser Asn Leu Ala Gln Arg Phe Ser  
1 5 10

<210> 165  
<211> 22  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 165

His Tyr Leu Lys Glu Arg Pro Ile Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu  
1 5 10 15

Asp Asp Asn Ser Tyr Ser  
20

<210> 166  
<211> 14  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 166

Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser  
1 5 10

<210> 167  
<211> 14  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 167

Asp Pro Ile Tyr Val Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser  
1 5 10

<210> 168

<211> 12

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 168

Asn Ile Leu Asp Asp Asn Ser Tyr Ser Thr Leu Glu  
1 5 10

<210> 169

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 169

Tyr Ser Thr Leu Glu Gly Phe Asn  
1 5

<210> 170

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 170

Tyr Ser Thr Leu Glu Gly Phe Asn  
1 5

<210> 171

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 171

Tyr Ser Thr Leu Glu Gly Phe Asn

1

5

<210> 172  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 172

Tyr Ser Thr Leu Glu Gly Phe Asn  
1 5

<210> 173  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 173

Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly Gln Leu Leu  
1 5 10 15

Glu

<210> 174  
<211> 22  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 174

Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly Gln Leu Leu  
1 5 10 15

Glu Ser Ser Tyr Phe Glu  
20

<210> 175  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 175

Phe Asn Ile Ser Ser Gln Gly Ser Asn Asp Phe Gln Gly Gln Leu

1 5 10 15

<210> 176  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 176

Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Tyr Arg  
1 5

<210> 177  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 177

Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Tyr Arg  
1 5

<210> 178  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 178

Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr  
1 5 10 15

<210> 179  
<211> 20  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 179

Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

Lys Thr Asn Val  
20

<210> 180

<211> 20  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 180

Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

Lys Thr Asn Val  
20

<210> 181  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 181

Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

<210> 182  
<211> 19  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 182

Lys Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

Lys Thr Asn

<210> 183  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 183

Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

<210> 184

<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 184

Asn Tyr Leu Asn Asn Ile Asp Leu Glu Asp Lys Lys Thr Thr Ser  
1 5 10 15

<210> 185  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 185

Gly Cys Ile Glu Val Glu Asn Lys Asp Leu Phe Leu  
1 5 10

<210> 186  
<211> 27  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 186

Phe Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu  
1 5 10 15

Glu Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe  
20 25

<210> 187  
<211> 27  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 187

Phe Leu Ile Ser Asn Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu  
1 5 10 15

Glu Lys Ile Lys Pro Glu Thr Thr Val Phe Phe  
20 25

<210> 188

<211> 22  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 188

Lys Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro  
1 5 10 15

Glu Thr Thr Val Phe Phe  
20

<210> 189  
<211> 21  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 189

Asp Ser Leu Asn Asp Ile Asn Leu Ser Glu Glu Lys Ile Lys Pro Glu  
1 5 10 15

Thr Thr Val Phe Phe  
20

<210> 190  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 190

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile  
1 5 10 15

<210> 191  
<211> 19  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 191

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser  
1 5 10 15

Gln Gln Asn

<210> 192  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 192

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser  
1 5 10

<210> 193  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 193

Leu Ser Asn Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser  
1 5 10

<210> 194  
<211> 19  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 194

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ile Leu Glu

<210> 195  
<211> 19  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 195

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ile Leu Glu



<210> 196  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 196

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

<210> 197  
<211> 16  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 197

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

<210> 198  
<211> 31  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 198

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ile Leu Glu Arg Asn Glu Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg Asn Ser  
20 25 30

<210> 199  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 199

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ile

<210> 200  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 200

Tyr Asp Phe Thr Glu Ala Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn  
1 5 10 15

Ile

<210> 201  
<211> 28  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 201

Asn Ser Ile Pro Ser Ile Ser Gln Gln Asn Ile Leu Glu Arg Asn Glu  
1 5 10 15

Glu Leu Tyr Glu Pro Ile Arg Asn Ser Leu Phe Glu  
20 25

<210> 202  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 202

Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr  
1 5 10 15

Ser

<210> 203  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 203

Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr  
1 5 10 15

Ser

<210> 204

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 204

Leu Thr Asp Ser Val Asp Glu Ala Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr  
1 5 10 15

Ser

<210> 205

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 205

Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser  
1 5

<210> 206

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 206

Leu Ser Asn Pro Asn Lys Val Tyr Ser  
1 5

<210> 207

<211> 23

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 207

Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr  
1 5 10 15

Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile  
20

<210> 208

<211> 23

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 208

Tyr Ser Pro Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr  
1 5 10 15

Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile  
20

<210> 209

<211> 20

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 209

Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr  
1 5 10 15

Ser Thr Tyr Ile  
20

<210> 210

<211> 20

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 210

Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr  
1 5 10 15

Ser Thr Tyr Ile  
20

<210> 211  
<211> 20  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 211

Phe Lys Asn Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr  
1 5 10 15

Ser Thr Tyr Ile  
20

<210> 212  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 212

Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr  
1 5 10 15

Ile

<210> 213  
<211> 17  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 213

Met Ser Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr  
1 5 10 15

Ile

<210> 214  
<211> 15  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 214

Asn Thr Ile Asn Ser Ile Glu Thr Gly Ile Thr Ser Thr Tyr Ile  
1 5 10 15

<210> 215  
<211> 19  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 215

Phe Ser Asp Glu Thr Gly Lys Ile Asp Val Ile Asp Lys Ser Ser Asp  
1 5 10 15

Thr Leu Ala

<210> 216  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 216

Leu Ala Ile Val Pro Tyr Ile Gly Pro Leu Leu  
1 5 10

<210> 217  
<211> 8  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 217

Val Pro Tyr Ile Gly Pro Leu Leu  
1 5

<210> 218  
<211> 13  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 218

Val Ile Gly Gly Glu Leu Ala Arg Glu Gln Val Glu Ala  
1 5 10

<210> 219  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 219

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn  
1 5 10

<210> 220  
<211> 11  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 220

Leu Ser Arg Gln Ala Asn Ala Ile Lys Met Asn  
1 5 10

<210> 221  
<211> 12  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 221

Phe Ser Glu Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys  
1 5 10

<210> 222  
<211> 25  
<212> Белок  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Синтетический полипептид

<400> 222

Phe Asp Asp Leu Ile Asn Gln Tyr Lys Asn Glu Gly Ser Ile Leu Pro  
1 5 10 15

Glu Thr Gly Gly Leu Glu His His His  
20 25

<210> 223  
<211> 21  
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 223

Tyr Lys Asn Glu Gly Ser Ile Leu Pro Glu Thr Gly Gly Leu Glu His  
1 5 10 15

His His His His His  
20

<210> 224

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 224

Tyr Lys Asn Glu Gly Ser Ile Leu Pro Glu Thr Gly Gly Leu Glu  
1 5 10 15

<210> 225

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 225

Tyr Lys Asn Glu Gly Ser Ile Leu Pro Glu Thr Gly Gly Leu Glu His  
1 5 10 15

His

<210> 226

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический полипептид

<400> 226

Tyr Lys Asn Glu Gly Ser Ile Leu Pro Glu Thr Gly Gly Leu Glu His  
1 5 10 15

His His



**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Выделенный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.

2. Выделенный полипептид BoNT, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 1.

3. Выделенный полипептид BoNT по п. A1, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.

4. Выделенные полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2.

5. Выделенный полипептид BoNT, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 2.

6. Выделенный полипептид BoNT по п. 4, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2.

7. Выделенный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3.

8. Выделенный полипептид BoNT, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере

86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к SEQ ID NO: 3.

9. Выделенный полипептид BoNT по п. 7, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 3.

10. Модифицированный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий одну или несколько мутаций по типу замены в положении, соответствующем C461, C467 или C1240 в SEQ ID NO: 1.

11. Модифицированный полипептид BoNT по п. 10, при этом мутация по типу замены соответствует C461S, C461A, C467S, C467A, C1240S, C1240A, C461S/C1240S, C461S/C1240A, C461A/C1240S, C461A/C1240A, C467S/C1240S, C461S/C1240A, C467A/C1240S или C467A/C1240A в SEQ ID NO: 1.

12. Модифицированный полипептид BoNT по п. 10, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO ID NO: 4-17.

13. Модифицированный полипептид BoNT по п. 10, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 4-17, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1.

14. Модифицированный полипептид BoNT по п. 10, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 4-17.

15. Модифицированный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 2.

16. Модифицированный полипептид BoNT по п. 15, при этом мутация по типу замены соответствует C461S, C461A, C467S, C467A, C1240S, C1240A, C461S/C1240S, C416S/C1240A, C461A/C1240S, C461A/C1240A, C467S/C1240S, C461S/C1240A, C467A/C1240S или C467A/C1240A в SEQ ID NO: 2.

17. Модифицированный полипептид BoNT по п. 15, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 18-21.

18. Модифицированный полипептид BoNT по п. 15, содержащий аминокислотную последовательность которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 18-21, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2.

19. Модифицированный полипептид BoNT по п. 15, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 18-21.

20. Химерные полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 22-24.

21. Химерный полипептид BoNT по п. 20, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 22-24, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

22. Химерный полипептид VoNT по п. 20, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 22-24.

23. Химерный полипептид VoNT по п. 20, дополнительно содержащий однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем С461 или С467 из SEQ ID NO: 2.

24. Химерный полипептид VoNT по п. 23, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 25-30.

25. Химерный полипептид VoNT по п. 23, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 25-30.

26. Химерный полипептид VoNT по п. 23, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 25-30.

27. Полипептид VoNT по любому из пп. 1-26, при этом полипептид VoNT проникает в клетку.

28. Полипептид VoNT по п. 27, при этом полипептид VoNT расщепляет белок SNARE в клетке.

29. Полипептид VoNT по п. 28, при этом белок SNARE выбран из группы, состоящей из SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксина 1.

30. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой VAMP1.

31. Полипептид VoNT по п. 26, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 39.

32. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой VAMP2.

33. Полипептид VoNT по п. 32, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 40.

34. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой VAMP3.

35. Полипептид VoNT по п. 34, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 41.

36. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой VAMP4.

37. Полипептид VoNT по п. 36, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K87 и S88 в SEQ ID NO: 42.

38. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой VAMP5.

39. Полипептид VoNT по п. 30, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R40 и S41 в SEQ ID NO: 43.

40. Полипептид VoNT по п. 29, при этом белок SNARE представляет собой Ykt6.

41. Полипептид VoNT по п. 40, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K173 и S174 в SEQ ID NO: 44.

42. Полипептид VoNT по любому из пп. 10-19, при этом полипептид VoNT обладает повышенной стабильностью по сравнению с соответствующим ему полипептидом VoNT дикого типа.

43. Полипептид VoNT по любому из пп. 27-42, при этом клетка представляет собой секреторную клетку.

44. Полипептид VoNT по п. 43, при этом клетка представляет собой нейрональную клетку.

45. Полипептид VoNT по п. 43, при этом клетка представляет собой иммунную клетку.

46. Полипептид VoNT по п. 45, при этом полипептид VoNT подавляет нейрональную активность.

47. Полипептид VoNT по п. 46, при этом полипептид VoNT индуцирует атрофический паралич.

48. Полипептид VoNT по любому из пп. 27-47, при этом клетка представляет собой культивируемую клетку.

49. Полипептид VoNT по любому из пп. 27-47, при этом клетка находится *in vivo*.

50. Полипептид VoNT по любому из пп. 27-49, при этом клетка является клеткой млекопитающего.

51. Полипептид VoNT по п. 50, при этом млекопитающее представляет собой человека.

52. Полипептид VoNT по п. 50, при этом млекопитающее представляет собой грызуна.

53. Полипептид VoNT по п. 52, при этом грызун представляет собой мышь.

54. Полипептид VoNT по п. 52, при этом грызун представляет собой крысу.

55. Полипептид BoNT по любому из пп. 1-54, при этом полипептид BoNT не реагирует перекрестно с антителом против серотипа A, B, C, D, E, F или G BoNT.

56. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к полипептиду BoNT по любому из пп. 1-55.

57. Вектор нуклеиновой кислоты, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 56.

58. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 56 или вектор нуклеиновой кислоты по п. 57.

59. Клетка, экспрессирующая полипептид BoNT по любому из пп. 1-55.

60. Способ получения полипептида BoNT по любому из пп. 1-55, при этом способ предусматривает стадии культивирования клетки по п. 59 в условиях, при которых продуцируется указанный полипептид BoNT.

61. Способ по п. 60, дополнительно предусматривающий извлечение полипептида BoNT из культуры.

62. Модифицированный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий:

- (a) протеазный домен;
- (b) модифицированный линкерный участок и
- (c) домен транслокации;

при этом (a), (b) и (c) pochodят из серотипа X BoNT, и при этом модифицированный линкерный участок содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 1.

63. Модифицированный полипептид VoNT по п. 62, дополнительно содержащий (d) домен связывания с рецептором.

64. Модифицированный полипептид VoNT по пп. 62 или 63, при этом модифицированный линкерный участок содержит мутацию по типу замены, соответствующую C461S или C461A в SEQ ID NO: 1.

65. Модифицированный полипептид VoNT по пп. 62 или 63, при этом модифицированный линкерный участок содержит мутацию по типу замены, соответствующую C467S или C467A в SEQ ID NO: 1.

66. Модифицированный полипептид VoNT по п. 63, при этом домен связывания с рецептором происходит из VoNT/X.

67. Модифицированный полипептид VoNT по п. 66, при этом домен связывания с рецептором является модифицированным.

68. Модифицированный полипептид VoNT по п. 67, при этом домен связывания с рецептором содержит мутацию по типу замены, соответствующую C1240S или C1240A в SEQ ID NO: 1.

69. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 62-68, при этом домен связывания с рецептором происходит из серотипа, выбранного из группы, состоящей из A, B, C, D, E, F и G.

70. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 62-69, при этом модифицированный полипептид VoNT проникает в клетку.

71. Модифицированный полипептид VoNT по п. 70, при этом модифицированный полипептид VoNT расщепляет белки SNARE в клетке.

72. Модифицированный полипептид VoNT по п. 71, при этом белок SNARE выбран из группы, состоящей из SNAP-25, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VAMP4, VAMP5, Ykt6 и синтаксина 1.



73. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой VAMP1.

74. Модифицированный полипептид VoNT по п. 73, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 39.

75. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой VAMP2.

76. Модифицированный полипептид VoNT по п. 73, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 40.

77. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой VAMP3.

78. Модифицированный полипептид VoNT по п. 77, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R66 и A67 из SEQ ID NO: 41.

79. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой VAMP4.

80. Полипептид VoNT по п. 79, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K87 и S88 в SEQ ID NO: 42.

81. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой VAMP5.

82. Полипептид VoNT по п. 81, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими R40 и S41 в SEQ ID NO: 43.

83. Модифицированный полипептид VoNT по п. 72, при этом белок SNARE представляет собой Ykt6.

84. Полипептид VoNT по п. 83, при этом VoNT расщепляет между аминокислотными остатками, соответствующими K173 и S174 в SEQ ID NO: 44.

85. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 62-84, при этом модифицированный полипептид VoNT обладает повышенной стабильностью по сравнению с соответствующим ему полипептидом VoNT дикого типа.

86. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 62-85, при этом клетка представляет собой секреторную клетку.

87. Модифицированный полипептид VoNT по п. 86, при этом клетка представляет собой нейрональную клетку.

88. Модифицированный полипептид VoNT по п. 86, при этом клетка представляет собой иммунную клетку.

89. Модифицированный полипептид VoNT по п. 88, при этом модифицированный полипептид VoNT подавляет нейрональную активность.

90. Модифицированный полипептид VoNT по п. 89, при этом модифицированный полипептид VoNT индуцирует атрофический паралич.

91. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 70-90, при этом клетка представляет собой культивируемую клетку.

92. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 70-90, при этом клетка находится *in vivo*.

93. Модифицированный полипептид VoNT по пп. 91 или 92, при этом клетка является клеткой млекопитающего.

94. Полипептид VoNT по п. 93, при этом млекопитающее представляет собой человека.

95. Полипептид VoNT по п. 93, при этом млекопитающее представляет собой грызуна.

96. Полипептид VoNT по п. 95, при этом грызун представляет собой мышь.

97. Полипептид VoNT по п. 95, при этом грызун представляет собой крысу.

98. Модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 62-97, при этом модифицированный линкерный участок содержит искусственный линкер.

99. Модифицированный полипептид VoNT по п. 98, при этом искусственный линкер содержит сайт расщепления протеазой.

100. Модифицированный полипептид VoNT по п. 99, при этом протеаза выбрана из группы, состоящей из тромбина, TEV, PreScission (3С протеазы), фактора Ха, энтерокиназы и протеазы SUMO.

101. Модифицированный полипептид VoNT по п. 100, при этом линкер содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 50-56.

102. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая полинуклеотид, кодирующий модифицированный полипептид VoNT, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к модифицированному полипептиду VoNT по любому из пп. 62-101.

103. Вектор нуклеиновой кислоты, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 102.

104. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 102 или вектор нуклеиновой кислоты по п. В42.

105. Клетка, экспрессирующая модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 62-101.

106. Способ получения модифицированного полипептида ботулинического нейротоксина (BoNT), при этом способ предусматривает стадии культивирования клетки по п. 105 в условиях, при которых продуцируется указанный модифицированный полипептид BoNT.

107. Способ по п. 106, дополнительно предусматривающий извлечение модифицированного полипептида BoNT из культуры.

108. Модифицированный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), содержащий одну или несколько мутаций по типу замены в положении, соответствующем R360, Y363, H227, E228 или H231 в SEQ ID NO: 1.

109. Модифицированный полипептид BoNT по п. 108, при этом одна или несколько мутаций по типу замены соответствуют R360A/Y363F, H227Y, E228Q или H231Y в SEQ ID NO: 1.

110. Модифицированный полипептид BoNT по п. 109, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 31-38.

111. Модифицированный полипептид BoNT по п. 108, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% идентичностью по отношению к любой под SEQ ID NO: 31-38, при этом полипептид не имеет аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

112. Модифицированный полипептид BoNT по п. 110, содержащий аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 31-38.

113. Модифицированный полипептид нейротоксина *Clostridial botulinum* серотипа X (BoNT/X), содержащий:

- (a) неактивный протеазный домен;
- (b) линкерный участок и
- (c) домен транслокации.

114. Модифицированный полипептид BoNT/X по п. 113, при этом модифицированный BoNT/X дополнительно содержит домен связывания с рецептором.

115. Модифицированный полипептид BoNT/X по пп. 113 или 114, при этом неактивный протеазный домен содержит одну или несколько мутаций по типу замены в положении, соответствующем R360, Y363, H227, E228 или H231 в SEQ ID NO: 1.

116. Модифицированный полипептид BoNT по п. 115, при этом одна или несколько мутаций по типу замены соответствуют R360A/Y363F, H227Y, E228Q или H231Y в SEQ ID NO: 1.

117. Модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 108-116, при этом модифицированный полипептид BoNT проникает в клетку.

118. Модифицированный полипептид BoNT/X по п. 117, при этом модифицированный полипептид BoNT не расщепляет белок SNARE.

119. Модифицированный полипептид BoNT/X по любому из пп. 108-118, дополнительно содержащий модификацию в линкерном участке (b).

120. Модифицированный полипептид BoNT/X по п. 119, при этом модификация в линкерном участке содержит одну однократную мутацию по типу замены в положении, соответствующем C461 или C467 из SEQ ID NO: 1.

121. Модифицированный полипептид BoNT/X по п. 120, при этом однократная мутация по типу замены соответствует C461A, C461S, C467A или C467S в SEQ ID NO: 1.

122. Модифицированный полипептид BoNT/X по любому из пп. 114-121, дополнительно содержащий модификацию в домене связывания с рецептором (d).

123. Модифицированный BoNT/X по п. 122, при этом модификация в домене связывания с рецептором содержит мутацию по типу замены в положении, соответствующем C1240 в SEQ ID NO: 1.

124. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая полинуклеотид, кодирующий модифицированный полипептид BoNT, содержащий аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5% или 100% идентичностью по отношению к модифицированному полипептиду по любому из пп. 108-123.

125. Вектор нуклеиновой кислоты, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 124.

126. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. C17 или вектор нуклеиновой кислоты по п. 125.

127. Клетка, экспрессирующая, модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 108-123.

128. Способ получения модифицированного полипептида ботулинического нейротоксина (BoNT), при этом способ предусматривает стадии культивирования клетки по п. 127 в условиях, при которых продуцируется указанный модифицированный полипептид BoNT.

129. Способ по п. 128, дополнительно предусматривающий извлечение модифицированного полипептида BoNT из культуры.

130. Модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 108-123 для применения в качестве средства доставки для доставки терапевтических средств в нейроны.

131. Химерная молекула, содержащая первую часть, связанную со второй частью, при этом первая часть представляет собой модифицированный полипептид VoNT по любому из пп. 108-123.

132. Химерная молекула по любому из пп. 131, при этом первая часть и вторая часть связываются ковалентно.

133. Химерная молекула по п. 131, при этом первая часть и вторая часть не связываются ковалентно.

134. Химерная молекула по любому из пп. 131-133, при этом вторая часть выбрана из группы, состоящей из малой молекулы, нуклеиновой кислоты, короткого полипептида и белка.

135. Химерная молекула по п. 134, при этом вторая часть представляет собой биоактивную молекулу.

136. Химерная молекула по пп. 134 или 135, при этом вторая часть представляет собой отличное от полипептида лекарственное средство.

137. Химерная молекула по пп. 134 или 135, при этом вторая часть представляет собой терапевтический полипептид.

138. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая полинуклеотидную последовательность, кодирующую химерную молекулу по п. 137.

139. Вектор нуклеиновой кислоты, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 138.

140. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 138 или вектор нуклеиновой кислоты по п. 139.

141. Клетка, экспрессирующая химерную молекулу по п. 140.

142. Способ получения химерной молекулы, при этом способ предусматривает стадии культивирования клетки по п. 141 в условиях, при которых продуцируется указанная химерная молекула.

143. Способ по п. 142, дополнительно предусматривающий извлечение химерной молекулы из культуры.

144. Фармацевтическая композиция, содержащая полипептид VoNT по любому из пп. 1-55, 62-101 или 108-123.

145. Фармацевтическая композиция, содержащая химерную молекулу по любому из пп. 131-137.

146. Фармацевтическая композиция по пп. 144 или 145, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

147. Набор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп. 144-146 и указания по терапевтическому введению фармацевтической композиции.

148. Способ лечения состояния, при этом способ предусматривает введение терапевтически эффективного количества модифицированного полипептида VoNT по любому из пп. 1-55, 62-101 или 108-123, или химерной молекулы по любому из пп. 131-137, или фармацевтической композиции по любому из пп. 144-146 субъекту для лечения состояния.

149. Способ по п. 148, при этом состояние связано с надактивными нейронами или железами.

150. Способ по пп. 148 или 149, при этом состояние выбрано из группы, состоящей из спастической дисфонии, спастической кривошеи, дистонии мышц гортани, оромандибулярной дистонии, язычной дистонии, цервикальной дистонии, фокальной дистонии руки, блефароспазма, страбизма, гемифациального спазма, нарушения века, церебрального паралича, фокальной спастичности и других нарушений голоса, спастического колита, нейрогенного мочевого пузыря, анизмуса, спастичности конечностей, тиков, треморов, бруксизма, трещины заднего прохода, ахалазии, дисфагии и



других нарушения мышечного тонуса, а также других нарушений, характеризующихся произвольными движениями групп мышц, лакримацией, гипергидрозом, повышенным слюноотделением, избыточными желудочно-кишечными секретами, секреторными нарушениями, болью из-за мышечных спазмов, головной болью, дерматологическими или эстетическими/косметическими состояниями и ожирением/снижением аппетита.

151. Способ по п. 150, при этом состояние не связано с нежелательной нейрональной активностью.

152. Способ по п. 151, при этом состояние выбрано из группы, состоящей из псориаза, аллергии, гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза и алкогольного заболевания поджелудочной железы.

153. Способ по любому из пп. F1-F5, при этом введение осуществляют путем инъекции в участок, где присутствует нежелательная нейрональная активность.

154. Модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 1-55, 62-101, 108-123, или химерная молекула по любому из пп. 131-137, или фармацевтическая композиция по пп. 144-146 для применения в лечении состояния связанного с нежелательной нейрональной активностью.

155. Модифицированный полипептид BoNT по любому из пп. 1-55, 62-101, 108-123, или химерная молекула по любому из пп. 131-137, или фармацевтическая композиция по пп. 144-146 для применения в медицине.

156. Способ получения полипептида нейротоксина *Clostridial botulinum* (BoNT), при этом способ предусматривает:

(i) получение первого фрагмента BoNT, состоящего из легкой цепи (LC) и N-терминального домена тяжелой цепи (H<sub>N</sub>), при этом первый фрагмент BoNT содержит C-терминальный мотив LPXTGG (SEQ ID NO: 60);

(ii) получение второго фрагмента BoNT, состоящего из C-терминального домена тяжелой цепи (H<sub>C</sub>); при этом второй фрагмент BoNT содержат специфический сайт расщепления протеазой на своем N-конце;

(iii) расщепление второго фрагмента BoNT специфической протеазой, при этом расщепление приводит к получению свободного глицинового остатка на N-конце; и

(iv) введение в контакт первого фрагмента VoNT и второго фрагмента VoNT в присутствии транспептидазы, что тем самым лигирует первый фрагмент VoNT и второй фрагмент VoNT с образованием лигированного VoNT.

157. Способ по п. 156, при этом первый фрагмент VoNT дополнительно содержит аффинную метку.

158. Способ по п. 157, при этом аффинная метка сливается с первым фрагментом VoNT на N-конце.

159. Способ по п. 157, при этом аффинная метка сливается с первым фрагментом VoNT на C-конце.

160. Способ по любому из пп. 156-159, при этом аффинная метка выбрана из группы, состоящей из His6, GST, Avi, Strep, S, MBP, Sumo, FLAG, HA, Myc, SBP, E, калмодулина, Softag 1, Softag 3, TC, V5, VSV, Xpress, Halo и Fc.

161. Способ по любому из пп. 156-160, при этом второй фрагмент VoNT дополнительно содержит аффинную метку.

162. Способ по п. 161, при этом аффинная метка сливается со вторым фрагментом VoNT на N-конце.

163. Способ по п. 161, при этом аффинная метка сливается со вторым фрагментом VoNT на C-конце.

164. Способ по любому из пп. 161-163, при этом аффинная метка выбрана из группы, состоящей из His6, GST, Avi, Strep, S, MBP, Sumo, FLAG, HA, Myc, SBP, E, калмодулина, Softag 1, Softag 3, TC, V5, VSV, Xpress, Halo и Fc.

165. Способ по любому из пп. 161-164, при этом протеаза выбрана из группы, состоящей из тромбина, TEV, PreScission (3С протеазы), энтерокиназы и протеазы SUMO.

166. Способ по п. 165, при этом когнатной протеазой является тромбин.

167. Способ по любому из пп. 156-166, при этом первый фрагмент VoNT происходит из серотипа A, B, C, D, E, F, G или X VoNT.

168. Способ по п. 167, при этом первый фрагмент VoNT происходит из VoNT/X.

169. Способ по любому из пп. 156-168, при этом второй фрагмент VoNT происходит из серотипа A, B, C, D, E, F, G или X VoNT.

170. Способ по п. 169, при этом второй фрагмент VoNT происходит из VoNT/A.

171. Способ по п. 169, при этом второй фрагмент VoNT происходит из VoNT/B.

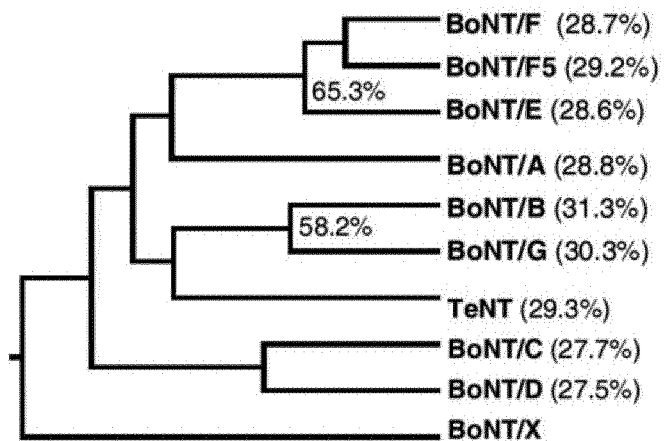
172. Способ по п. 169, при этом второй фрагмент VoNT происходит из VoNT/C.

173. Способ по п. 169, при этом второй фрагмент VoNT происходит из VoNT/X.

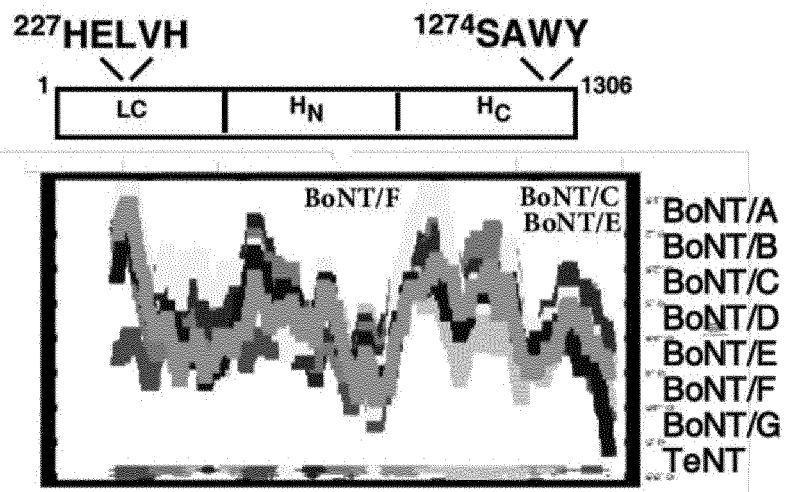
174. Способ по любому из пп. 156-173, при этом транспептидаза представляет собой сортазу.

175. Способ по п. 174, при этом сортаза является сортазой *Staphylococcus aureus* (SrtA).

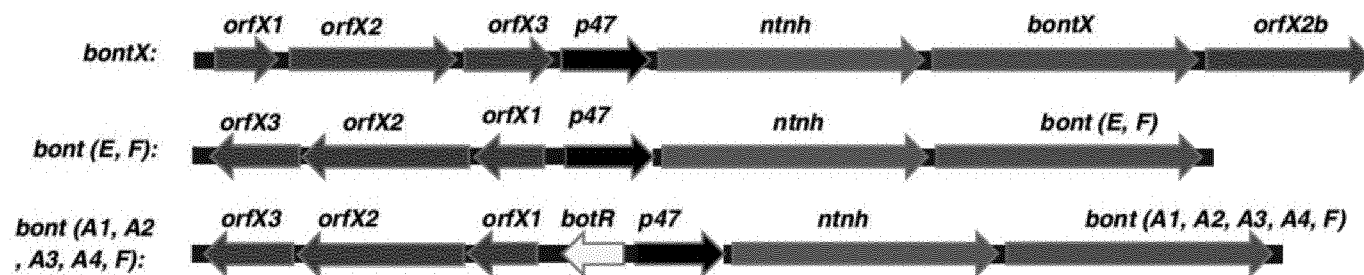
ФИГ. 1А



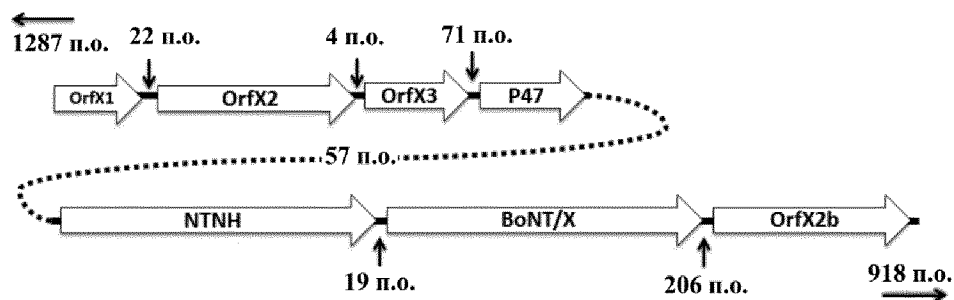
ФИГ. 1В



ФИГ. 1С



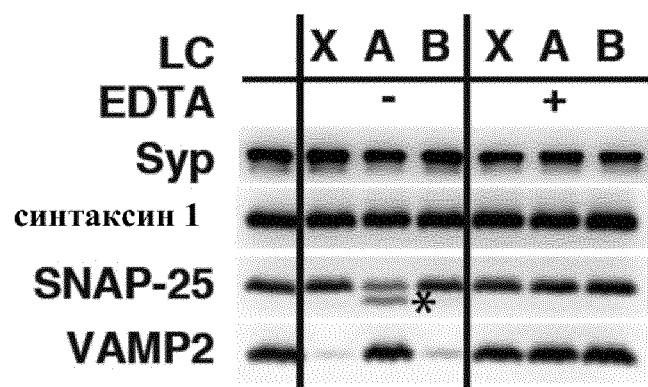
ФИГ. 1D



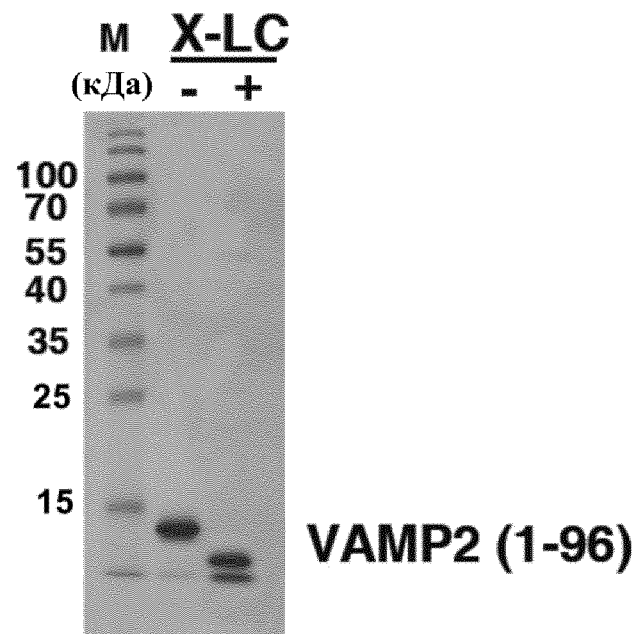
ФИГ. 1E

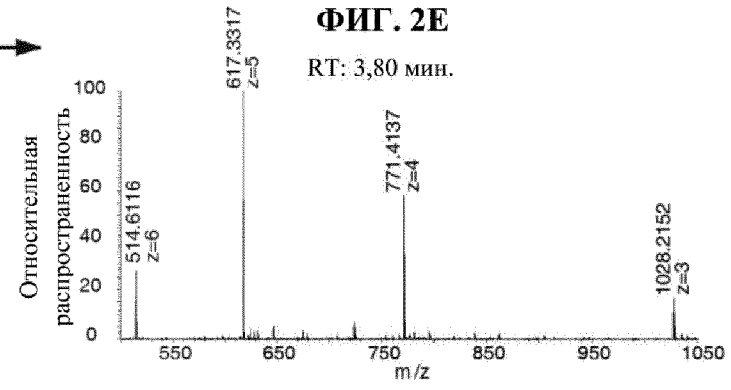
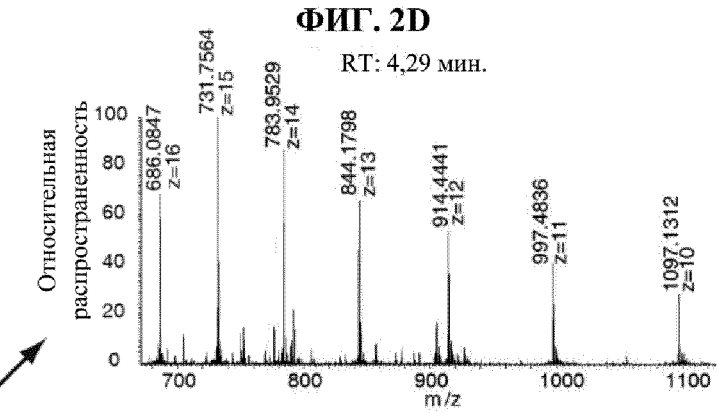
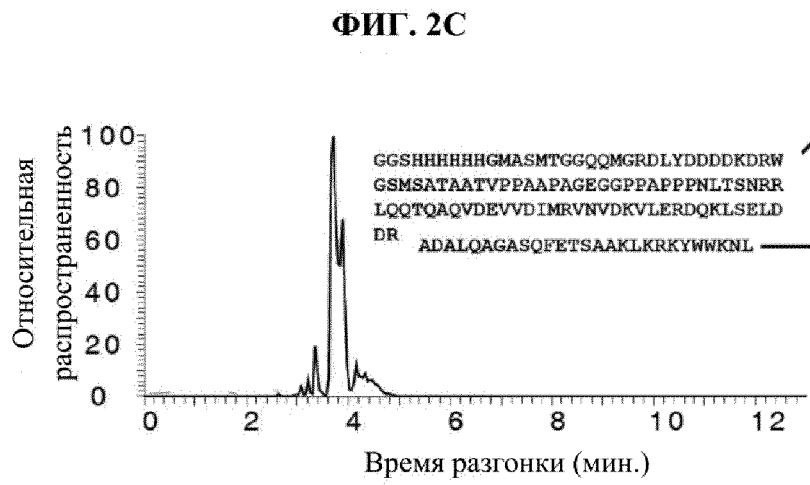


ФИГ. 2А

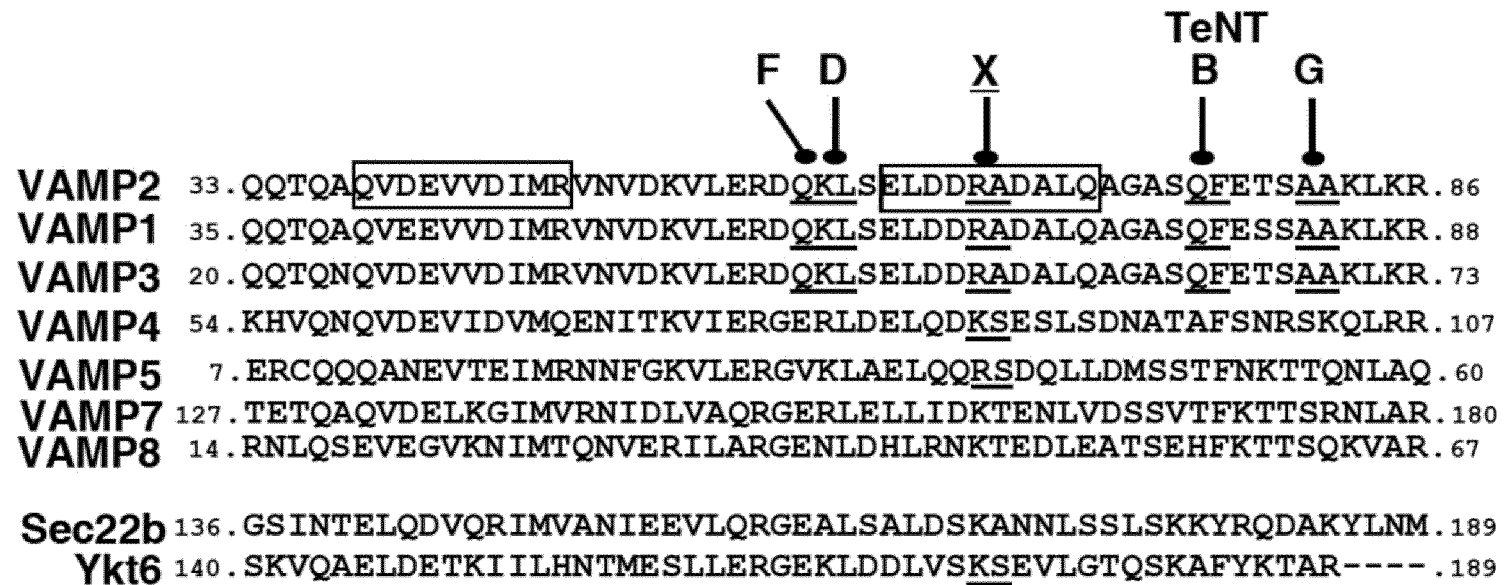


ФИГ. 2В



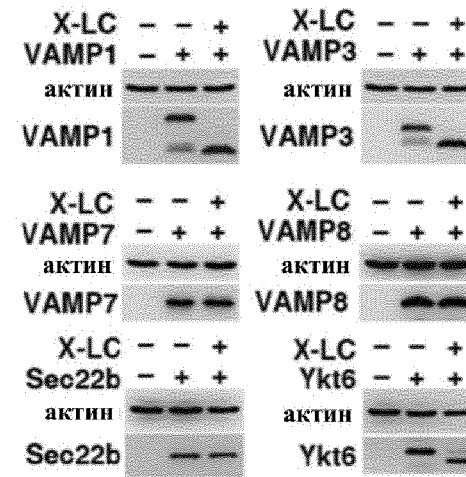


ФИГ. 2F

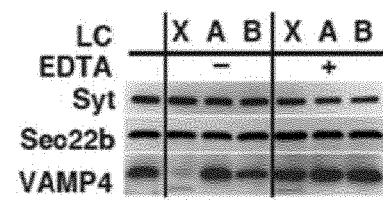




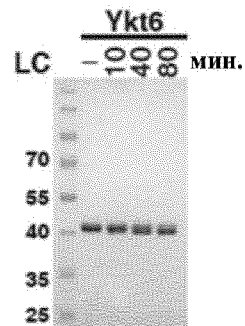
ФИГ. 2G



6/27



ФИГ. 2J



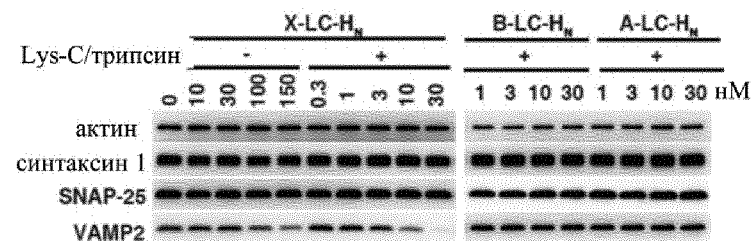
ФИГ. 2H



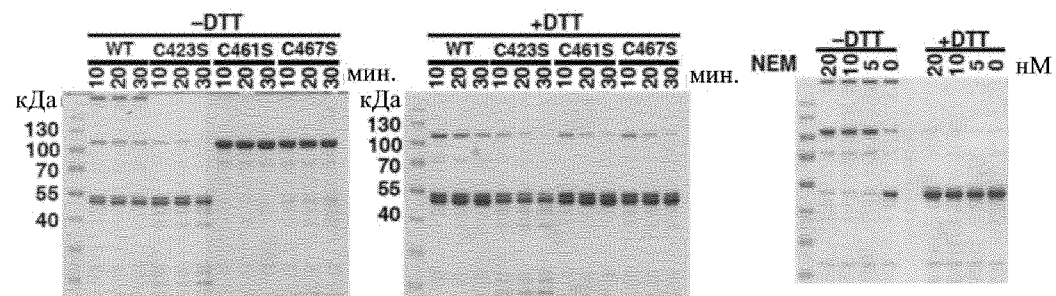
ФИГ. 2I



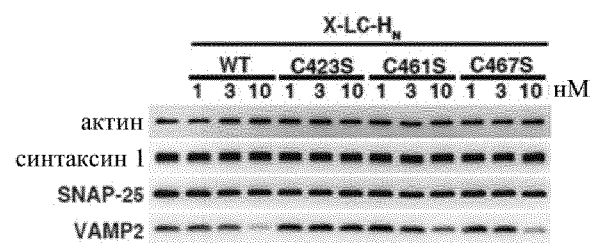
ФИГ. 3В



ФИГ. 3С

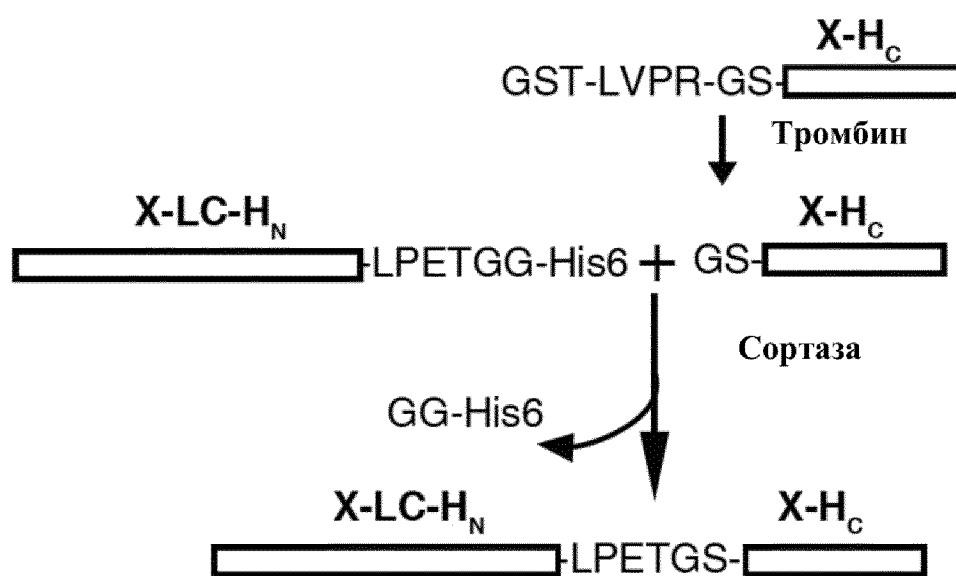


ФИГ. 3D

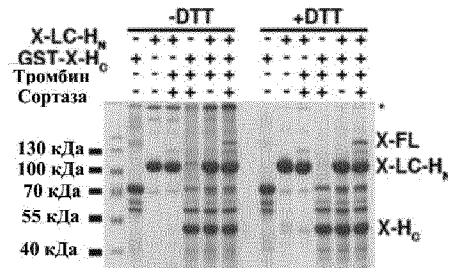


ФИГ. 3Е

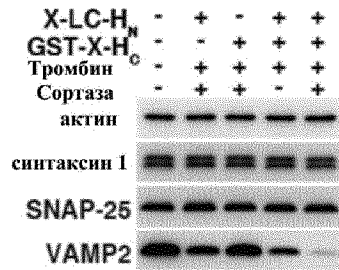
ФИГ. 4А



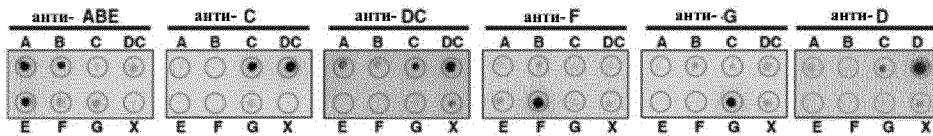
ФИГ. 4В



ФИГ. 4С



ФИГ. 4Е

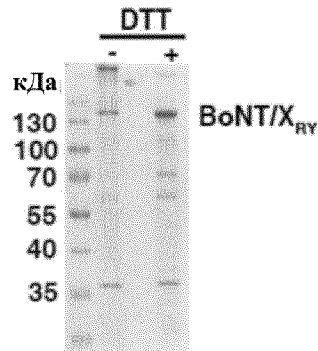


ФИГ. 4D

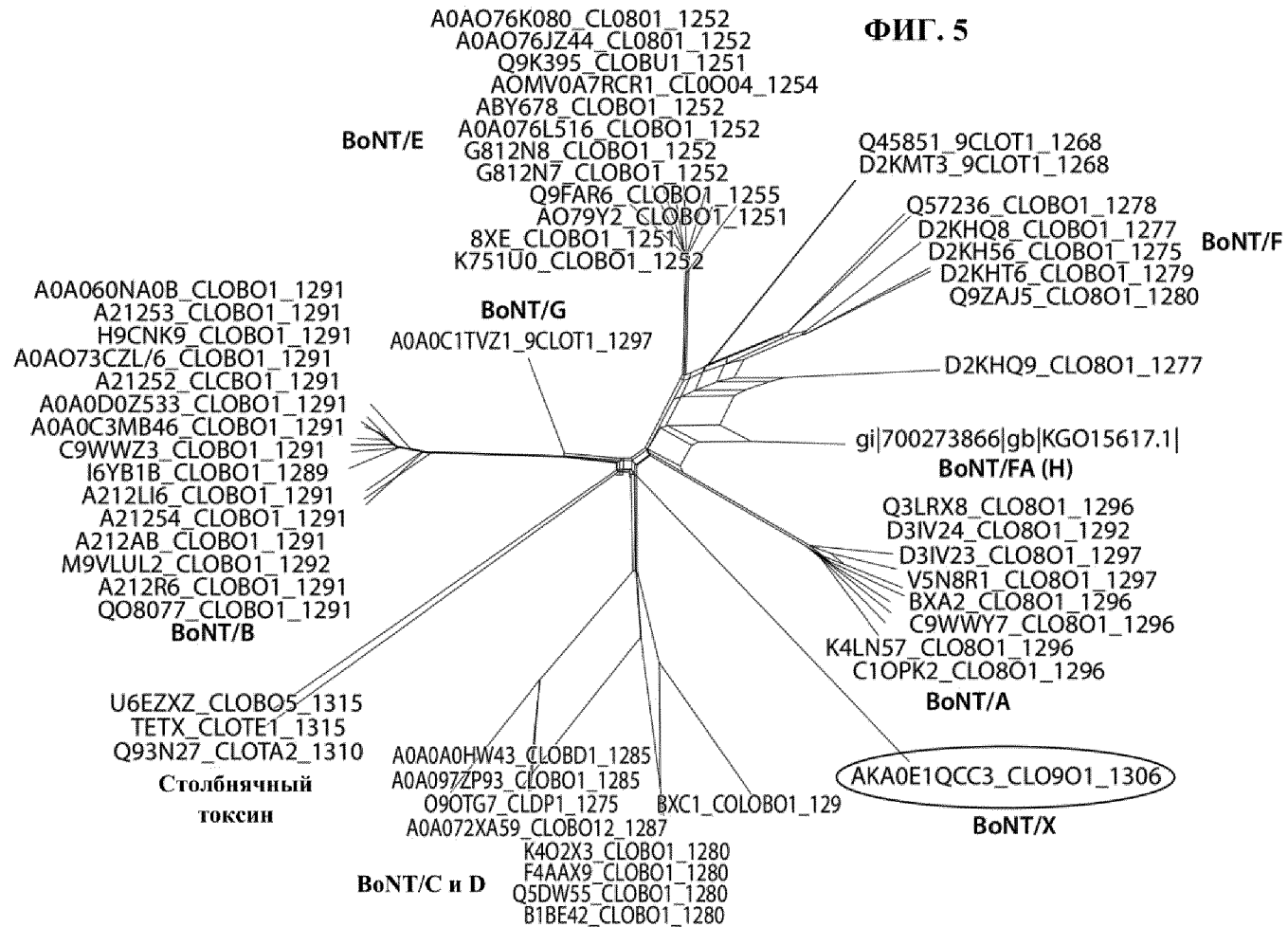
Связанная с сортазой смесь



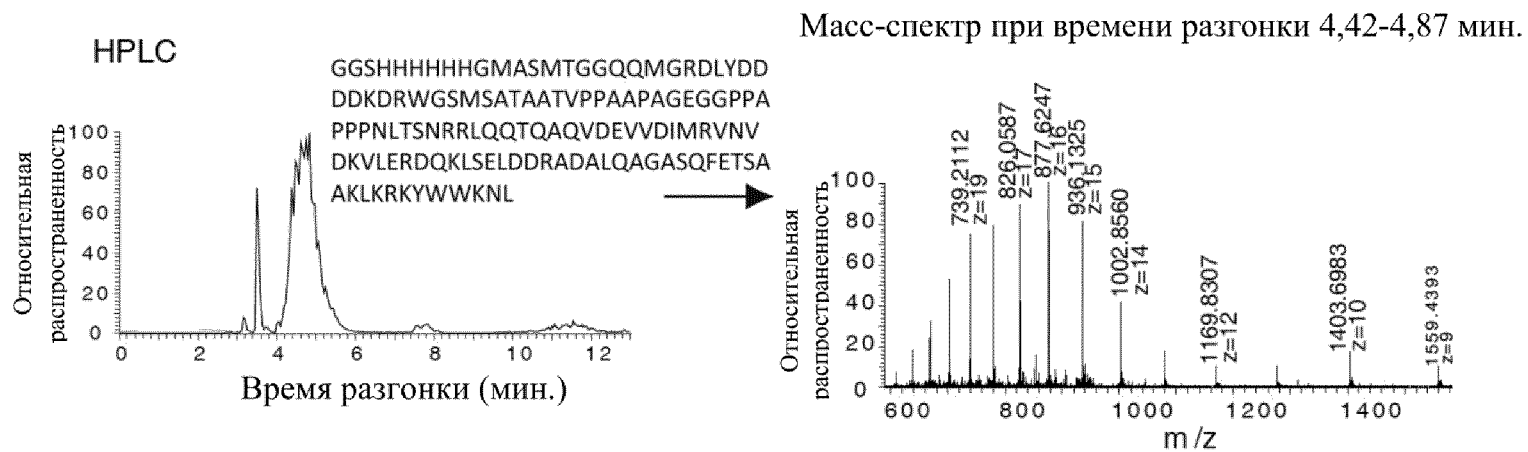
ФИГ. 4F



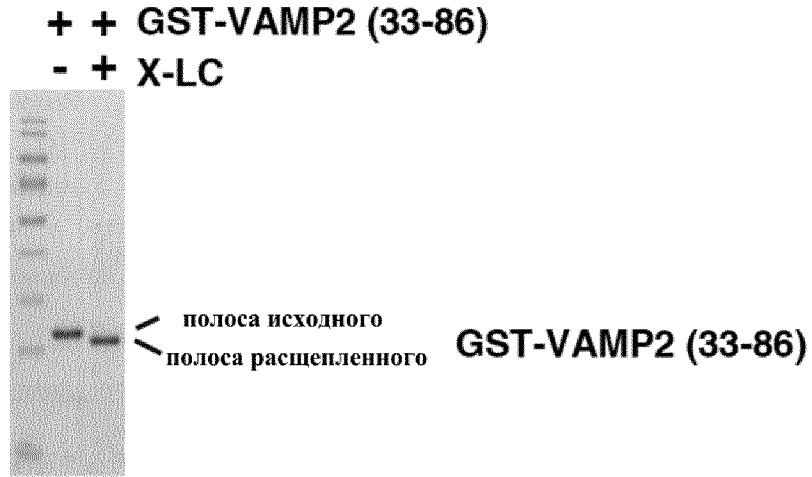
ФИГ. 5



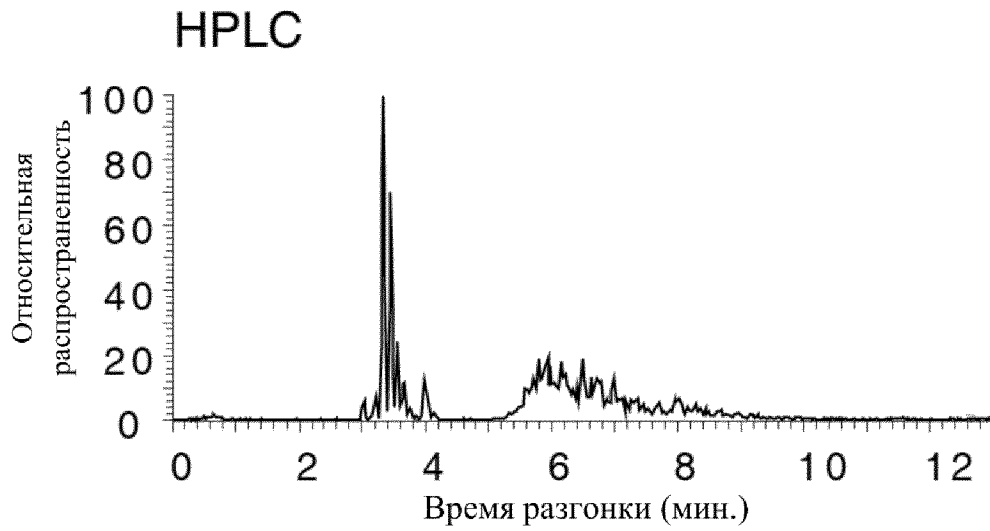
ФИГ. 6



**ФИГ. 7А**



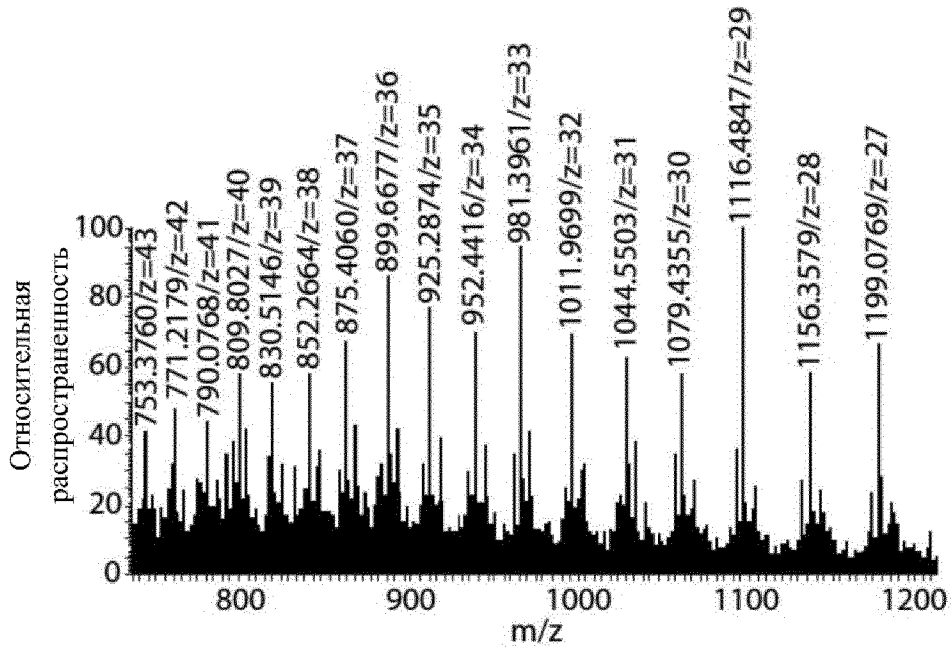
**ФИГ. 7В**





## ФИГ. 7С

Масс-спектр при времени разгонки 5,90 мин.

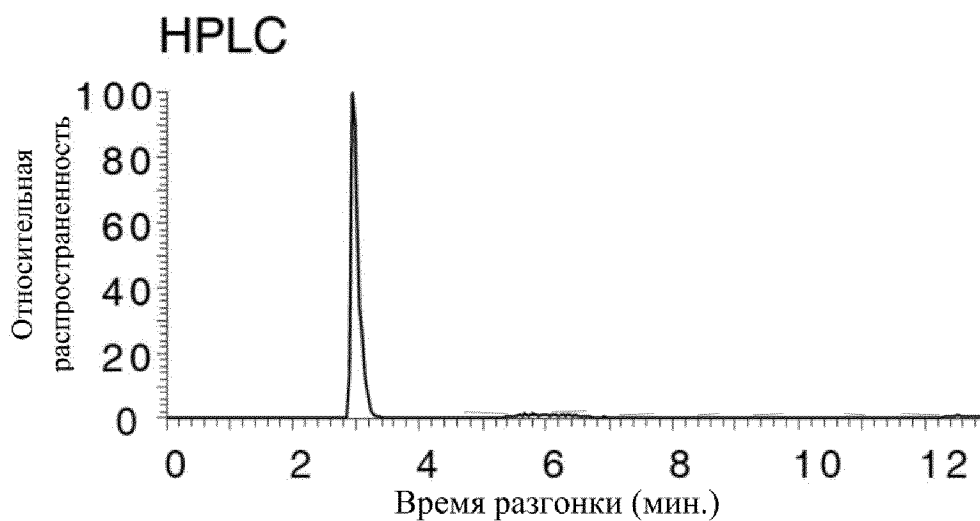


MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEEHLYERDEGDK  
 WRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAIIRYIADKHN  
 MLGGCPKERAIEISMLEGAVLDIRYGVSR IAYS KDFETLKV  
 DFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFMLYDAL  
 DVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIQIDKYLKSSKYIA  
 WPLQGWQATFGGGDHPPKSDLVPRGS|QQTQAQVDEV  
 VDIMRVNVDKVLERDQKLSLDDR|ADALQAGASQFETSA  
**AKLKR**

↑  
VAMP2 (33-66)

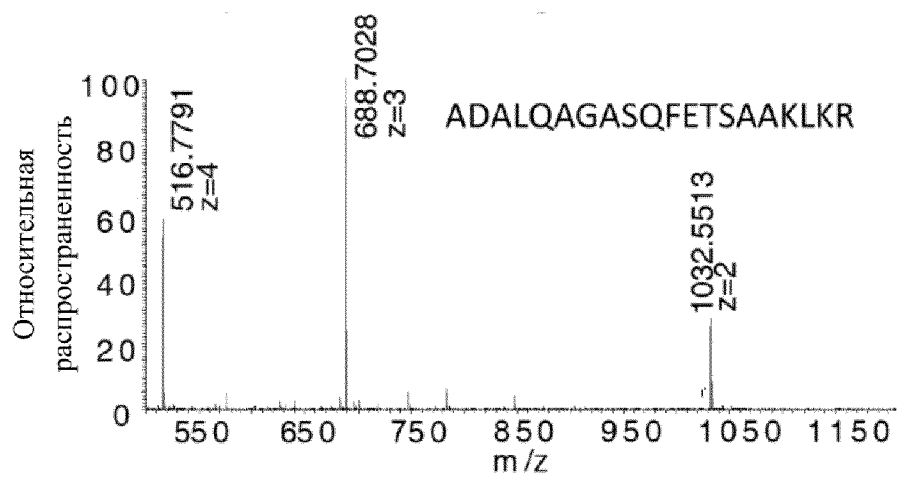
↑  
VAMP2 (67-86)

ФИГ. 7D



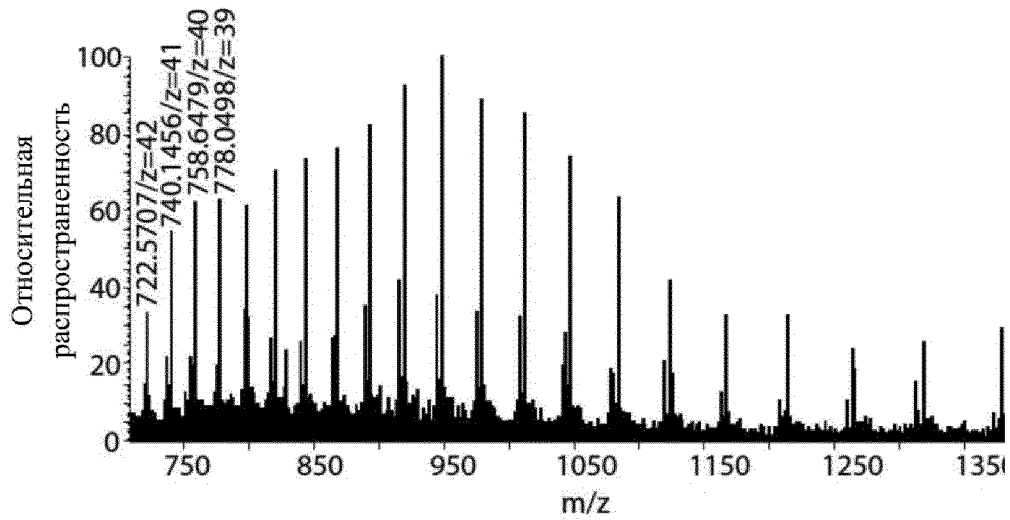
ФИГ. 7E

Масс-спектр при времени разгонки 3,02 мин.



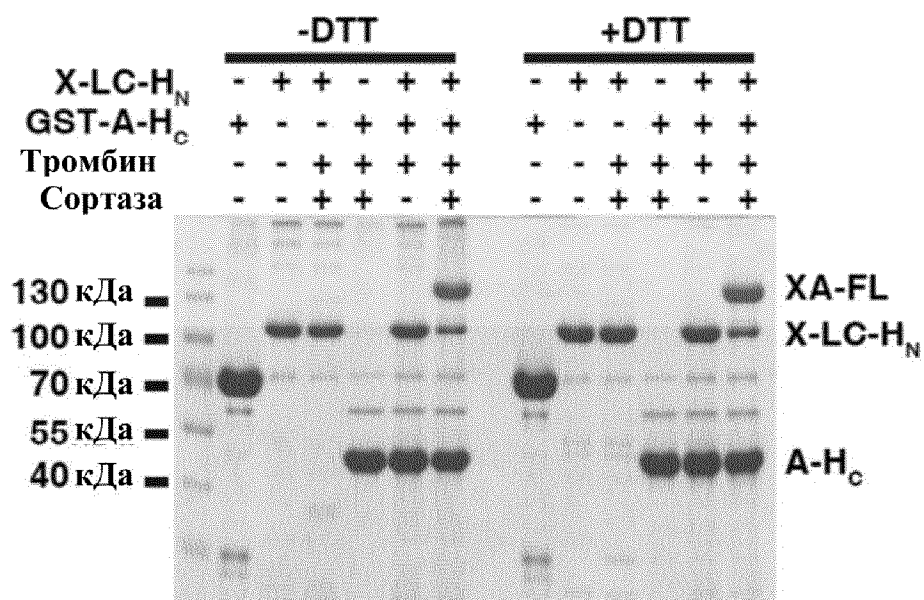
## ФИГ. 7F

Масс-спектр при времени разгонки 5,90 мин.



MSPILGYWKIKGLVQPTRLLEYLEEKYEEHLYERDEGDK  
 WRNKKFELGLEFPNLPYYIDGDVKLTQSMAIIRYIADKHN  
 MLGGCPKERAISMLEGAVLDIRYGVSRIAYSKDFETLKV  
 DFLSKLPEMLKMFEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFMLYDAL  
 DVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIQIDKYLKSSKYIA  
 WPLQGWQATFGGGDHPPKSDLVPRGSQQTQAQVDEV  
 VDIMRVNVDKVLERDQKLSLDDR

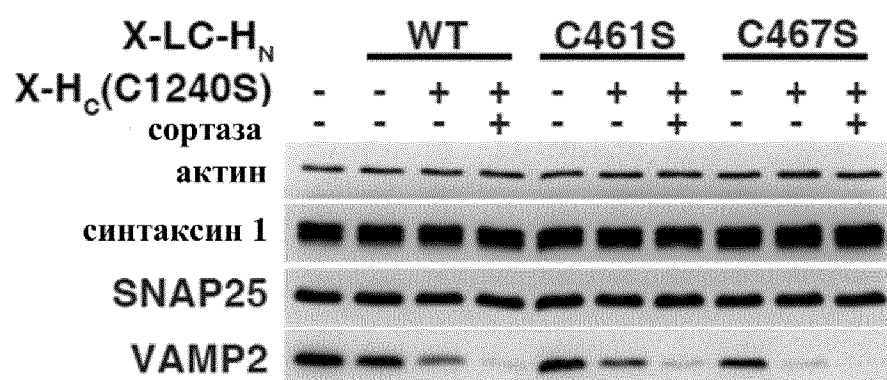
ФИГ. 8А

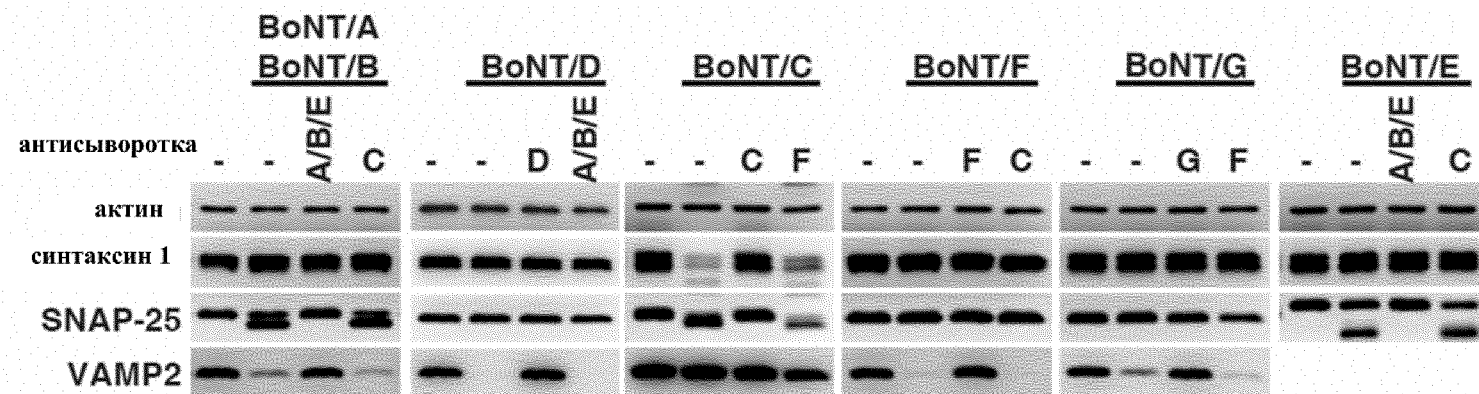


ФИГ. 8В



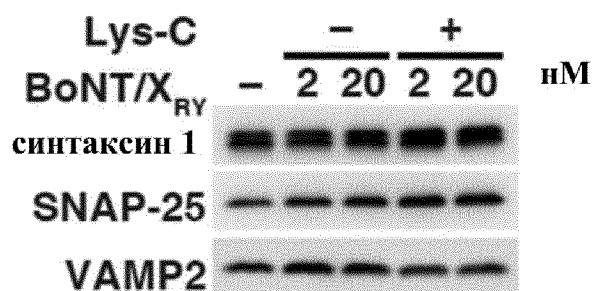
ФИГ. 9



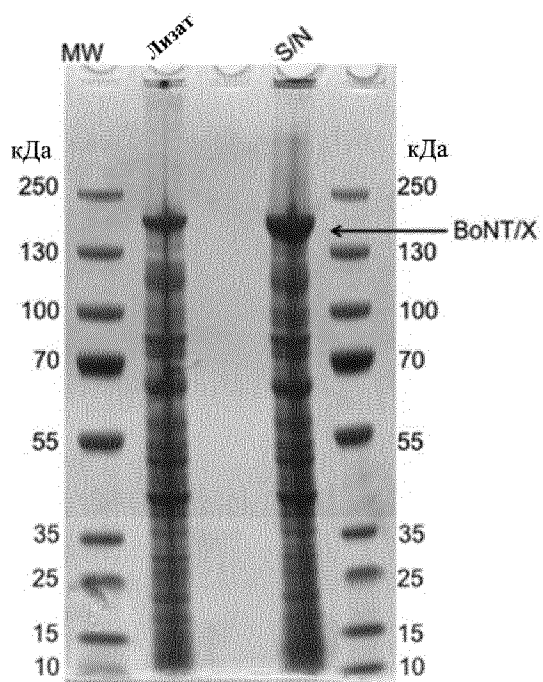


ФИГ. 10

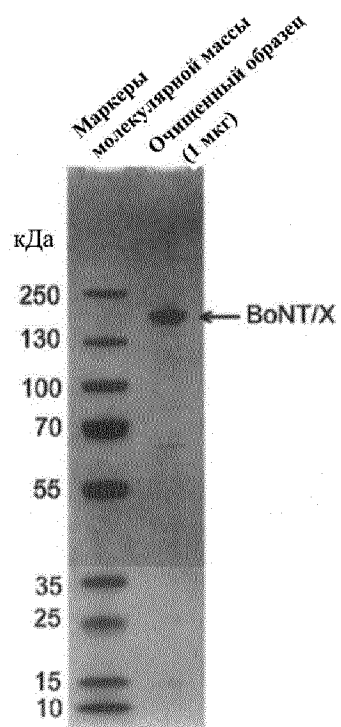
ФИГ. 11А



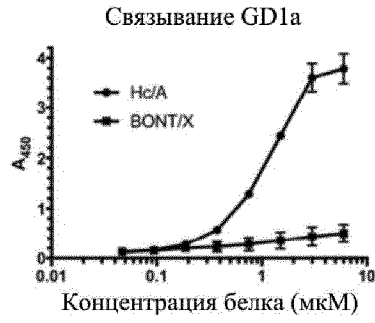
ФИГ. 11В



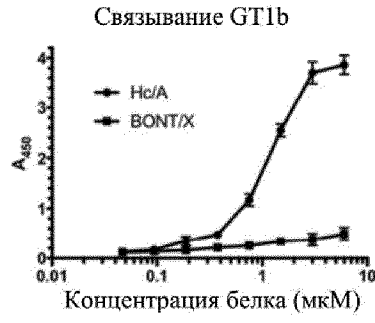
ФИГ. 11С



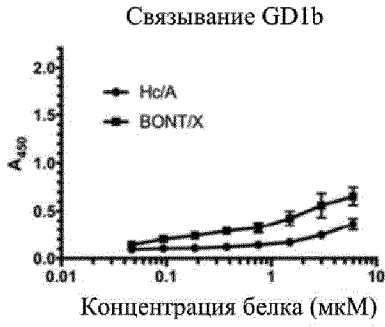
**ФИГ. 12А**



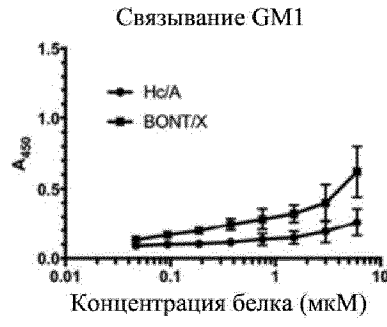
**ФИГ. 12В**



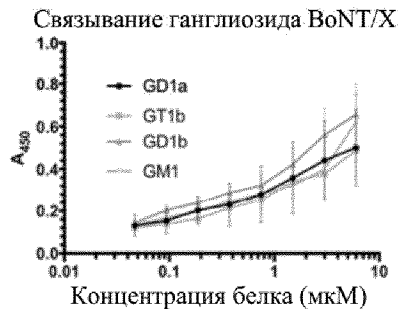
**ФИГ. 12С**



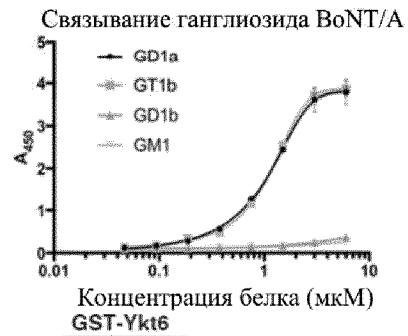
**ФИГ. 12D**



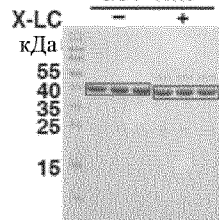
**ФИГ. 12Е**



**ФИГ. 12F**

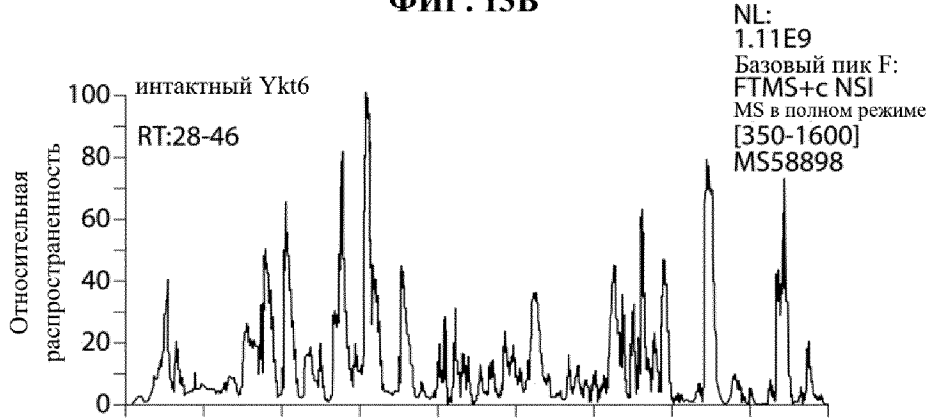


**ФИГ. 13А**

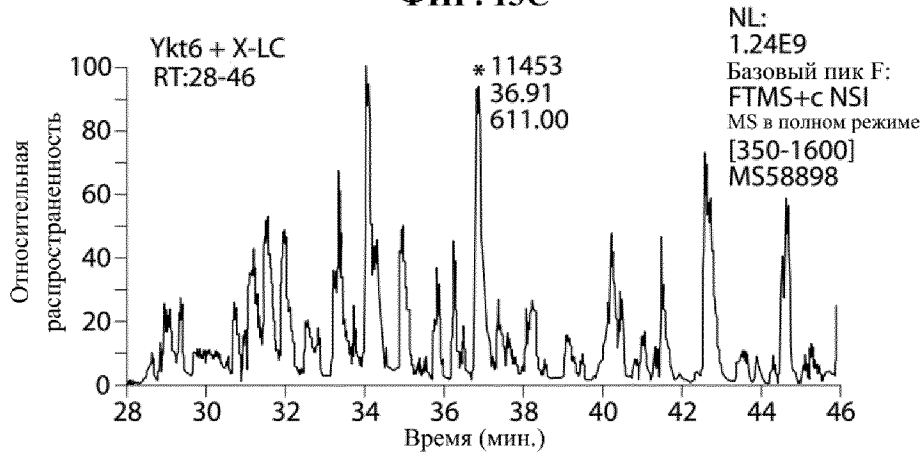




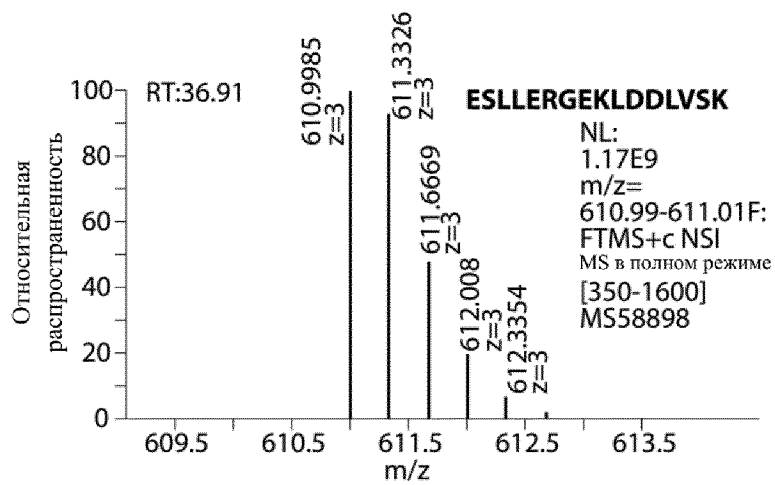
**ФИГ. 13В**



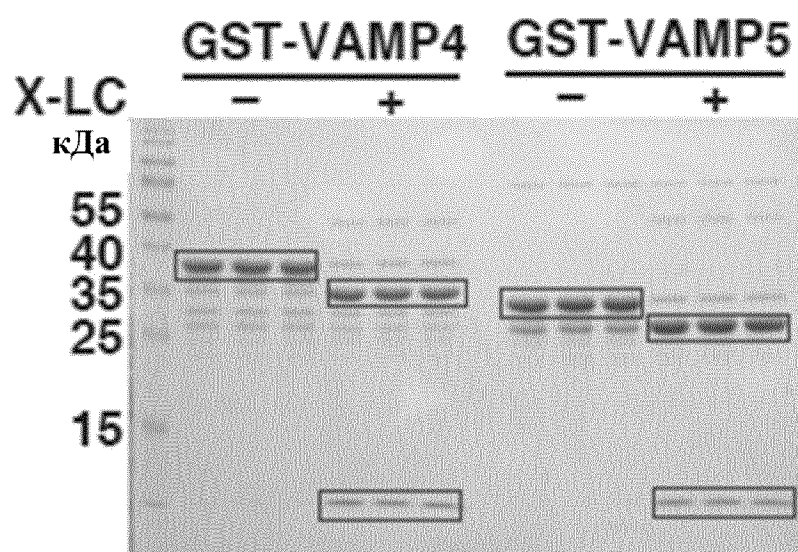
**ФИГ. 13С**



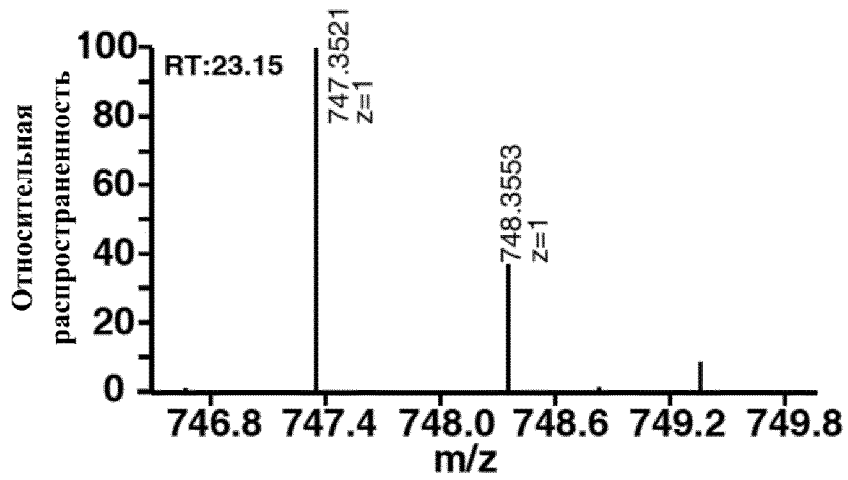
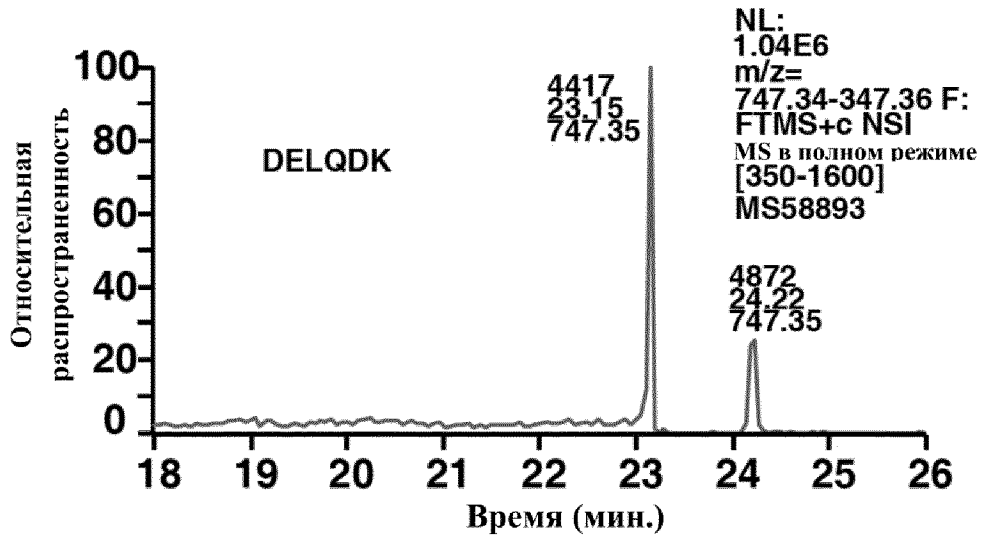
**ФИГ. 13D**



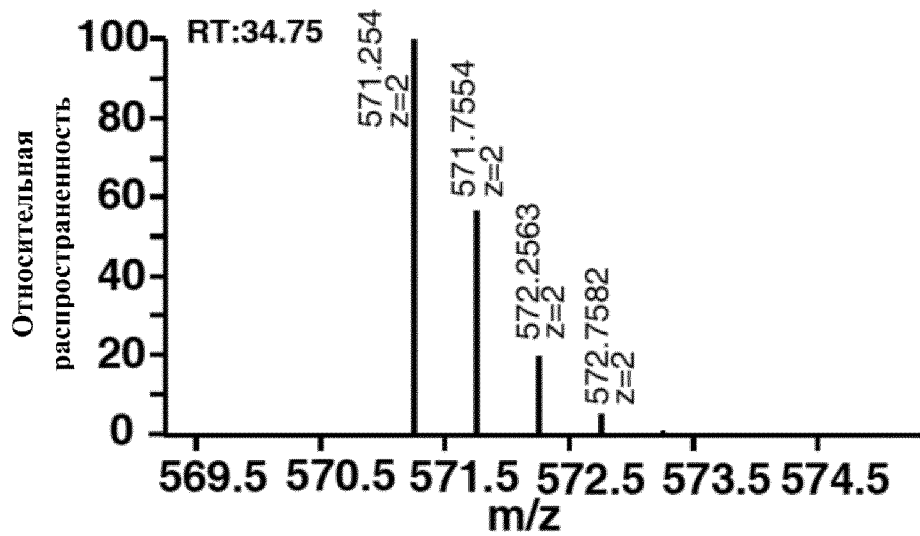
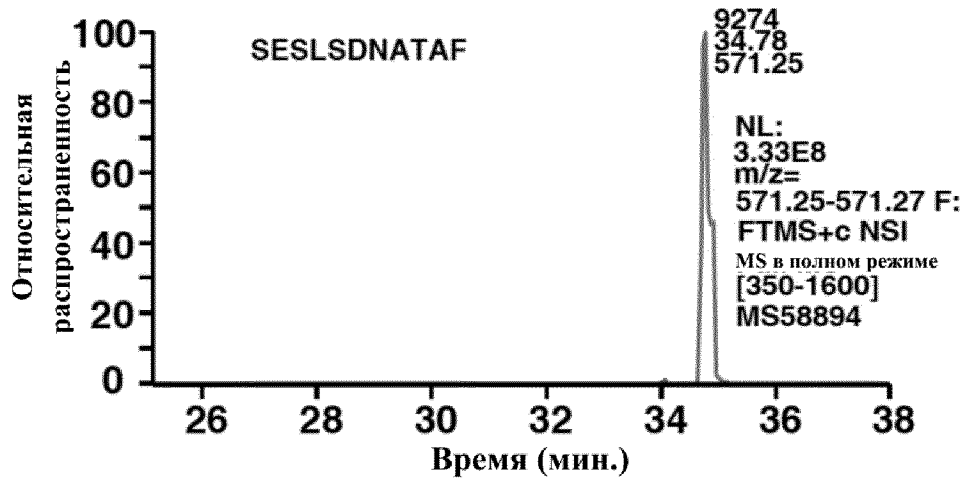
ФИГ. 14А



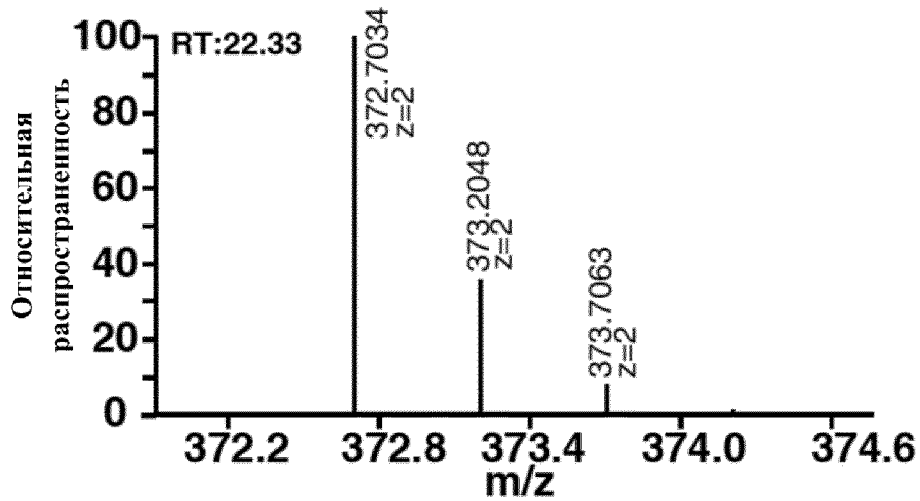
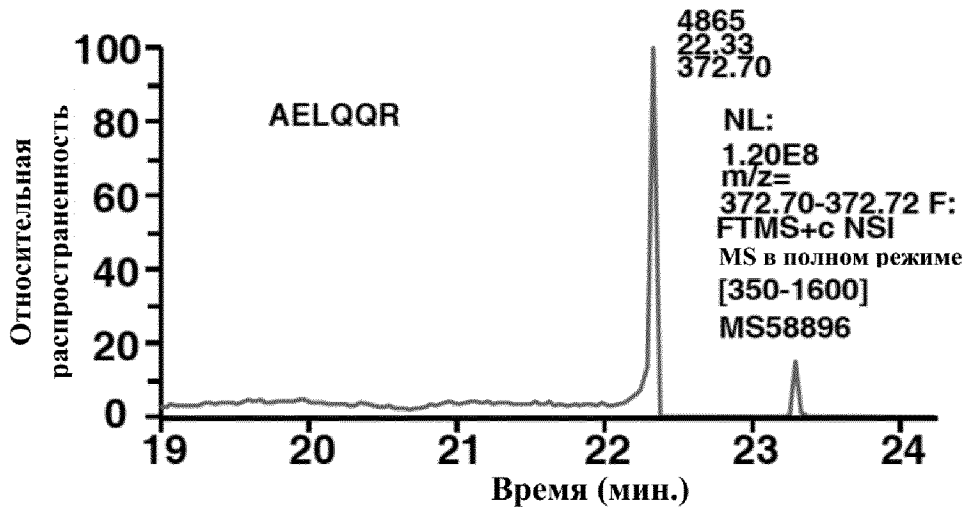
ФИГ. 14В



ФИГ. 14С



ФИГ. 14D



ФИГ. 14Е

