

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044608**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.09.14

(21) Номер заявки
202091305

(22) Дата подачи заявки
2011.04.13

(51) Int. Cl. **C07K 14/78** (2006.01)
C12N 9/64 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01)
A61K 47/60 (2017.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

**(54) БЕЛКИ НА ОСНОВЕ СТРУКТУРНОГО ДОМЕНА ФИБРОНЕКТИНА,
СВЯЗЫВАЮЩИЕ PCSK9**

(31) 61/323,562; 61/330,731

(32) 2010.04.13; 2010.05.03

(33) US

(43) 2021.08.31

(62) 201590910; 2011.04.13

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(56) WO-A2-2008125623
WO-A1-2009133208

KORNBLIHTT et al.: "Primary structure of human fibronectin: differential splicing may generate at least 10 polypeptides from a single gene", EMBO J., 1985 Jul; 4(7):1755-9, PMID: 2992939, PMCID: PMC554414, реферат, фиг. 2

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

(74) Представитель:
**Гизатуллина Е.М., Глухарёва А.О.,
Угрюмов В.М., Христофоров А.А.,
Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф.,
Костюшенкова М.Ю., Лебедев В.В.,
Парамонова К.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к белкам на основе структурного домена фибронектина, которые связывают PCSK9. Изобретение также относится к применению данных инновационных белков в терапевтических применениях для лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина. Данное изобретение также относится к клеткам, содержащим данные белки, полинуклеотидам, кодирующим данные белки или их фрагменты, и векторам, содержащим данные полинуклеотиды, кодирующие данные инновационные белки.

B1

044608

044608

B1

Область техники

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

Введение

Атеросклероз - заболевание артерий ответственное за развитие ишемической болезни сердца (ИБС), которая является причиной большинства случаев смерти в промышленно развитых странах (Lusis (2000)). В настоящее время некоторые факторы риска развития ИБС хорошо известны: дислипидемии, артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение, плохое питание, отсутствие физической нагрузки и стресс. Наиболее клинически значимые и распространенные дислипидемии характеризуются повышением содержания липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) совместно с гиперхолестеринемией при отсутствии или наличии гипертриглицеридемии (Fredrickson et al. (1967)). Отдельное повышение уровня холестерина в составе ЛПНП является одним из наиболее распространенных факторов риска развития ИБС. Белок PCSK9 (также известный как NCHOLA3, NARC-1 или FN3) является протеазой и подсемейства протеиназы К семейства секреторных субтилаз (Naureckiene et al., Arch. Biochem. Biophys., 420:55-57 (2003)). Показано, что PCSK9 является ключевым регулятором гомеостаза уровня холестерина и уровня циркулирующих липопротеидов низкой плотности. Циркулирующий белок PCSK9 контролирует метаболизм ЛПНП непосредственно связываясь с рецептором ЛПНП и обеспечивая его деградацию в гепатоцитах. PCSK9-опосредованное снижение представленности и активности рецептора ЛПНП приводит к снижению клиренса ЛПНП из кровотока и повышению уровня ЛПНП. Известно, что некоторые мутантные формы PCSK9, в том числе S127R, N157K, F216L, R218S, и D374Y, с S127R, F216L, и D374Y связаны с аутосомно-доминантной гиперхолестеринемией (АДГ). Считается, что диккий тип PCSK9 увеличивает скорость обмена рецепторов ЛПНП и обуславливает более низкий клиренс ЛПНП (Maxwell et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 102(6):2069-2074 (2005), тогда как мутации, приводящие к потере функциональности PCSK9 приводят к повышению уровня рецептора липопротеидов низкой плотности (РЛПНП), увеличению клиренса циркулирующих ЛПНП, и соответствующему снижению уровня холестерина в плазме (Rashid et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 102(15):5374-5379 (2005)). Таким образом, PCSK9 является потенциальной мишенью для разработки средств лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина.

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

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

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

Сущность изобретения

Настоящая заявка предлагает аднектины против PCSK9 человека. Одним из объектов данного изобретения являются полипептиды, содержащие домен Fn3, в котором одна или более петель, доступных для растворителя, имеют случайную или мутантную первичную последовательность. В некоторых вариантах исполнения такой Fn3 домен представляет собой модифицированный относительно дикого типа домен Fn3, полученный из десятого модуля фибронектинового домена III типа человека (¹⁰Fn3). В неко-

торых вариантах исполнения такой $^{10}\text{Fn3}$ -полипептид, описанный в данной заявке, является по меньшей мере на 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90% идентичным домену $^{10}\text{Fn3}$ человека.

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

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

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

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

В некоторых вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы: SEQ ID NO: 18-27 и 136-141. В определенных вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненные участки любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, как показано в табл. 3. Например, в одном варианте исполнения петля DE содержит последовательность PGKG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 18), VGVG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 27) или VSKS (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 137).

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

В некоторых вариантах исполнения домен $^{10}\text{Fn3}$ может содержать измененные аминокислотные остатки в начале и/или на конце последовательности, а также инсерции или делеции.

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

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

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

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

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $\text{SW}(\text{X}_1)_2\text{X}_2\text{G}$ (SEQ ID NO: 323), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, Z - число от 6 до 9 и X_2 представляет собой Y или H.

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю DE с последовательностью $\text{PX}_1\text{X}_1\text{X}_1\text{X}_3\text{T}$, (SEQ ID NO: 324), в которой X_1 представляет со-

бой любую аминокислоту, а X_3 является либо G, либо S.

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю FG с последовательностью $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ (SEQ ID NO: 325), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, X_4 является Y или F, X_5 является Y, F или W, X_6 является либо S, либо A. В определенных вариантах исполнения X_4 и X_5 представляют собой ароматические остатки, каждый из которых независимо является Y, F, W или H.

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $SW(X_1)_zX_2G$ (SEQ ID NO: 323), петлю DE с последовательностью $PX_1X_1X_1X_3T$ (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ (SEQ ID NO: 325) как определено в данной заявке.

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $SWEPFSRLPGGGE$ (SEQ ID NO: 106), петлю DE с последовательностью $PX_1X_1X_1X_3T$ (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HRP$ (SEQ ID NO: 325), как определено в данной заявке.

Одним из объектов защищаемых настоящим изобретением является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $(X_1)_zX_2G$ (SEQ ID NO: 449), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, Z - число в диапазоне 6-9, а X_2 представляет собой Y или H.

Одним из объектов защищаемых настоящим изобретением является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю DE с последовательностью $X_1X_1X_1X_3$ (SEQ ID NO: 450), в которой X_1 является любой аминокислотой, X_3 представляет собой G или S.

Одним из объектов защищаемых настоящим изобретением является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю FG с последовательностью $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ (SEQ ID NO: 451), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, X_4 представляет собой Y или F, X_5 представляет собой Y, F или W, X_6 представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения X_4 и X_5 представляют собой остатки ароматических аминокислот, каждая из которых независимо может быть Y, F, W или H.

Одним из объектов, защищаемых настоящим изобретением, является анти-PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $(X_1)_zX_2G$ (SEQ ID NO: 449), петлю DE с последовательностью $X_1X_1X_1X_3$ (SEQ ID NO: 450) и петлю FG с последовательностью $EX_4X_1X_5X_1X_1X_6GYX_4HR$ (SEQ ID NO: 451), как определено в данной заявке.

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

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

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

В некоторых вариантах исполнения PCSK9 аднектин может быть конъюгирован с другой молекулой, нежели $^{10}F_n3$, такой как сывороточный альбумин человека (HSA), как это описано в патентных заявках WO 2009/133208 и WO 2009/083804.

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

Одним из объектов изобретения является PCSK9 аднектин, содержащий фармакокинетическую группу (ПК). В одном варианте исполнения фармакокинетическая группа содержит полиэтиленгликоль (ПЭГ). В отдельных вариантах исполнения фармакокинетическая группа содержит Fc-фрагмент. В некоторых вариантах исполнения фармакокинетическая группа содержит один или несколько аднектинов, связывающих сывороточный альбумин. Примеры слитых белков анти-PCSK9 аднектин-Fc приведены в табл. 1. Примеры анти-PCSK9 аднектинов, связывающих сывороточный альбумин, содержат последовательности SEQ ID NO: 618 или 619.

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

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

Одним из объектов настоящего изобретения является применение анти-PCSK9 аднектина для лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина.

Одним из объектов данного изобретения является слитый полипептид, содержащий связывающий сывороточный альбумин десятый домен III типа фибронектина ($^{10}\text{Fn3}$), и анти-PCSK9 аднектин, в котором связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывается с сывороточным альбумином, например HSA, с Kd 1 мкМ или меньше. В определенных вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70% идентичную последовательности SEQ ID NO: 330. В одном из вариантов исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит петлю BC с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 331, петлю DE с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 332, петлю FG с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 333. В другом варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит одну или более петель BC с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 331, петлю DE с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 332, петлю FG с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 333.

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

В определенных вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ в составе слитого полипептида связывает HSA с Kd 1 мкМ или менее. В некоторых вариантах исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA с Kd 500 нМ или менее. В других вариантах исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA с Kd по меньшей мере 200, 100, 50, 20, 10 или 5 нМ.

В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ в составе слитого полипептида связывается с доменами HSA I или II. В одном варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает оба домена HSA (I и II). В некоторых вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA в диапазоне pH от 5,5 до 7,4. В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA с Kd 200 нМ или менее при pH 5.5. В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA с Kd по меньшей мере 500, 200, 100, 50, 20, 10 или 5 нМ в диапазоне pH от 5.5 до 7.4. В одном варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ связывает HSA с Kd по меньшей мере 500, 200, 100, 50, 20, 10 или 5 нМ при pH 5.5.

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

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

В любом из последующих объектов или вариантов исполнения связывающий сывороточный альбумин домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит последовательность выбранную из группы последовательностей SEQ ID NO: 334, 338, 342, 346 и 348-370.

Краткое описание чертежей

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

На фиг. 15 показано ингибирование индуцированного PCSK9 снижения количества РЛГНП на поверхности клеток линии НерG2 под влиянием анти-PCSK9 аднектинов.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

На фиг. 27 показан анализ связывания SABA1.2 с альбуминами человека, мыши и крысы с помощью прямого ИФА.

На фиг. 28 показано определение стехиометрических показателей связывания SABA1.1 и HSA. Стехиометрия данного связывания - 1:1.

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

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

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

Подробное описание изобретения

Определения.

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

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

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

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

Условное обозначение "mpk", "мг/кг" или "мг на кг" используется для обозначения дозировки вещества на кг веса. Все эти условные обозначения используются равноправно на протяжении всего дан-

ного документа.

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

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

Обзор.

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

Структуры на основе фибронектина.

Одним из объектов данной заявки являются полипептиды, содержащие домен Fn3, в котором последовательности одной или нескольких петель, доступных для растворителя, подвергнуты случайному или направленному мутагенезу. В некоторых вариантах исполнения домен Fn3 представляет собой Fn3 домен, полученный из последовательности дикого типа десятого домена III типа фибронектина человека ($^{10}Fn3$):

VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGETGGNSPVQEFTVPGSK

STATISGLKPGVDYTTVYAVTGRGDSPASSKPI SINYRT (SEQ ID NO: 1).

В указанной последовательности $^{10}Fn3$ подчеркнуты петли BC, DE и FG.

Как описано в данной заявке, последовательности $^{10}Fn3$, не связывающие лиганды, т.е. являющиеся "структурными участками $^{10}Fn3$ ", могут быть изменены в такой степени, чтобы домен $^{10}Fn3$ сохранял функции связывания лигандов и/или структурную стабильность. Описано большое количество различных мутантных вариантов структурных участков $^{10}Fn3$. В одном из объектов данного изобретения один или более аминокислотных остатков из Asp 7, Glu 9 и Asp 23 заменены на другие аминокислотные остатки, например на неоприцательно заряженные (например, Asn, Lys и др.). Было показано, что такие замены повышают стабильность $^{10}Fn3$ при нейтральных значениях pH, по сравнению с доменом $^{10}Fn3$ дикого типа (см. PCT Publication № WO 02/04523). Описано большое количество дополнительных изменений структурных участков домена $^{10}Fn3$, которые либо оказывают полезный, либо нейтральный эффект. См., например, Baton et al., *Protein Eng.*, 15(12):1015-1020 (Dec. 2002); Koide et al., *Biochemistry*, 40(34):10326-10333 (Aug. 28, 2001).

И мутантный, и дикий тип домена $^{10}Fn3$ обладают сходной структурой, описываемой как 7 бета-участков, обозначаемых буквами от A до G, и 6 петлевых областей (петли AB, BC, CD, DE и FG), соединяющих упомянутые бета-участки. Бета-участки, расположенные наиболее близко к N и C-концам молекулы могут принимать бета-подобную конформацию в растворе. В последовательности SEQ ID NO:1 петле AB соответствуют остатки 15-16, петле BC соответствуют остатки 21-30, петле CD соответствуют остатки 39-45, петле DE соответствуют остатки 51-56, петле EF соответствуют остатки 60-66, петле FG соответствуют остатки 76-87 (Xu et al., *Chemistry & Biology*, 9:933-942 (2002)).

В некоторых вариантах исполнения последовательность полипептида $^{10}Fn3$ может быть по меньшей мере на 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90% идентична последовательности домена $^{10}Fn3$ человека, указанной в последовательности SEQ ID NO:1. Большая часть вариативности будет, как правило, прихо-

даться на одну или несколько петель. Последовательности каждого из бета и бета-подобных участков полипептида $^{10}\text{Fn3}$ могут почти полностью состоять из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична последовательностям соответствующих бета или бета-подобных участков последовательности SEQ ID NO:1, таким образом, что отличия не нарушают стабильность полипептида при физиологических условиях.

В некоторых вариантах исполнения данное изобретение включает полипептиды, содержащие десятый домен III типа фибронектина ($^{10}\text{Fn3}$), в котором указанный домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит петлю AB, петлю BC, петлю CD, петлю DE, петлю EF и петлю FG, при этом последовательность по крайней мере одной из петель BC, DE и FG изменена, относительно последовательности соответствующей петли домена $^{10}\text{Fn3}$ человека. В некоторых вариантах исполнения изменены последовательности петель BC и FG, в некоторых вариантах исполнения изменены последовательности петель BC, DE и FG, т.е. домен Fn3 содержит петли, структура которых отличается от таковых у природного домена. В некоторых вариантах исполнения изменены последовательности петель AB, CD и/или EF. Под "изменением" понимается наличие одного или более отличий между данной аминокислотной последовательностью и референсной (соответствующий домен фибронектина человека). Изменение включает в себя вставки, делеции и замены аминокислотных остатков. Изменение аминокислотной последовательности может быть достигнуто через введение направленных, ненаправленных или спонтанных изменений последовательности, как правило, на уровне кодирующей последовательности, и может осуществляться любым способом, например ПЦР, "ошибочной" ПЦР или химическим синтезом ДНК.

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

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

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

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

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

следовательности SEQ ID NO: 137).

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

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

В другом варианте исполнения петля DE может в общем виде быть выражена с помощью консенсусной последовательности $\text{PX}_1 X_1 X_1 X_3 T$ (SEQ ID NO: 324), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, X_3 представляет собой G или S. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностями петель DE в табл. 3.

В другом варианте исполнения петля FG может быть в общем виде выражена с помощью консенсусной последовательности $\text{EX}_4 X_1 X_5 X_1 X_6 \text{GYX}_4 \text{HRP}$ (SEQ ID NO: 325), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, X_4 представляет собой Y или F, X_5 представляет собой Y, F или W, X_6 представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения X_4 и X_5 являются остатками ароматических аминокислот, каждый из которых независимо может быть Y, F, W или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностями петель FG в табл. 3.

Соответственно в определенных вариантах исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $\text{SW}(X_1)_Z X_2 G$ (SEQ ID NO: 323), петлю DE с последовательностью $\text{PX}_1 X_1 X_1 X_3 T$ (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью $\text{EX}_4 X_1 X_5 X_1 X_6 \text{GYX}_4 \text{HRP}$ (SEQ ID NO: 325), в соответствии с приведенным выше описанием.

В других вариантах исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью SWEPFSRLPGGG (SEQ ID NO: 106), петлю DE с последовательностью $\text{PX}_1 X_1 X_1 X_3 T$ (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью $\text{EX}_4 X_1 X_5 X_1 X_6 \text{GYX}_4 \text{HRP}$ (SEQ ID NO: 325), в соответствии с приведенным выше описанием.

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

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

В определенных вариантах исполнения петля FG может в общем виде быть выражена с помощью консенсусной последовательности $\text{EX}_4 X_1 X_5 X_1 X_6 \text{GYX}_4 \text{HR}$ (SEQ ID NO: 451), в которой X_1 представляет собой любую аминокислоту, X_4 представляет собой Y или F, X_5 представляет собой Y, F или W, X_6 представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения X_4 и X_5 являются остатками ароматических аминокислот, каждый из которых независимо может быть Y, F, W или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностями петель FG в табл. 3.

Соответственно в одном варианте исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью $(X_1)_Z X_2 G$ (SEQ ID NO: 449), петлю DE с последовательностью $X_1 X_1 X_1 X_3$ (SEQ ID NO: 450) и петлю FG с последовательностью $\text{EX}_4 X_1 X_5 X_1 X_6 \text{GYX}_4 \text{HR}$ (SEQ ID NO: 451), в соответствии с приведенным выше описанием.

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

EVVAAT(X)_aSLLI(X)_xYYRITYGE(X)_bQEFTV(X)_yATI(X)_cDYTITVYAV(X)_zISINY
RT (SEQ ID NO:328)

В последовательности SEQ ID NO: 328 петля АВ представлена X_a, петля CD представлена X_b, петля EF представлена X_c, петля BC представлена X_x, петля DE представлена X_y, петля FG представлена X_z. X обозначает любую аминокислоту, индекс X обозначает целое число аминокислотных остатков. В частности, a в любом месте может составлять 1-15, 2-15, 1-10, 2-10, 1-8, 2-8, 1-5, 2-5, 1-4, 2-4, 1-3, 2-3 или 1-2 аминокислотных остатка; b, c, x, y и z, каждый независимо в любом месте могут составлять 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 или 6-7 аминокислотных остатков. В предпочтительных вариантах исполнения a составляет 2 аминокислотных остатка, b составляет 7 аминокислотных остатков, c составляет 7 аминокислотных остатков, x составляет 9 аминокислотных остатков, y составляет 6 аминокислотных остатков, z составляет 12 аминокислотных остатков. Последовательности данных бета участков могут иметь в любом месте от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1 аминокислотной замены, делеции или вставки на протяжении всех 7 структурных областей относительно соответствующих аминокислотных остатков, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. В определенных вариантах исполнения аминокислотные остатки, составляющие коровую часть, фиксированы и любые замены, консервативные замены, делеции или вставки производятся с любыми другими аминокислотными остатками.

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

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

EVVAATPTSLI(X)_xYYRITYGETGGNSPVQEFTV(X)_yATISGLKPGVDYTITVYA
V(X)_zISINYRT (SEQ ID NO:329)

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

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

относительно аминокислотных остатков структурной части, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. Такие структурные модификации могут осуществляться до тех пор, пока анти-PCSK9 аднектин способен связывать PCSK9 с желаемой K_D .

В некоторых вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в данном изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы:

SWPPSHGYG (SEQ ID NO: 2), SWRPPHAYG (SEQ ID NO: 3), SWDAPHAYG (SEQ ID NO:4), SWDAPAHAYG (SEQ ID NO:5) и SWDAPAVTYG (SEQ ID NO:6), SWSPPANGYG (SEQ ID NO:7), SWTPPKGYG (SEQ ID NO:8), SWRPPSHAYG (SEQ ID NO:9), SWDPPSHAYG (SEQ ID NO:10), SWEPPSHAYG (SEQ ID NO:11), SWSPPSHAYG (SEQ ID NO:12), SWRPPSNGHG (SEQ ID NO:13), SWVPPSDDYG (SEQ ID NO:14), SWVPSSHAYG (SEQ ID NO:15), SWDPSSHAYG (SEQ ID NO:16) и SWEPPSHAYG (SEQ ID NO:17).

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

В некоторых вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы:

PPGKGT (SEQ ID NO:18), PIVEGT (SEQ ID NO:19), PGSEGT (SEQ ID NO:20), PGSKGT (SEQ ID NO:21), PGSKST (SEQ ID NO:22), PVGRGT (SEQ ID NO:23), PVGEGT (SEQ ID NO:24), PIGKGT (SEQ ID NO:25), PVNEGT (SEQ ID NO:26) и PVGVGT (SEQ ID NO:27).

В последующих вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 136-141. В других вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, как показано в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля DE содержит последовательность PGKG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 18), VGVG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 27) или VSKS (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 137).

В некоторых вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы:

EYRYKHSYHHRP (SEQ ID NO:28), EYTFKHSYHHRP (SEQ ID NO:29), EYTYKGSYHHRP (SEQ ID NO:30), EYTYNGAGYHHRP (SEQ ID NO:31), EYTYIGAGYHHRP (SEQ ID NO:32), EYTYEGAGYHHRP (SEQ ID NO:33), EYAYNGAGYHHRP (SEQ ID NO:34), EYPWKGSYHHRP (SEQ ID NO:35), EFPFKWSYHHRP (SEQ ID NO:36), EFPWPHAGYHHRP (SEQ ID NO:37) и EYAFEGAGYHHRP (SEQ ID NO:38).

В последующих вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 142-172. В других вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, как показано в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля FG содержит последовательность EYRYKHSYHHRP (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 28), EYRYDYSYHHRP (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 142) или EYDFVAGYHHRP (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 167).

В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит одну последовательность петли BC, выбранную из группы последовательностей BC, включающих последовательности SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, как показано в табл. 3; одну последовательность петли DE, выбранную из группы последовательностей петель DE, включающих последовательности SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141 как показано в табл. 3; и одну последовательность петли FG, выбранную из группы последовательностей FG, включающих последовательности SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172 как показано в табл. 3. В некоторых вариантах испол-

нения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичные любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 106-172, 301-303. В других вариантах исполнения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичные затемненной части любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 106-172, 301-303, как показано в табл. 3.

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

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

В определенных вариантах исполнения молекулы анти-PSCK9 аднектина, описываемые в настоящем изобретении, могут быть модифицированы за счет удлинения N- или C-концевых частей. Например, последовательность MG может быть добавлена на N-конец последовательности домена ¹⁰Fn3, определяемой последовательностью SEQ ID NO: 1. Добавочная аминокислота M обычно отщепляется, оставляя на N-конце белка аминокислотный остаток G. В другом случае первые 10 аминокислотных остатков последовательности анти-PSCK9 аднектина, приведенной в табл. 4, могут быть заменены другой N-концевой последовательностью, называемой в данном документе N-концевым удлинением, как показано в табл. 6 (например, SEQ ID NO: 371-379). Кроме того, M, G или MG могут быть помещены на N-конец любого N-концевого удлинения, SEQ ID NO: 371-379. Анти-PSCK9 аднектины, описанные в данной заявке, могут также содержать различные C-концевые последовательности, называемые в данном документе C-концевыми удлинениями. Например, последовательность анти-PSCK9 аднектина, показанная в табл. 4, может быть укорочена после треонина, соответствующего треонину в 94 положении последовательности SEQ ID NO: 1 (т.е. укорочена после последовательности INYRT (SEQ ID NO: 636)). Такой укороченный вариант может быть использован в качестве терапевтической молекулы в укороченной форме, или может быть добавлена другая C-концевая последовательность после остатка треонина. Примеры C-концевых удлиняющих последовательностей приведены в табл. 6 как SEQ ID NO: 380-395. Примеры последовательностей анти-PSCK9 аднектина, содержащих C-концевые удлинения приведены в табл. 4. Например, последовательность SEQ ID NO: 49 (клон 1813E02) содержит естественную C-концевую удлиняющую последовательность EIDKPSQ (SEQ ID NO: 380) с последующей последовательностью His6-тэга (SEQ ID NO: 637). Однако стоит понимать, что последовательность His6-тэга полностью необязательна.

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

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

Фармакокинетические части.

Одним из объектов, описываемых данной заявкой на изобретение является анти-PSCK9 аднектин, содержащий фармакокинетическую (ПК) часть. Улучшенная фармакокинетика может быть желательна в соответствии с имеющейся терапевтической необходимостью. Часто желательно повысить биодоступность и/или увеличить время между введением доз препарата, что возможно за счет увеличения периода

времени, когда белок остается доступным в сыворотке крови после введения препарата. В некоторых случаях желательно поддерживать постоянную концентрацию белка в плазме (например, уменьшить различие между концентрацией белка в сыворотке вскоре после введения и незадолго до следующего введения). Анти-PCSK9 аднектин может быть присоединен к определенной группировке, которая снижает скорость выведения полипептида у млекопитающих (например, мышей, крыс, или человека) более чем в три раза по сравнению с немодифицированным анти-PCSK9 аднектином. Другие показатели улучшения фармакокинетики включают в себя время полужизни в плазме, которое часто делится на альфа-и бета-фазу. Показатели каждой или обеих фаз могут быть значительно улучшены путем добавления соответствующей РК-группы.

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

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

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

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

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

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

*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFPVAVLQ
SSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 315)*

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

Указанный слитый белок может быть получен путем присоединения последовательности анти-PCSK9 аднектина к любому из концов последовательности Fc-домена, т.е. могут быть получены слитые белки Fc-анти-PCSK9 аднектин или анти-PCSK9 аднектин-Fc. В определенных вариантах исполнения Fc-фрагмент и анти-PCSK9 аднектин соединяются при помощи линкерной последовательности. Примеры линкерных последовательностей включают

AGGGGSG (SEQ ID NO: 310),
 GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 311), QPDEPGGS (SEQ ID NO: 312),
 ELQLEESAAEAQDGELD (SEQ ID NO: 313), TVAAPS (SEQ ID NO: 314), KAGGGGSG
 (SEQ ID NO: 620), KSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 621), KQPDEPGGS (SEQ ID NO:
 622), KELQLEESAAEAQDGELD (SEQ ID NO: 623), KTVAAPS (SEQ ID NO: 624),
 KAGGGGSGG (SEQ ID NO: 625), KSGSGSGSGSGSG (SEQ ID NO: 626),
 KQPDEPGGSG (SEQ ID NO: 627), KELQLEESAAEAQDGELDG (SEQ ID NO: 628),
 KTVAAPSG (SEQ ID NO: 629) AGGGGSGG (SEQ ID NO: 630), GSGSGSGSGSGSG (SEQ
 ID NO: 631), QPDEPGGSG (SEQ ID NO: 632), ELQLEESAAEAQDGELDG (SEQ ID NO:
 633) и TVAAPSG (SEQ ID NO: 634).

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

В некоторых вариантах исполнения шарнирная последовательность может содержать замены, придающие желаемые фармакодинамические, биофизические и/или биологические свойства. Некоторые примеры последовательностей шарнирной области включают следующие: EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS (SEQ ID NO: 317; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS (SEQ ID NO: 318; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS (SEQ ID NO: 319; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), DKTHTCPPCPAPELLGGPS (SEQ ID NO: 320; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута) и DKTHTCPPCPAPELLGGSS (SEQ ID NO: 321, коровая последовательность шарнирной области подчеркнута). В одном варианте исполнения остаток Р в положении 122 (238 по номенклатуре Евросоюза) последовательности SEQ ID NO: 315 заменен на остаток S для нарушения эффекторной функции Fc-фрагмента. Пример данной замены приведен в любой из последовательностей SEQ ID NO: 318, 319 и 321. В другом варианте исполнения остатки DK в положении 104-105 последовательности SEQ ID NO: 315 (221-222 по номенклатуре Евросоюза) заменены на остатки GS для удаления потенциального сайта сшивки. Пример такой замены показан в последовательности SEQ ID NO: 319. В другом варианте исполнения остаток С в положении 103 последовательности SEQ ID NO: 315 (220 по номенклатуре Евросоюза) заменен на остаток S для предотвращения формирования неправильной дисульфидной связи в отсутствие легкой цепи. Пример такой замены приведен в последовательностях SEQ ID NO: 317-319.

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

Если слитый белок продуцируется в системе E.coli, на N-конец слитого белка будет введен остаток метионина.

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

METDTLLLWVLLLWVPGSTGGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYR
ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATISGLKPGVDYITIVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRTEI
EPKSSGSTHTCPPCAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K (SEQ ID NO: 322).

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

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV
 DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 448)

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

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

Таблица 1

Примеры последовательностей слитых белков анти-PCSK9 аднектин-Fc

EQ ID	Клон или название	Описание	Последовательность
PCSK9 Аднектин-X₁-Fc C-концевые варианты			
52	1459 D05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPPPSH GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGATIS GLKPGVDYITIVYAVEYYPKHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
53	1784F 03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPH AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIVEGTATIS GLKPGVDYITIVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		С-концевой остаток К	
54	1784F 03-m1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPIH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSEGTATIS GLKPGVDYITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
55	1784F 03-m2-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKGTATIS GLKPGVDYITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
56	1784F 03-m3-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAV TYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKSTATIS GLKPGVDYITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
57	1813E 02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWSPPAN GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGRGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEITYKSGYHHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
58	1923B 02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEITYNGAGYHHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
59	1923B 02(N82I)–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEITYIGAGYHHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ -

		<p>группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKLSLSLSPG</p>
60	1923B 02(N82E) –Fc слитый белок	<p>X1 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVGEGETATIS GLKPGVDYITITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINY RT-X₁-X₂- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKLSLSLSPG</p>
61	1923B 02(T80A) –Fc слитый белок	<p>X1 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVGEGETATIS GLKPGVDYITITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINY RT-X₁-X₂- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKLSLSLSPG</p>

62	1922 G04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWRPPSH AYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
63	1922 G04(R25D)- Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDPPSH AYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
64	1922 G04(R25E)- Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWEPPSH AYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
65	1922 G04(R25S) – Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWSPPSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
66	2012 A04–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWRPPSN GHGYRITYGETGGNSPVQEFVPIVNEGATATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPFKWSGYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
67	2013E 01–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWVPPSD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

		(SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
68	2011 H05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWVPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEF T V P V G V G T A T I S GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
69	2011 H05(V23D)- Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEF T V P V G V G T A T I S GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
	2011	X1 является	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPSSH

70	H05(V23E) – Fc слитый белок	необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	AYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG
71	2381B 02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSFLQQFTVPVPGSGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYDYSGYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG
72	2381B 04–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSFLQQFTVPVPGSGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPIEHSGYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYT

		NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	QKSLSLSPG
73	2381B 06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPHSGYYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
74	2381B 08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPSSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
75	2381 D02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPYDHSYYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
76	2381 D04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
77	2381F I1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVVPVSKSTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
78	2381 G03-Fc	X1 является необязательным и, если	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA

	слитый белок	присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYAHSGYYHRPIS INVRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
79	2381 G09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAG DGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFTFPAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
80	2381 H03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSFLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYAHSGYFHRPIS INVRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		фрагмент может включать С-концевой остаток К	
81	2382 A01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWAAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
82	2382B 10-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
83	2382B 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
84	2382C 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPADGAYGYRITYGETGGNSPVQEFVVPVSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEYSFPGAGYYHRPISINYRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
85	2382C 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFVVPVSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ -VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
86	2382 D03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD EAYGYRITYGETGGNSPVQEFVVPVSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN

		выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
87	2382 D05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYITITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
88	2382 D08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		С-концевой остаток К	
89	2382 D09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
90	2382F 02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
91	2382F 03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAA DAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFNFPAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
92	2382F 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAE AGKHYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPIS INVRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
93	2382F 08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAE AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
94	2382F 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ -

		<p>группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>
95	<p>2382</p> <p>G04-Fc</p> <p>слитый белок</p>	<p>X1 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPAG</p> <p>GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATI SGLKPGVDYITITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X₁-X₂-</p> <p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>
96	<p>2382</p> <p>H10-Fc</p> <p>слитый белок</p>	<p>X1 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPAG</p> <p>GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X₁-X₂-</p> <p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>

97	2382 H11-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVFKGTATIS GLKPGVDYITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
98	2382 H04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVSSKGTATI SGLKPGVDYITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
99	2382 H07-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVPGSKGTATIS GLKPGVDYITVYAVEFDYFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
00	2382 H09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
01	2451 A02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAA GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG
02	2451B 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDYFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

		(SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
03	2451B 06-Fc слитый белок (эквивалент 2382D05)	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
04	2451C 06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAG AASYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFFFGAGYYHRPISI NYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
	2451	X1 является	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAG

05	D05–Fc слитый белок	необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTIITVYAVEFDFPGSGYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
06	2451F 03–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDPPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTIITVYAVEFDFPGSGYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
07	2451 G01–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATIS GLKPGVDYTIITVYAVEFDFPGSGYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT

		NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	QKSLSLSPG
08	2451 H07-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GITDVPRDLEVVAATPTSLLIISWNPPDV NYGYRITYGETGGNSPLQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYAHAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
09	2382E 03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAG DGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATT SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
10	2382E 04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFTFPAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
11	2382E 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
12	2382E 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
13	2381 A04-Fc	X1 является необязательным и, если	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA

	слитый белок	присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	TISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPYFSGYYHRPIS INYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
14	2381 A08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
15	2381B 10-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		фрагмент может включать С-концевой остаток К	
16	2381C 08–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAD GAYGYRITYGETGGNSPVQEF TVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFPYPFAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
17	2381 G06–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWSEKLD GKARRGYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYDHSYYHRPIS IN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
18	2381 H01–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWSPRDS TGLVRRGYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGT ATISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPYDHSYYHRPI SIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
19	2381 H06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWGDVRTNEARQGYRITYGETGGNSFLQGFTVPGSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEYTYEHSGYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	2381 H09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAGGGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEFDVFGAGYYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
21	2382B I1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAAAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGVDYITITVYAVEYDFAGSGYYHRPISIN Y

		выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
22	2382B 08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFAFFGAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
23	2382C 11-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		С-концевой остаток К	
24	2382 G03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAE AEAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYVFPAGAGYYHRPISI NYRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
25	2382 H03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAE GAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYYPYFAGYHRPISIN YRT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
26	2451 A10-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из	GVTDVPRDMEVVAATPTSLLSWQPPAV TYGYRITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYYPYDHSAGYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
27	2451B 02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
28	2451C 11-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GIVDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDPPAG AYGYRITYGETGGNSPKQQFTVPYKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
29	2451 H01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAA GYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFP RT-X ₁ -X ₂ -

		<p>группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>
30	2011B 11-Fc слитый белок	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWAPPD AYGYRITYGETGGNSPVQFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEYPYSHAGYYHRPISINY RT-X₁-X₂- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>
31	2971 A03-Fc слитый белок	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2</p> <p>выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDPPD DYGYRITYGETGGNSPVQFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X₁-X₂- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG</p>

32	2971 A09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPAD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
33	2971E 02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLIISWDAPSD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X ₁ -X ₂ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG
X₁-Fc-X₂-PCSK9 Аднектин N-концевые варианты			
34	Fc- 1459D05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG-X ₂ -

		необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPPPSHGYYR ITYGETGGNSPVQEFTVPPGKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYKHSYYHRPISINRYT-X ₃
35	Fc- 1784F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPIHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIVEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSYYHRPISINRYT-X ₃
36	Fc- 1784F03-m1 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой»	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPIHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSYYHRPISINRYT-X ₃

		последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
37	Fc- 1784F03-m2 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYT-X ₃
38	Fc- 1784F03-m3 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYT-X ₃

		ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
39	Fc- 1813E02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWSPANGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGRGTATISGLKPGV DYTITVYAVEITYKSGYYHRPISINRYT-X ₃
40	Fc- 1923B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWTPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEITYNGAGYYHRPISINRYT-X ₃
	Fc-	X1 выбирается из	X ₁ -

41	1923B02(N82) I) слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVEFTVVPVGGTATISGLKPGV DYTITVYAVEITYIGAGYYHRPISINRYT-X ₃
42	Fc- 1923B02(N82) E) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSHHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVEFTVVPVGGTATISGLKPGV DYTITVYAVEITYEGAGYYHRPISINRYT-X ₃
43	Fc- 1923B02(T80) A) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLIISWTPPKGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVGEGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINRYT-X ₃
44	Fc-1922G04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLIISWRPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPWKGSYHRPISINRYT-X ₃
45	Fc-1922G04(R25D) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHT

		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPPWKGSGYYHRPISINRYT-X ₃
46	Fc- 1922G04(R25 E) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWEPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPPWKGSGYYHRPISINRYT-X ₃
47	Fc- 1922G04(R25 S) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWSPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGV

		С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	DYTTITVYAVEYFPWKSGYYHRPISINRYT-X ₃
48	Fc- 2012A04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLIISWRPPSNHGYYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFPFKWSGYYHRPISINRYT-X ₃
49	Fc- 2013E01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLIISWPPSDDYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X ₃

		последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
50	Fc- 2011H05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLIISWVPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYT-X ₃
51	Fc- 2011H05(V23 D) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLIISWVPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYT-X ₃

52	Fc- 2011H05(V23E) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPSSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X ₃
53	Fc- 2381B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLISWEPFRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYITVYAVEYPYDYSGGYHRPISINYRT- X ₃
54	Fc- 2381B04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWEPFSLRPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYYPYEHSGYYHRPISINYRT- X ₃
55	Fc- 2381B06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWEPFSLRPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYYPYPHSGYYHRPISINYRT- X ₃
56	Fc- 2381B08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ	X ₁ - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYTFPGAGYHRPISINYRT-X ₃
57	Fc- 2381D02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWEPFSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPPDHSGYHRPISINYRT- X ₃
58	Fc- 2381D04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWEPFSRLPGGGE

		присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYHHRPISINYRT- X ₃
59	Fc- 2381F11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKSTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYTFPGAGYHHRPISINYRT-X ₃
60	Fc- 2381G03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью,	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPF SRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFPYAHSGYHHRPISINYRT- X ₃

		выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
61	Fc- 2381G09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть C-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDAPAGDGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVPSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFTPPGAGYHRPISINVRT-X ₃
62	Fc- 2381H03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть C-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWEPFSLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPAHSGYFHRPISINVRT- X ₃

		(SEQ ID NO: 635)	
63	Fc- 2382A01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWAAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEF T V P V S K G T A T I S G L K P G VDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃
64	Fc- 2382B10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEF T V P S S K G T A T I S G L K P G V DYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
65	Fc- 2382B09	X1 выбирается из последовательностей	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	слитый белок	шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSGYHRPISINVRT-X ₃
66	Fc- 2382C05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYITITVYAVEYSFPGAGYHRPISINVRT-X ₃
67	Fc- 2382C09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		<p>последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂- VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYT-X₃</p>
68	<p>Fc- 2382D03 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>X₁- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂- VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAEGYGYR RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINRYT-X₃</p>
69	<p>Fc- 2382D05 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p>	<p>X₁- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂-</p>

		необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
70	Fc- 2382D08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
71	Fc- 2382D09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃

		последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
72	Fc- 2382F02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFPGSGYHRPISINRYT-X ₃
73	Fc- 2382F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAADAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFNFPAGAGYHRPISINRYT-X ₃

		ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
74	Fc- 2382F05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAEAGKHYG YYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINYRT- X ₃
75	Fc- 2382F08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAEAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
	Fc-	X1 выбирается из	X ₁ -

76	2382F09 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X ₃
77	Fc- 2382G04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVVSSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYRT-X ₃
78	Fc- 2382H10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPAGGYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
79	Fc- 2382H11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHTQKSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPADGYGYYRITYGETGGNSPVQEFTVVPVFKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
80	Fc- 2382H04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT

		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAAAGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGAGYHRPISINYRT-X ₃
81	Fc- 2382H07 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYHRPISINYRT-X ₃
82	Fc- 2382H09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGV

		С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	DYTTITVYAVEFDFPFGSGYYHRPISINRYRT-X ₃
83	Fc- 2451A02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINRYRT-X ₃
84	Fc- 2451B05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFDY PFGSGYYHRPISINRYRT-X ₃

		последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
85	Fc- 2451B06 слитый белок (эквивалент 2382D05)	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃
86	Fc- 2451C06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAGAASYGY YRITYGETGGNSPVQEFVTVSKGTATISGLKPG GVDYTTITVYAVEFPFPGAGYYHRPISINRYT- X ₃

87	Fc- 2451D05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPAGAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
88	Fc- 2451F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDPPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFNFPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
89	Fc- 2451G01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINVRT-X ₃
90	Fc- 2451H07 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - ITDVPDLEVVAATPTSLLLISWNPDPVNYGYR ITYGETGGNSPLQEFVPSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPPYAHAGYYHRPISINVRT-X ₃
91	Fc- 2382E03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGDGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPISINRYT-X ₃
92	Fc- 2382E04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFTFFGAGYYHRPISINRYT-X ₃
93	Fc- 2382E05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAGGYGY

		присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	RITYGETGGNSPVQEF T V P V S K G T A T I S G L K P G VDY T I T V Y A V E F D F P G A G Y Y H R P I S I N Y R T - X ₃
94	Fc- 2382E09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G - X ₂ - V S D V P R D L E V V A A T P T S L L I S W D A P A E A Y G Y Y R I T Y G E T G G N S P V Q E F T V P V S K G T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V E Y D F P G S G Y Y H R P I S I N Y R T - X ₃
95	Fc- 2381A04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью,	X ₁ - V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G - X ₂ - V S D V P R D L E V V A A T P T S L L I S W E P F S R L P G G G E Y Y R I T Y G E T G G N S P L Q Q F T V P G S K G T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V E Y P P F S G Y Y H R P I S I N Y R T - X ₃

		выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
96	Fc- 2381A08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVPGSKGTATISGLKPG VDYITITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINRYT-X ₃
97	Fc- 2381B10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVPGSKGTATISGLKPG VDYITITVYAVEYNFIGAGYYHRPISINRYT-X ₃

		(SEQ ID NO: 635)	
98	Fc- 2381C08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть C-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFPYFAGYHHRPISINRYT-X ₃
99	Fc- 2381G06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть C-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLI SWSEKLDGKARRG YYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFPYDHSYHHRPISINRYT- X ₃
00	Fc- 2381H01	X1 выбирается из последовательностей	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

	слитый белок	шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPRDSTGLVRR GYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGL KPGVDYTTITVYAVEYYPYDHSGYYHRPISINYRT -X ₃
01	Fc- 2381H06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHODWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGDVRTNEARQG YYRITYGETGGNSPLQGFVTPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYTYEHSYHRPISINYRT- X ₃
02	Fc- 2381H09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		<p>последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂- VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFVAGAGYYHRPISINRYT-X₃</p>
03	<p>Fc- 2382B11 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p> <p>необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>X₁- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂- VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINRYT-X₃</p>
04	<p>Fc- 2382B08 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p>	<p>X₁- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNNHT QKSLSLSPG-X₂-</p>

		необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFAFPAGAGYYHRPISINYRT-X ₃
05	Fc- 2382C11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT-X ₃
06	Fc- 2382G03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой»	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAEAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKP GVDYITVYAVEYVFPAGAGYYHRPISINYRT-

		последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₃
07	Fc- 2382H03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPSTLLISWDAPAEGAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYPYPFAGYYHRPISINRYT-X ₃
08	Fc- 2451A10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VTDVPRDMEVVAATPSTLLISWQPPAVTYGYR ITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDHSYHRPISINRYT-X ₃

		ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
09	Fc- 2451B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
10	Fc- 2451C11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X ₂ - IVDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDPAGAYGYR ITYGETGGNSPKQQFTVPGYKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDHSYYHRPISINRYT-X ₃
	Fc-	X1 выбирается из	X ₁ -

11	2451H01 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINRYT-X ₃
12	2011B11 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWAPPSPDAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVPIGKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYSHAGYYHRPISINRYT-X ₃
13	2971A03 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHTQKLSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDPPSDDYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X ₃
14	Fc- 2971A09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHTQKLSLSLSPG-X ₂ -VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADDYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X ₃
15	Fc- 2971E02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X ₁ - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHT
		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKLSLSLSPG-X ₂ - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPSDDYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X ₃

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

В некоторых вариантах исполнения PK-группой является полимерный сахар. В некоторых вариантах исполнения PK-группой является полиэтиленгликоль. В некоторых вариантах исполнения PK-группой является сывороточный альбумин человека. В некоторых вариантах исполнения PK-группой является сывороточный иммуноглобулинсвязывающий белок. В некоторых вариантах исполнения

ПК-группой является трансферрин.

В некоторых вариантах исполнения ПК-группой является другой аднектин, специфичный к сывороточному белку, например к HSA. В настоящей заявке описываются специфические связывающие сывороточный альбумин молекулы аднектина (или SABA). В определенных вариантах исполнения последовательность слитого белка PCSK9 аднектина с SABA может быть в общем виде представлена как X₁-коровая часть PCSK9 аднектина-X₂-X₃-X₄-коровая часть SABA-X₅ (SEQ ID NO: 618) или X₁-коровая часть SABA-X₂-X₃-X₄-коровая часть PCSK9 аднектина-X₅ (SEQ ID NO: 619), где X₁ и X₄ представляют собой необязательные N-концевые удлинения, X₂ и X₅ представляют собой необязательные C-концевые удлинения, X₃ представляет собой линкер. В одном из вариантов исполнения аднектины (либо PCSK9, либо связывающие сывороточный альбумин) последовательностей SEQ ID NO: 618 и 619 включают коровую область аднектина, т.е. коровая последовательность PCSK9 аднектина может быть любой из последовательностей PCSK9 аднектинов, представленных в табл. 4, в которой данные последовательности начинаются с аминокислотного остатка, соответствующего остатку E8 последовательности SEQ ID NO: 1 и заканчиваются аминокислотным остатком, соответствующим остатку T94 последовательности SEQ ID NO: 1. Коровая последовательность SABA может быть выбрана из любой из коровых последовательностей SABA, представленных в табл. 6.

В некоторых вариантах исполнения X₁ и X₄ являются независимо необязательными и, в случае присутствия, являются независимо выбранными из последовательностей SEQ ID NO: 371-379, приведенных в табл. 6. Данные последовательности могут содержать M, G или MG последовательность на N-конце, если такие аминокислотные остатки не включены в последовательность. Для экспрессии в клетках млекопитающих слитые белки могут также содержать на N-конце лидерную сигнальную последовательность, такую как METDTLLLVVLLLVVPGSTG (SEQ ID NO: 326). В некоторых вариантах исполнения X₂ и X₅ являются независимо необязательными и, в случае присутствия, являются независимо выбранными из последовательностей SEQ ID NO: 380-395, приведенных в табл. 6. В определенных вариантах исполнения X₃ представляет собой линкерную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 396-419, приведенных в табл. 6. Последовательности в табл. 2 представляют собой примеры слитых белков анти-PCSK9 и SABA. Следует понимать, что любая последовательность PCSK9 аднектина и SABA, описанная в данной заявке, может быть включена в состав таких слитых белков.

Таблица 2

Примеры последовательностей слитого белка PCSK9 аднектин-SABA

EQ ID	Клон или название	Описание	Последовательность
16	PCSK9 Аднектин-SABA слитый белок	Последовательность PCSK9 Аднектина подчеркнута; последовательность SABA выделена жирным шрифтом. Последовательность PCSK9 Аднектина представляет собой коровую область от клона 2013E01;	X ₁ - <u>EVVAATPTSLLLISWVPPSDDYGYRITY</u> <u>GETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKP</u> GVDYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISIN <u>YRT</u> -X ₂ -X ₃ -X ₄ - EVVAATPTSLLLISWHSYQEYQNSYYRITY GETGGNSPVQEFTVPSQTTATISGLKP GVDYTITVYAVYGSKYYPISIN YRT- X ₅

		последовательность SABA взята из SABA 1 (SEQ ID NO: 330)	
17	SABA- PCSK9 Аднектин слитый белок	Последовательность SABA выделена жирным шрифтом, последовательность PCSK9 Аднектина подчеркнута . Последовательность SABA взята из SABA 1 (SEQ ID NO: 330); последовательность PCSK9 Аднектина представляет собой коровую область от клона 2013E01	X ₁ - EVVAATPTSLLLISWHSYYEQNSYYRITY GETGGNSPVQEFVTPYSQTTATISGLKP GVDYTTIVYAVYGSKYYYYPISINVRT- X ₂ -X ₃ -X ₄ - EVVAATPTSLLLISWPPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVTPIGKGTATISGLKP GVDYTTIVYAVEFPWPHAGYHNPISIN YRT-X ₅

Биофизическая и биохимическая характеристика.

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

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

Таблица 3

Петли BC, DE и FG анти-PCSK9 аднектинов

ID клона	Аффинность (K_D , нМ)	PC SK9-EGFA FRET (EC_{50} , нМ)	Снижение количества LDLR (%) ингибирования при 75 нМ. EC_{50} (нМ)	Петля BC	SEQ ID NO	Петля DE	SEQ ID NO	Петля FG	SEQ ID NO
1459D05	14.4† 1.58* 26^	4	66.8, >200	SWPPSH GYG	2	PPG KGT	18	EYPYKHSY YHRP	28
1784F03	3.8^	2	150.2, 26±13	SWRPPH AYG	3	PIV EGT	19	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m1	нд	нд	нд, >2000	SWDAPH AYG	4	PGS EGT	20	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m2	нд	нд	нд, >2000	SWDAPH AYG	5	PGS KGT	21	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m3	нд	нд	нд, >2000	SWDAPAV TYG	6	PGS KST	22	EYTFKHSY YHRP	29
1813E02	<2^	1.3	нд, 16	SWSPPAN GYG	7	PVG RGT	23	EYTYRGSY YHRP	30
1923B02	0.173*	2.3	178.0, 23±7	SWTPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYNGAGY YHRP	31

1923B02 (N82I)	нд	нд	нд, 14	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYIGAGY YHRP	32
1923B02 (N82E)	нд	нд	нд, 28	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYEGAGY YHRP	33
1923B02 (T80A)	нд	нд	нд, 42	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYAYNGAGY YHRP	34
1922G04	0.09*	1.2	105.1, 10±2	SWRPPSH AYG	9	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25D)	нд	2.5	нд, 29±8	SWDPPSH AYG	10	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25E)	нд	3.5	нд, 29±18	SWEPSSH AYG	11	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25S)	нд	нд	нд, 21	SWSPSSH AYG	12	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
2012A04	0.25*	2.1	144.5, 12±6	SWRPPSN GHG	13	PVN EGT	26	EFPPKWSY YHRP	36
2013E01	1.51† 0.29*	1.6	165.5, 10±4	SWVPPSD DYG	14	PIG KGT	25	EFPPHAGY YHRP	37
2011H05	0.08*	2.7	197.6, 12±5	SWVPPSH AYG	15	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2011H05 (V23D)	нд	5.5	нд, 18±3	SWDPPSH AYG	16	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2011H05 (V23E)	нд	7.4	нд, 12±3	SWEPSSH AYG	17	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2381B02 (1)	3.29†	2.5	125.4, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPPDYSY YHRP	142
2381B04 (1)	0.527†	2.4	121.6, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPPHSGY YHRP	143
2381B06 (1)	нд	3.5	119.7, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPPHSGY YHRP	144
2381B08	4.11†	2.6	124.8, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PSS KGT	136	EYTFPGAGY YHRP	145
2381D02 (1)	нд	3.1	185.0, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPPDHSY YHRP	146
2381D04 (1)	0.237†	2.9	119.2, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EFPPDHSY YHRP	147
2381F11	1.59†	4	110.2, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KST	137	EYTFPGAGY YHRP	145
2381G03 (1)	нд	3.4	70.2, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EFPPHSGY YHRP	148
2381G09	1.12†	3.1	133.0, нд	SWDAPAG DYG	10 8	PVS KGT	138	EFTFPAGY YHRP	149
2381H03 (1)	нд	3.4	89.8, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPPHSGY FHRP	150
2382A01	нд	12. 9	119.8, нд	SWAAPAG GGYG	10 9	PVS KGT	138	EYDFPGAGY YHRP	151
2382B10	2.35†	3	100.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PSS KGT	136	EYDFPGSY YHRP	152

2382B09	0.656†	3.8	105.0, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PVS KGT	138	EFDYPGSGY YHRP	153
2382C05	2.49†	4	105.3, нд	SWDAPAD GAYG	11 1	PVS KGT	138	EYSFPGAGY YHRP	154
2382C09	0.757†	3.5	121.7, нд	SWDAPAE GYG	11 2	PVS KGT	138	EFDFFPGSGY YHRP	155
2382D03	1.53†	3.3	80.4, нд	SWDAPAD EAYG	11 3	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382D05	0.314†	2.6	140.5, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382D08	нд	3.1	106.6, нд	SWDAPAD GYG	11 4	PVS KGT	138	EFFFPAGAGY YHRP	157
2382D09	0.304†	2.6	109.1, нд	SWDAPAE GYG	11 2	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382F02	нд	2.6	-6.3, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFDFFPGSGY YHRP	155
2382F03	нд	2.7	88.6, нд	SWDAPAA DAYG	11 6	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	158
2382F05	4.54†	2.4	72.2, нд	SWDAPAE AGKHYG	11 7	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382F08	нд	2.5	105.0, нд	SWDAPAE AYG	11 8	PVS KGT	138	EFTYPGSGY YHRP	159
2382F09	нд	3.1	109.7, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EYDFPGSGY YHRP	152
2382G04	1.11†	2.9	146.1, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PSS KGT	136	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382H10	1.40†	2.6	118.6, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PVS KGT	138	EFDFFPGSGY YHRP	155
2382H11	нд	2.9	117.2, нд	SWDAPAD GYG	11 4	PVF KGT	139	EFDYPGSGY YHRP	153
2382H04	нд	3.2	68.2, нд	SWDAPAA GGYG	12 1	PSS KGT	136	EYDFPGAGY YHRP	151
2382H07	нд	2.7	86.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PGS KGT	21	EFDFFPGSGY YHRP	155
2382H09	1.86†	0.9	101.2, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PSS KGT	136	EFDFFPGSGY YHRP	155
2451A02	нд	3.2	106.4, нд	SWDAPAA GYG	12 2	PVS KGT	138	EFFFPAGSGY YHRP	157
2451B05	нд	6.3	91.7, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PSS KGT	136	EFDYPGSGY YHRP	153
2451B06	нд	4.5	92.2, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2451C06	1.27†	1.2	89.4, нд	SWDAPAG AASYG	12 3	PVS KGT	138	EFFFPAGAGY YHRP	160
2451D05	нд	2.8	115.0, нд	SWDAPAG AYG	12 4	PVS KGT	138	EFDFFPGSGY YHRP	155
2451F03	нд	2.8	113.2, нд	SWDPPAE GYG	12 5	PVS KGT	138	EFDFFPGSGY YHRP	161

2451G01	нд	3.8	90.8, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PSS KGT	136	EFDFFPGSGY YHRP	155
2451H07 (2)	2.08†	0.2	88.8, нд	SWNPPDV NYG	12 6	PVS KGT	138	EYPYAHAGY YHRP	162
2382E03	2.94†	2.4	89.5, нд	SWDAPAG DGYG	10 8	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382E04	нд	3	61.5, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFTFFPGAGY YHRP	149
2382E05	0.604†	2.8	103.5, нд	SWDAPAE GGYG	12 7	PVS KGT	138	EFDFFPGAGY YHRP	156
2382E09	нд	6.2	97.2, нд	SWDAPAE AYG	11 8	PVS KGT	138	EYDFPFGSGY YHRP	152
2381A04 (1)	нд	3.3	100.1, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYFSGY YHRP	163
2381A08	нд	3.6	91.4, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PGS KGT	21	EYDFPFGAGY YHRP	151
2381B10	нд	7.3	96.4, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EYNFIGAGY YHRP	164
2381C08	нд	0.7	15.3, нд	SWDAPAD GAYG	11 1	PVS KGT	138	EFYPPFAGY YHRP	165
2381G06 (3)	нд	9	57.7, нд	SWSEKLD GKARRG	12 8	PGS KGT	21	EFYDHSY YHRP	147
2381H01 (3)	нд	4	22.2, нд	SWSPRDS TGLVRRG	12 9	PGS KGT	21	EYPYDHSY YHRP	146
2381H06 (4)	нд	5	53.4, нд	SWGDVRT NEARQG	13 0	PGS KGT	21	EYTYEHSY YHRP	166
2381H09	3.23†	3.4	94.4, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFDVFGAGY YHRP	167
2382B11	нд	2.9	88.8, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EYDFAGSGY YHRP	168
2382B08	нд	2.9	107.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PSS KGT	136	EFAPFGAGY YHRP	169
2382C11	нд	3.7	82.9, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PVS KGT	138	EYDFAGSGY YHRP	168
2382G03	нд	2.7	77.8, нд	SWDAPAE AEAYG	13 1	PVS KGT	138	EYVPPGAGY YHRP	170
2382H03	0.677†	3.4	102.1, нд	SWDAPAE GAYG	13 2	PVS KGT	138	EYPYPPFAGY YHRP	171
2451A10 (5)	нд	10. 9	53.7, нд	SWQPPAV TYG	13 3	PVY KGT	140	EYPYDHSY YHRP	146
2451B02	нд	5.3	71.4, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EFDYPPGSGY YHRP	153
2451C11 (6)	нд	9.7	70.3, нд	SWDPPAG AYG	13 4	PGY KGT	141	EYPYDHSY YHRP	146
2451H01	нд	2.8	95.8, нд	SWDAPAA GYG	12 2	PVS KGT	138	EYDFPFGSGY YHRP	152
2011B11	нд	1.7	144.5, нд	SWAPPSD AYG	13 5	PIG KGT	25	EYPYSHAGY YHRP	172
2971A03	0.806†	нд	120.1, нд	SWDPPSD DYG	30 1	PIG KGT	25	EFFWPHAGY YHRP	37
2971A09	2.79†	нд	132.3, нд	SWDAPAD DYG	30 2	PIG KGT	25	EFFWPHAGY YHRP	37
2971E02	1.78†	нд	126.2, нд	SWDAPSD DYG	30 3	PIG KGT	25	EFFWPHAGY YHRP	37

† K_D определены с использованием Octet Red при 37°C;

* K_D определены с использованием ProteOn при 25°C;

^ K_D определены с использованием ИТС при 37°C;

(1) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутации V45L и E47Q;

(2) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутации V11, S2T и V45L;

(3) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутацию E47Q;

- (4) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутации V45L и E47G;
 (5) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутации S2T, L8M, P44T, V45L и E47Q;
 (6) В дополнение к мутациям в петлях, данные клоны также содержат мутации V1I, S2V, V45K и E47Q.

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

Таблица 4

Семейство аднектинов анти-PCSK9

Клон	Последовательность	
	Аминокислотная	Нуклеотидная
1459D05 также обозначенный как АТИ000891 или АТИ-891	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWPPP SHGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPPKGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYPK HSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:39)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGCCGCGCGCTCATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCGCTGGTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACAACATTCCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:40)
1784F03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWRPIHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPIVEGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:41)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGGCGCGGATTTCATGCTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGTTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:42)
1784F03- m1	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWDAPAHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPGSEGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:43)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGATTCATGCTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:44)
1784F03- m2	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWDAPAHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPGSKGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:45)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTCATGCTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:46)
1784F03- m3	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWDAPAVTYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPGSKSTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:47)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTTACTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAATCTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:48)
1813E02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLI SWSPANGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPGVGRGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEYTYK GSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:49)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGTCCACCAGGCTAACGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTGGTAGAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTATACCTACAAGGCTCTGGTTACTACCATCGC CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:50)

1923B02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWTPPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYTYN GAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:51)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACAGTACAAACGGTCCCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:52)
1923B02(N82I)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWTPPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYTYI GAGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:53)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACAGTACAAACGGTCCCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:54)
1923B02(N82E)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWTPPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYTYE GAGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:55)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACAGTACAAACGGTCCCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:56)
1923B02(T80A)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWTPPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYAYN GAGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:57)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACAGTACAAACGGTCCCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:58)
1922G04 также обозначенный здесь как АТI001057 или АТI-1057	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWRPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYPKW GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:59)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGCCCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:60)
1922G04(R25D)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYPKW GSGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:61)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:62)
1922G04(R25E)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWEPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYPKW GSGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:63)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAACCCGCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:64)
1922G04(R25S)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWSPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPIGKTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEYPKW GSGYYHRPISINRYTSGSHHH HHH (SEQ ID NO:65)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGCCCGCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:66)
2012A04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWRPPSNHGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVNEGTAT ISGLKPGVDYTITVYAVEFPFK WSGYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:67)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGCGCCCCCTCAATGGTCACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTAATGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCCTCAAGTGGTCCGGCTACTACCATCGA CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:68)

2013E01 также обозначенный как АТИ001081 или АТИ-1081	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWVPPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFPWP HAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:69)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGTCCCGCCTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:70)
2011H05 также обозначенный как АТИ001091 или АТИ-1091	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWVPPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVTVVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:71)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGTCCCGCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:72)
2011H05(V23D)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVTVVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:73)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:74)
2011H05(V23E)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWEPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVTVVGVGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:75)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:76)
2381B02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWEPFSRPLPGGGEYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY PYDYSGYHRPISINRYTEIDK PSQHHHHHH (SEQ ID NO:173)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGCGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACGACTATTCTGGTTAC TACCATCGCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:174)
2381B04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWEPFSRPLPGGGEYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY PYEHSYHRPISINRYTEIDK PSQHHHHHH (SEQ ID NO:175)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGCGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACGAGCATTTCTGGGTAC TATCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:176)
2381B06	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWEPFSRPLPGGGEYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY PYPHSGYHRPISINRYTEIDK PSQHHHHHH (SEQ ID NO:177)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGCGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACCCGATTTCTGGTTAC TACCATCGACCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:178)
2381B08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADCCYGYRIT YGETGGNSPVQEFVTPSSKGT TISGLKPGVDYITIVYAVEYTF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHHH (SEQ ID NO:179)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCACCTCCGACGCTCCCGCTCATGCGCGTACCGTTATTACCGCATCACTTACCCCGAAACAGCAGC CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACACCTTCCCGGGCGCGGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:180)
2381D02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWEPFSRPLPGGGEYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY PYDHSYHRPISINRYTEIDK PSQHHHHHH (SEQ ID NO:181)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGCGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACGACCATTTCTGGTTAC TACCATCGTCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:182)

2381D04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWEPFSRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEF PYDHSGYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:183)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATCCCGTACGACCATCTGGTTAC TACCATCGGCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:184)
2381F11	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVTVVSKSTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYTF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:185)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCTCCGGCTGACGGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAAGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCCACCAC (SEQ ID NO:186)
2381G03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWEPFSRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEF PYAHSYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:187)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATCCCGTACGCGCATCTGGTTAC TACCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:188)
2381G09	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWDAPAGDGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVTVVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYTF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:189)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCTCCGGCTGGGACGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCGTTTCTAAAAGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATCACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCCACCAC (SEQ ID NO:190)
2381H03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWEPFSRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY PYAHSYFHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:191)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACGCGCATCTGGTTAC TTCCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:192)
2382A01	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLIISWAAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVTVVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYDF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:193)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCCGCTCCGGCTGGTGGTGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAAGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCCACCAC (SEQ ID NO:194)

2382B10	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYDFP GSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:195)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATAAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGACTTCCCGGCGAGCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:196)
2382B09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDYP GSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:197)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:198)
2382C05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADGAYGYRIT YGETGGNSPVQEFVPSKGTAT TISGLKPGVDYITIVYAVEYSF PGAGYYHRPISINYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:199)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGGTCATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCCTTCCCGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:200)
2382C09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPAEYGYRITY GETGGNSPVQEFVPSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDFP GSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:201)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:202)
2382D03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADEAYGYRIT YGETGGNSPVQEFVPSKGTAT TISGLKPGVDYITIVYAVEFDF PGAGYYHRPISINYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:203)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGAGGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAAC CTGGTGTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:204)
2382D05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVPSKGTAT TISGLKPGVDYITIVYAVEFDF PGAGYYHRPISINYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:206)
2382D08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPADGYGYRITY GETGGNSPVQEFVPSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDFP GSGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:207)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCCTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:208)
2382D09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPAEYGYRITY GETGGNSPVQEFVPSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDFP GAGYYHRPISINYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:209)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:210)
2382F02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLIISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVPSKGTAT TISGLKPGVDYITIVYAVEFDF PGSGYYHRPISINYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:211)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGCGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:212)

2382F03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAADAYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEFNF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:213)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:214)
2382F05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAGKHYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEF DFPGAGYYHRPISINRYTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:215)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGGTAAGCACTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTAC TACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCAC CCAC (SEQ ID NO:216)
2382F08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFTYP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:217)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:218)
2382F09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:219)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:220)
2382G04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPSSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:221)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGTGGGGATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:222)
2382H10	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:223)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:224)
2382H11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVFKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDYP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:225)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:226)
2382H04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPSSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:227)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:228)
2382H07	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:229)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCAGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCAGTTCGCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:230)

2382H09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFF GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:231)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGC CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:232)
2451A02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAGYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFPFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:233)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:234)
2451B05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDYP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:235)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGCGGATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:236)
2451B06 (эквивалент 2382D05)	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFITVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGATGGTGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:206)
2451C06	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGAAASYGYRI TYGETGGNSPVQEFITVPVSKGT ATISGLKPGVDYITITVYAVEFP FPAGYYHRPISINRYTEIDKP SQHHHHHH (SEQ ID NO:237)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGCGGAGCGTCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGG AGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTAC CATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC C (SEQ ID NO:238)
2451D05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGAYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFF GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:239)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:240)
2451F03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDPPAEGYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFNFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:241)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCTCCGGTGAAGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:242)
2451G01	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFF GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:243)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:244)
2451H07	MGITDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWNPDPVNYGYRITY GETGGNSPLQEFITVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYPYA HAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:245)	ATGGGTATCAGGATGTGCCGCGAGACTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAACCCGCGGATGTGAATTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGGGAACAGGAGGCAA TAGCCCTTTCAGGAGTTCCTGTGCTGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:246)

2382E03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGDGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:247)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGACGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGACTTCCCGGGCGCCGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:248)
2382E04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFTF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:249)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGTGGTGGATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCACCTTCCCGGGCGCCGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:250)
2382E05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAGYYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:251)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGACTTCCCGGGCGCCGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:252)
2382E09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHSHHH (SEQ ID NO:253)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:254)
2381A04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWEPFSRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPVSKG TATISGLKPGVDYTTITVYAVEY PYPFSGYYHRPISINRYTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:255)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCGCTTACGCGGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACCCGTTTCTGTTTAC TACCATCGTCCCATTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:256)
2381A08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:257)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGACTTCCCGGGCGCCGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:258)

2381B10	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEYNF IGAGYYHRPISINRYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:259)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGTGGATACGGTTATTACCGSATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACAACCTCATCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:260)
2381C08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADGAYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFPY FFAGYYHRPISINRYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:261)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGTCCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCCTTACCCCTCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:262)
2381G06	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWSEKLDGKARRGYR ITYGETGGNSPVQFTVPVSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEF PYDHSYYHRPISINRYRTEIDK PSQHFFFFFF (SEQ ID NO:263)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGTCCGAGAAGTTGGACGGGAAGCGCGCCGGGTTATTACCGCATCACATACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCCTTACCGTACGACCATTCTGGTTAC TACCATCGTCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:264)
2381H01	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWSPRDSTGLVRRGY RITYGETGGNSPVQFTVPVSK GTATISGLKPGVDYITITVYAVE YPYDHSYYHRPISINRYRTEID KPSQHFFFFFF (SEQ ID NO:265)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGCCCGGGACTCCACCGGCTGGTGGGCGGGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGA AACAGGAGCAATAGCCCTGTTACAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCG GCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACGACCATTCTGGT TACTACCATCGGCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCAC CCACCAC (SEQ ID NO:266)
2381H06	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWGDVTRNEARQGYR ITYGETGGNSPLQFTVPVSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEY TYEHSYYHRPISINRYRTEIDK PSQHFFFFFF (SEQ ID NO:267)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGACGCTCCGGACGAACAGGCGCGCAGGGCTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTCCAGGGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTATACGTACGAGCATTCTGGTTAC TACCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:268)
2381H09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF VGAGYYHRPISINRYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:269)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCGTCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:270)
2382B11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYDFA GSGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:271)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGACTTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:272)
2382B08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSSKGAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFAFP GAGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:273)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGCGAATTCGCTTCCCGGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:274)
2382C11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYDFA GSGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:275)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGAGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGACTTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:276)

2382G03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAEAYGYRIT TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGT ATISGLKPGVDYITIVYAVEYV FPGAGYYHRPISINYRTEIDKP SQHHHHH (SEQ ID NO:277)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGAAGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGG AGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGCTTCCCCGGCGCCGTTACTAC CATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCA C (SEQ ID NO:278)
2382H03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAEAGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYPY PFAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:279)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCCTACCCCTCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:280)
2451A10	MGVTDVPRDMEVVAAT PTSLLIISWQPPAVTYGYRITY GETGGNSTLQQFTVPVYKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYPYD HSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:281)	ATGGGTGTCACCGATGTGCCGCGACATGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGCAGCCGCGGCTGTTACTTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCACTCTCCAGCAGTTCAGTGTGCCTGTTTATAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACGACCATTCTGGTACTACCATCGG CCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:282)
2451B02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFDYP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:283)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCTGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:284)
2451C11	MGIVDPRDLEVVAAT PTSLLIISWDPPAGAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVYKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYPYD HSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:285)	ATGGGTATCGTGGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCGGCTGGTGTCTTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCAAGCAGCAGTTCAGTGTGCCTGTTATAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACGACCATTCTGGTACTACCATCGG CCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:286)
2451H01	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPAAAGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYDFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:287)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACGACTTCCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:288)
2011B11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWAPPSDAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVIGKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYPYS HAGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:289)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGCCGCTTCTGATGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTATTACATGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:290)
2971A03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDPPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVIGKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFPWP HAGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:304)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCTTCCGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:305)
2971A09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPADDYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVIGKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFPWP HAGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHH (SEQ ID NO:306)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCGCTGCGGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:307)

2971E02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLIISWDAPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYITVYAVEFPWP HAGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:308)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCGCCTTCGGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:309)
---------	--	---

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

Таблица 5

Семейство анти-PCSK9 аднектинов, мутантных по остатку цистеина для последующего пэгилирования

АТИ# / Клон# [Описание]	Последовательность	
	Аминокислотная	Нуклеотидная
АТИ001170 [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIDKPCQ (SEQ ID NO:78)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATGCCAGTG (SEQ ID NO:79)
АТИ001172 [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEGSGC (SEQ ID NO:80)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGAACAGAAAGTAGCGGTTGCTG (SEQ ID NO:81)
АТИ001174* [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys] также обозначенный как АТИ-1174	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIEKPCQ (SEQ ID NO:82)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATGCCAGTG (SEQ ID NO:83)
АТИ001114* [2013E01] му- тант по Cys] также обозначенный как АТИ-1114	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHHH (SEQ ID NO:84)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:85)
АТИ000959* [1459D05 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWVPPSHGYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PPGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYYPKHSGYYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:86)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGCGCGCGCTCATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCTGGTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTACAAACATCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:87)
АТИ001063* [1784F03 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLIISWRPPIHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIVEGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYTFKHSGYYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:88)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGAGCCCGGATTCATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTATTGTTGAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:89)

AT1001119* [2012A04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWR} PPSNHGY YRITYGETGNSPVQEFTV PVNEG ^{TATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^{FPFK} WGSYYHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:90)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCGGCCCCCTCTAATGGTCACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTGTTAATGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCCCCTTCAAGTGGTCGGGCTACTACCATCGACCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:91)
AT1001117* [2011H05 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWVP} SSHAYGY YRITYGETGNSPVQEFTV PVG ^{VGTATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^{YAF} EAGAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:92)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTTC ^{CGT} CGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:93)
AT1001194* [2011H05(V23D) мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWDP} SSHAYGY YRITYGETGNSPVQEFTV PVG ^{VGTATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^{YAF} EAGAGYYHRP ISINYRTEGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:94)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACCCGTC ^{GT} CTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:95)
2011H05 (V23E)-мутант по Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWEP} SSHAYGY YRITYGETGNSPVQEFTV PVG ^{VGTATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^{YAF} EAGAGYYHRP ISINYRTEGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:96)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGAACCGTC ^{GT} CTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:97)
AT1001112 [1923B02 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWT} PPPKGYGY YRITYGETGNSPVQEFTV PVGEG ^{TATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^{YTYN} GAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:98)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGACGCTCC ^{CCCT} AAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACAGTACAACGGTGC ^{CGT} TACTACCACCGGCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:99)
AT1001110 [1922G04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI ^{SWR} PPSNHAYGY YRITYGETGNSPVQEFTV PIG ^{KGTATIS} GLKPGVDYT ITVYAVE ^Y PWKSGYYHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:100)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCGCGCCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCAC ^T GTGCCTATTGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:101)

AT1001128 [1922G04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWRPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYFPWKGSGYYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:102)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACCGCCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCCACCACCACCACCAC (SEQ ID NO:103)
AT1001184 * [1922G04(R23E) мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWRPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYFPWKGSGYYHRP ISINYRTEGSGCHNNHH (SEQ ID NO:104)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACCGCCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:105)
2381D04- Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWEPFSRLPGG GEYRITYGETGGNSPLQQ FTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPYDHSYY HRPISINYRTGSGCHNNHH H (SEQ ID NO:291)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGAGCGCTTCAGCCGGTTGCCGGGGGGCGGCGAGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAG GCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCT GGCGTTGATATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATTCGCCAGCACCATTTCTGGTTACTACCATCGGCC CATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:292)
2382D09- Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWDAPAEYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVS KGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDFFGAGYYHRP ISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:293)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:294)
2451B06- Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWDAPADGGYG YYRITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFFGAGYYHR PISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:295)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATA GCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCC CATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:296)
2382E05- Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWDAPAEYGY YYRITYGETGGNSPVQEFT VPVSKGTATISGLKPGVDY TITVYAVEFDFFGAGYYHR PISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:297)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATA GCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCC CATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:298)
2382B09- Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVS KGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDYPGSGYYHRP ISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:299)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAATTCGACTACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:300)

* Примечание. Некоторые перечисленные белки не были пэгиллированы, но являются подходящими для пэгиллирования за счет присутствия мутантного остатка цистеина. Белки, которые были пэгиллированы, отмечены звездочкой.

Технология слитой нуклеотидной и белковой последовательностей.

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

шей данный белок. Подробная информация о технологии слитой нуклеотидной и белковой последовательностей и методах скрининга библиотек белков на основе структурного части фибронектина приведена в Szostak et al., U.S. патент № 6258558, 6261804, 6214553, 6281344, 6207446, 6518018 и 6818418; и Roberts et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 94:12297-12302 (1997) и включена в данную заявку посредством ссылки.

Векторы и полинуклеотидные варианты исполнения.

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

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

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

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

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

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

Вектора для экспрессии и клонирования могут содержать селективные гены, также называемые генами селективных маркеров. Типичные гены селективных маркеров кодируют белки, которые а) обеспечивают устойчивость к антибиотикам и другим токсинам, например ампициллин, неомицин, метотрексат, трациклин; б) восстанавливают дефект ауксотрофных генов; в) обеспечивают синтез необходимых питательных веществ, недоступных из среды культивирования, например, ген, кодирующий

D-аланин рацемазу для бактерий *Bacilli*.

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

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

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

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

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

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

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

Подходящими клетками-хозяевами являются клетки прокариот, дрожжей, млекопитающих или бактерий. Подходящими бактериями являются грам-положительные или грам-отрицательные организмы,

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

Продукция белка.

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

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

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

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

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

Для получения анти-PCSK9 аднектина был использован платформенный метод производства. Анти-PCSK9 аднектин нарабатывается в клетках *Escherichia coli* (*E.coli*). Клетки *E.coli* штамма BLR (DE3) были трансформированы экспрессионным вектором (pET9d/ATI001173), кодирующим белок, накапливающийся внутри клетки в растворимой форме. Клетки данного рекомбинантного штамма культивируются при перемешивании в баке ферментера. По окончании процесса ферментации клетки собираются, лизируются, после чего лизат осветляется для дальнейшего процесса очистки. ATI001173 представляет собой

вариант АТ1001114 без His-тэга. Очищенный анти-PCSK9 аднектин конъюгируется с разветвленным метоксилПЭГом массой 40 кДа с использованием малеинимидного линкера. Конъюгированный белок подвергается повторной очистке для удаления несвязанных ПЭГ и анти-PCSK9 аднектина, а также примесей. Контроль качества осуществляется с нерасфасованным лекарственным веществом.

Терапевтические применения *in vivo*.

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

Лекарственная форма и введение.

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

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

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

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

Для терапевтических применений анти-PCSK9 аднектин или слитые белки, содержащие анти-PCSK9 аднектин, вводятся субъекту фармацевтически приемлемым путем. Он может быть введен внутривенно в виде болуса или путем продолжительной инфузии в течение определенного периода времени, или подкожно. Подходящие фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества и разбавители хорошо известны и могут быть определены специалистами в данной сфере на основании клинической ситуации. Примеры подходящих носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ включают (1) Фосфатно-солевой раствор Дульбекко; (2) 0.9% солевой раствор (0.9% w/v NaCl); и (3) 5% (w/v) декстроза.

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

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

В случае водной лекарственной формы скорее, чем в случае лиофилизованной формы, белок, как правило, будет находиться в концентрации от 0,1 до 100 мг/мл. Однако допустимы вариации в широких пределах от указанного диапазона. При лечении заболевания соответствующая дозировка анти-PCSK9 аднектина или слитых с анти-PCSK9 аднектином белков будет зависеть от типа, тяжести и степени про-

гресса заболевания, по отношению к которому проводится лечение, от курса предшествующей терапии, истории болезни, ответа организма на белок и решения наблюдающего врача независимо от целей введения (профилактика или другие терапевтические цели). Данный белок применим для введения пациенту однократно или для серии введений.

Слитые аднектины, связывающие сывороточный альбумин (SABA).

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

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

В определенных вариантах исполнения время полужизни в плазме анти-PCSK9 аднектина слитого с SABA повышается по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 аднектина не конъюгированного с SABA. В определенных вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA по меньшей мере на 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 1900, 2000, 2500 или 3000% выше по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 аднектина не конъюгированного с SABA. В других вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA по меньшей мере в 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 15, 17, 20, 22, 25, 27, 30, 35, 40 или 50 раз выше по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 аднектина не конъюгированного с SABA. В некоторых вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 135, 140, 150, 160 или 200 ч.

В определенных вариантах часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывает HSA с K_D менее чем 3, 2.5, 2, 1.5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500, 100, 50 или 10 пМ. В определенных вариантах исполнения часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывает HSA с K_D менее чем 3, 2.5, 2, 1.5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500, 100, 50 или 10 пМ в диапазоне pH 5,5-7,4 при температуре 25 или 37°C. В определенных вариантах исполнения часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывается с HSA более сильно при pH менее 7,4, по сравнению со связыванием при pH 7,4.

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

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

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

В определенных вариантах исполнения часть слитого с SABA белка, связывающая сывороточный альбумин, описанного в данной заявке, способна связывать сывороточный альбумин обезьян, и/или крыс, и/или мышей. В определенных вариантах исполнения часть слитого с SABA белка, связывающая сывороточный альбумин человека (HSA), описанного в данной заявке, способна связывать сывороточный альбумин макаки-резус (RhSA) или сывороточный альбумин яванского макака (CySA) с константой K_D менее чем 3, 2.5, 2, 1.5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500 или 100 пМ.

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

В определенных вариантах исполнения часть слитого белка с SABA, связывающая сывороточный альбумин содержит последовательность, обладающую по меньшей мере 40, 50, 60, 70, 75, 80 или 85%

идентичностью с доменом ¹⁰F_{n3} дикого типа (SEQ ID NO: 1). В одном из вариантов исполнения по меньшей мере одна из петель BC, DE или FG изменена по сравнению с доменом ¹⁰F_{n3} дикого типа. В другом варианте исполнения по меньшей мере две из петель BC, DE или FG изменены по сравнению с доменом ¹⁰F_{n3} дикого типа. В другом варианте исполнения все три петли BC, DE или FG изменены по сравнению с доменом ¹⁰F_{n3} дикого типа. В других вариантах исполнения SABA содержит последовательность, обладающую, по меньшей мере 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичностью по отношению к любой из 26 последовательностей SABA, приведенных в табл. 6 (т.е. SEQ ID NO: 334, 338, 342, 346 и 348-370) или к любой из удлиненных последовательностей SABA, приведенных в табл. 6 (т.е. SEQ ID NO: 420-447, за исключением 6×HIS-тэга).

В определенных вариантах исполнения последовательности связывающих сывороточный альбумин аднектинов на основе структуры домена ¹⁰F_{n3} могут быть в общем виде выражены как

EVVAAT(X)_nSLLI(X)_xYYRITYGE(X)_bQEFTV(X)_yATI(X)_cDYTITVYAV(X)_zIS
INVRT (SEQ ID NO: 328)

В определенных вариантах исполнения последовательности связывающих сывороточный альбумин аднектинов на основе структуры домена ¹⁰F_{n3} могут быть в общем виде выражены как

EVVAATPSSLI(X)_xYYRITYGETGGNSPVQEFTV(X)_yATISGLKPGVDYIT
VYAV(X)_zISINVRT (SEQ ID NO: 329)

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

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

В определенных вариантах исполнения последовательность SABA (например, коровая последова-

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

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

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

Конъюгация/линкеры.

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

В данной заявке описывается ряд подходящих линкеров, удовлетворяющих этим критериям, включающий глицин-сериновые линкеры, глицин-пролиновые линкеры, а также линкер с аминокислотной последовательностью PSTSTST (SEQ ID NO: 416). Примеры, описанные в данной заявке, демонстрируют, что домены Fn3, соединенные посредством полипептидных линкеров, сохраняют свойства связывания целевой молекулы. В некоторых вариантах исполнения линкером является глицин-сериновый линкер. Данные линкеры содержат остатки глицина и серина и могут быть длиной между 8 и 50, 10 и 30 и 10 и 20 аминокислотных остатков. Примеры включают линкеры с аминокислотной последовательностью (GS)₇ (SEQ ID NO: 403), G(GS)₆ (SEQ ID NO: 398) и G(GS)₇G (SEQ ID NO: 400).

Другие линкеры содержат глутаминовую кислоту и включают, например последовательности (GSE)₅ (SEQ ID NO: 405) и GGSE GGSE (SEQ ID NO: 409).

Другие примеры глицин-сериновых линкеров включают (GS)₄ (SEQ ID NO: 402), (GGGS)₇ (SEQ ID NO: 411), (GGGS)₅ (SEQ ID NO: 412)

и (GGGS)₃G (SEQ ID NO: 413).

В некоторых вариантах исполнения линкер является глицин-пролиновым.

Такие линкеры содержат остатки глицина и пролина и могут быть длиной между 3 и 30, 10 и 30, 3 и 20 аминокислотных остатков. Примеры таких линкеров включают линкеры с последовательностями (GP)₃G (SEQ ID NO: 414), (GP)₅G (SEQ ID NO: 415) и GPG. В других вариантах исполнения линкер может быть пролин-аланиновым длиной между 3 и 30, 10 и 30, 3 и 20 аминокислотных остатков. Примеры пролин-аланиновым линкеров включают последовательности (PA)₃ (SEQ ID NO: 417), (PA)₆ (SEQ ID NO: 418) и (PA)₉ (SEQ ID NO: 419).

Настоящим изобретением предполагается, что оптимальная длина и аминокислотный состав линкера могут быть определены с помощью стандартных экспериментов с учетом сведений, приведенных в данной заявке. В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 аднектин соединен с SABA посредством полипептидного линкера, содержащего сайт расщепления протеазы, который может быть расщеплен протеазой в крови или ткани. Такие варианты исполнения могут быть использованы для высвобождения анти-PCSK9 аднектина с целью облегчения доставки, улучшения терапевтических свойств или более эффективной наработки.

Дополнительные линкеры или спейсеры могут быть введены на C-конец домена Fn3 между после-

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

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

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

Сводные данные по последовательностям.

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

Таблица 6

Сводные данные по примерам последовательностей

EQ ID	Название последовательности	Описание	Последовательность
Примеры Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA)			
27	¹⁰ F _{n3} WT коровая последовательность	Коровая последовательность дикого типа домена ¹⁰ F _{n3} человека	EVVAATPPTSLLI ^а SWDAPAVTVRYRITYG ETGGNSPVQ ^б EFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTTITV YAVTGRGDSPASSKPISIN ^в YRT
28	¹⁰ F _{n3} v6	Аналог домена ¹⁰ F _{n3} содержащий 6 переменных петель	EVVAAT (X) _а SLLI (X) _б YRITYGE (X) _в QEFTV (X) _г ATI (X) _д DYTTITVYAV (X) _е ISIN ^в YRT
29	¹⁰ F _{n3} v3	Аналог домена ¹⁰ F _{n3} содержащий 3 переменных петли	EVVAATPPTSLLI (X) _а YRITYGETGGNSP VQEFTV (X) _б ATISGLKPGVDYTTITVYAV (X) _в IS IN ^в YRT
30	SABA1	Коровая последовательность 1 Аднектина	EVVAATPPTSLLI ^а SWHSYEQNSYRITYG ETGGNSPVQ ^б EFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTTITV YAVYGSKYYPISIN ^в YRT
31	SABA1 BC	Коровая последовательность 1 петли BC	HSYEQNS
32	SABA1 DE	Коровая последовательность 1 петли DE	YSQT
33	SABA1F G	Коровая последовательность 1 петли FG	YGSKYYY

34	SABA2	Коровая последовательность 2 Аднектина	EVVAATPTSLLISWPKYDKTGHYYRITYG ETGGNSPVQEFVPTRQTATISGLKPGVDYTTIV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
35	BC	Коровая последовательность 2 петли BC	PKYDKTGH
36	DE	Коровая последовательность 2 петли DE	TRQT
37	G	Коровая последовательность 2 петли FG	SKDDYYPHEHR
38	SABA3	Коровая последовательность 3 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSNDGPGLSYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSSTTATISGLKPGVDYTTIV YAVSYYTKKAYSAGPISINYRT
39	BC	Коровая последовательность 3 петли BC	SNDGPGLS
40	DE	Коровая последовательность 3 петли DE	SSQT
41	G	Коровая последовательность 3 петли FG	SYYTKKAYSAG
42	SABA4	Коровая последовательность 4 Аднектина; содержащая мутации в структурной части (выделены жирным шрифтом); структурно-лучший вариант SABA5	EMVAATPTSLLISWEDDSYYSRYRITYG ETGGNSPVQEFVPSDLYTATISGLKPGVDYTTIV YAVTYDVTDLIMHEPISINYRT

43	BC	SABA4 Коровая последовательность 4 петли BC	EDDSYYSR
44	DE	SABA4 Коровая последовательность 4 петли DE	SDLY
45	G	SABA4F Коровая последовательность 4 петли FG	YDVTDLIMHE
46		SABA5 Коровая последовательность 5 Аднектина; см. описание для SABA4; корректированные остатки выделены жирным	EV VAAATPTSL LISWEDDSYYSRYRITYG ETGGNSPVQEFTVPSDLYTATISGLKPGVDYTTIV YAVTYDVTDLIMHEPISINVRT
47	BC	SABA5 Коровая последовательность 5 петли BC	EDDSYYSR
48	DE	SABA5 Коровая последовательность 5 петли DE	SDLY
49	G	SABA5F Коровая последовательность 5 петли FG	YDVTDLIMHE
50		SABA6 Коровая последовательность 6 Аднектина	EV VAAATPTSL LISWYMDEYDVRYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPNYNTATISGLKPGVDYTTIV YAVTRIKANNMYGPISINVRT
51		SABA7 Коровая последовательность 7 Аднектина	EV VAAATPTSL LISWNHLEHVARYRITYG ETGGNSPVQEFTVPEYPTTATISGLKPGVDYTTIV YAVTITMLKYPTQSPISINVRT
52		SABA8 Коровая последовательность 8 Аднектина	EV VAAATPTSL LISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGLKPGVDYTTIV YAVSKDDYYPHEHRPISINVRT

53	SABA9	Коровая последовательность 9 Аднектина	EVVAATPTSLLISWDASHYERRYRITYG ETGGNSPVQEFVPRYHHTATISGLKPGVDYITV YAVTQAQEHYQPPISINYRT
54	SABA10	Коровая последовательность 10 Аднектина	EVVAATPTSLLISWNSYHSDYYRITYG ETGGNSPVQEFVPPPTTATISGLKPGVDYITV YAVYSAKSYYPISINYRT
55	SABA11	Коровая последовательность 11 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKHGHYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSGNATATISGLKPGVDYITV YAVEDTNDYPHTRPISINYRT
56	SABA12	Коровая последовательность 12 Аднектина	EVVAATPTSLLISWHGEPDQTRYRITYG ETGGNSPVQEFVPPYRRTATISGLKPGVDYITV YAVTSGYTGHYQPISINYRT
57	SABA13	Коровая последовательность 13 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKHGHYYRITYG ETGGNSPVQEFVDPSSYTATISGLKPGVDYITV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
58	SABA14	Коровая последовательность 14 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYEPYTPIHYYRITYG ETGGNSPVQEFVPGYYGTATISGLKPGVDYITV YAVYGYQYTPISINYRT
59	SABA15	Коровая последовательность 15 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKHGHYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSGNATATISGLKPGVDYITV YAVSDDNKYYHQHRPISINYRT
60	SABA16	Коровая последовательность 16 Аднектина	EVVAATPTSLLISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEFVDPSSYTATISGLKPGVDYITV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
61	SABA17	Коровая последовательность 17 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKHGHYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSGNATATISGLKPGVDYITV YAVEDTNDYPHTRPISINYRT
62	SABA18	Коровая последовательность 18 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYEPGASVYYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSYYHTATISGLKPGVDYITV YAVYGYEYEPISINYRT
63	SABA19	Коровая последовательность 19 Аднектина	EVVAATPTSLLISWQSYAHSDYYRITYG ETGGNSPVQEFVPPPQTATISGLKPGVDYITV YAVYAGSSYYPISINYRT

64	SABA20	Коровая последовательность 20 Аднектина	EVVAATPTSLLISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEFVDPSSYTATISGLKPGVDYITV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
65	SABA21	Коровая последовательность 21 Аднектина	EVVAATPTSLLISWPEPGTPVYYYRITYG ETGGNSPVQEFVPAYYGTATISGLKPGVDYITV YAVYGYDYSPISINYRT
66	SABA22	Коровая последовательность 22 Аднектина	EVVAATPTSLLISWRYEKTQHYRITYG ETGGNSPVQEFVPPESGTATISGLKPGVDYITV YAVYAGYEYPHTHRPISINYRT
67	SABA23	Коровая последовательность 23 Аднектина	EVVAATPTSLLISWVKSEYYRYRITYG ETGGNSPVQEFVPHYVHTATISGLKPGVDYITV YAVTEYYYAGAVVSPISINYRT
68	SABA24	Коровая последовательность 24 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYDPYTYGSYYRITYG ETGGNSPVQEFVGPYTTTATISGLKPGVDYITV YAVSYYSTQPISINYRT
69	SABA25	Коровая последовательность 25 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSNDGPGLSYYRITYG ETGGNSPVQEFVPSQTTATISGLKPGVDYITV YAVSYTCKAYSAGPISINYRT
70	SABA26	Коровая последовательность 26 Аднектина	EVVAATPTSLLISWDPYKPDYYRITYG ETGGNSPVQEFVPRDYTTATISGLKPGVDYITV YAVSYGYYPISINYRT
Примеры последовательностей N-концевых удлинений Аднектинов			
71	AdNT1	Пример лидерной последовательности	MGVSDVPRDL
72	AdNT2	Пример лидерной последовательности	GVSDVPRDL
73	AdNT3	Пример лидерной последовательности	VSDVPRDL
74	AdNT4	Пример лидерной последовательности	SDVPRDL

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

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

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

14	L19	(GP) ₃ G	GPGPGPG
15	L20	(GP) ₅ G	GPGPGPGPGPG
16	L21	P(ST) ₃	PSTSTST
17	L22	(PA) ₃	PAPAPA
18	L23	(PA) ₆	PAPAPAPAPAPA
19	L24	(PA) ₉	PAPAPAPAPAPAPAPAPA
Примеры удлинений коровых последовательностей Аднектинов			
20	1	SABA1. Коровая последовательность I Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYE</u> QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTATISGL KPGVDYTTVYAVYGSKYYPISINYRTE <u>EIDKPSQ</u> HHHHH
21	2	SABA1. Коровая последовательность I Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT8	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYE</u> QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTATISGL KPGVDYTTVYAVYGSKYYPISINYRTE <u>EIEDEDE</u> <u>DEDED</u>
22	3	SABA1. Коровая последовательность I Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT9 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYE</u> QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTATISGL KPGVDYTTVYAVYGSKYYPISINYRTE <u>EIEDEDE</u> <u>DEDEDHHHHH</u>

23	1	SABA2. Коровая последовательность 2 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLISWPKYDK</u> TGHYYRITYGETGGNSPVQEFTVPTRQTATISGL KPGVDYTTVYAVSKDDYYPHEHRPISINYTEID <u>KPSQHNNHHNN</u>
24	1	SABA3. Коровая последовательность 3 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLISWSNDGP</u> GLSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSQTATISGL KPGVDYTTVYAVSYTKKAYSAGPISINYTEID <u>KPSQHNNHHNN</u>
25	1	SABA4. Коровая последовательность 4 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEMVAATPTSLLISWEDDSY</u> YSRYRITYGETGGNSPVQEFTVPSDLYTATISGL KPGVDYTTVYAVTYDVTDLIMHEPISINYTEID <u>KPSQHNNHHNN</u>
26	1	SABA5. Коровая последовательность 5 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLISWEDDSY</u> YSRYRITYGETGGNSPVQEFTVPSDLYTATISGL KPGVDYTTVYAVTYDVTDLIMHEPISINYTEID <u>KPSQHNNHHNN</u>

27	1	SABA6. Коровая последовательность 6 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWY</u> MDEY DVRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPNYNTATISGL KPGVDYTTVYAVTRIKANNMYGPIISINYTEID <u>KPSQHNNHHH</u>
28	1	SABA7. Коровая последовательность 7 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWNH</u> LEH VARYRITYGETGGNSPVQEFTVPEYPTTATISGL KPGVDYTTVYAVTITMLKYPTQSPISINYTEID <u>KPSQHNNHHH</u>
29	1	SABA8. Коровая последовательность 8 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGH</u> YRR SGHYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTTVYAVSKDDYYPHEHRPISINYTEID <u>KPSQHNNHHH</u>
30	1	SABA9. Коровая последовательность 9 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDASH</u> Y ERRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPRYHHTATISGL KPGVDYTTVYAVTQAQEHYQPPISINYTEIDKP <u>SQHNNHHH</u>

31	.1	SABA10 Коровая последовательность 10 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWNSYYH</u> SADYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYPPTTATISGL KPGVDYTTVYAVYSAKSYYPISINYRTE <u>IIDKPSQ</u> HHHHHH
32	.1	SABA11 Коровая последовательность 11 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATISGL KPGVDYTTVYAVEDTNDYPHTHRPISINYRTE <u>IID</u> <u>KPSQHNNHHH</u>
33	.1	SABA12 Коровая последовательность 12 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHGEPD</u> QTRYRITYGETGGNSPVQEFTVPPYRRTATISGL KPGVDYTTVYAVTSGYTGHYQPISINYRTE <u>IIDKP</u> <u>SQHNNHHH</u>
34	.1	SABA13 Коровая последовательность 13 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTTVYAVSKDDYYPHEHRPISINYRTE <u>IID</u> <u>KPSQHNNHHH</u>

35	.1	SABA14	Коровая последовательность 14 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYEPYT</u> PIHYYRITYGETGGNSPVQEFTVPGYYGTATISGL KPGVDYTTIVYAVYGYQYTPISINRYRTEID <u>KPSQ</u> HHHHHH
36	.1	SABA15	Коровая последовательность 15 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGHYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATISGL KPGVDYTTIVYAVSDDNKYYHQHRPISINRYRTEID <u>KPSQ</u> HHHHHH
37	.1	SABA16	Коровая последовательность 16 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGHYRR</u> SGHYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTTIVYAVSKDDYYPHEHRPISINRYRTEID <u>KPSQ</u> HHHHHH
38	.1	SABA17	Коровая последовательность 17 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGHYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATISGL KPGVDYTTIVYAVEDTNDYPHTHRPISINRYRTEID <u>KPSQ</u> HHHHHH

39	.1	SABA18	Коровая последовательность 18 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYEPGA</u> SVYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSYHTATISGL KPGVDYTTVYAVYGYEYEPISINRYTE <u>EIDKPSQ</u> HHHHHH
40	.1	SABA19	Коровая последовательность 19 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWQSYA</u> HSDYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYPPQTATISGL KPGVDYTTVYAVYAGSSYPISINRYTE <u>EIDKPSQ</u> HHHHHH
41	.1	SABA20	Коровая последовательность 20 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGHYRR</u> SGHYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTTVYAVSKDDYYPHEHRPISINRYTE <u>EID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH
42	.1	SABA21	Коровая последовательность 21 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPEPGT</u> PVYYRITYGETGGNSPVQEFTVPAYYGTATISGL KPGVDYTTVYAVYGYDYSPISINRYTE <u>EIDKPSQ</u> HHHHHH

43	.1	SABA22	Коровая последовательность 22 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRYEK</u> TQHYYRITYGETGGNSPVQEFTVPPESGTATISGL KPGVDYTTIVYAVYAGYEYPHTRPISINRYRTEID <u>KPSQHHHHHH</u>
44	.1	SABA23	Коровая последовательность 23 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWKSEE</u> YYRYRITYGETGGNSPVQEFTVPYYVHTATISGL KPGVDYTTIVYAVTEYYYAGAVVSVPI SINRYRTEI <u>DKPSQHHHHHH</u>
45	.1	SABA24	Коровая последовательность 24 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWYDPYT</u> YGSYYRITYGETGGNSPVQEFTVGPYTTTATISGL KPGVDYTTIVYAVSYYYSTQPI SINRYRTEIDKPSQ HHHHHH
46	.1	SABA25	Коровая последовательность 25 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSNDGP</u> GLSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSQTATISGL KPGVDYTTIVYAVSYYYTKKAYSAGPI SINRYRTEID <u>KPSQHHHHHH</u>
47	.1	SABA26	Коровая последовательность 26 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPYY</u> KPDYRITYGETGGNSPVQEFTVPRDYTTATISGL KPGVDYTTIVYAVSYYYGYPI SINRYRTEIDKPSQ HHHHHH

Примеры

Пример 1. Материалы и методы использованные для данного изобретения.

Технология высокопроизводительной наработки белка (HTPP).

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

Клетки осадков (в 24-луночном планшете) были лизированы путем добавления 450 мкл Лизирующего буфера (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM Имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 30 мкг/мл ДНКазы, 2 мкг/мл апротонина, pH 8.0) и перемешивания при комнатной температуре в течение 1-3 ч. Лизаты осветляли и переводили в 9-луночный формат путем фильтрования при повышенном давлении через 96-луночный фильтр Whatman GF/D UNIFILTER® с 96-ти луночным планшетом для сбора объемом

1,2 мл. Осветленные лизаты переносили в 96-луночный планшет с Ni-хелатирующей смолой, уравновешенной буфером: 50 mM NaH₂PO₄, 0.5 M NaCl, 40 mM имидазола, pH 8.0, и инкубировали в течение 5 мин. Не связавшиеся вещества удаляли под вакуумом. Смолу дважды по 0,3 мл/лунку промывали отмывочным буфером № 1 (50 mM NaH₂PO₄, 0.5 M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM имидазола, pH 8.0) под действием вакуума. До элюции в каждую лунку вносили 50 мкл элюирующего буфера (PBS+20 mM ЭДТА), инкубировали в течение 5 мин и удаляли при помощи вакуума. Белок элюировали добавляя дополнительные 100 мкл элюирующего буфера в каждую лунку. После 30 мин инкубации при комнатной температуре планшет(ы) центрифугировали в течение 5 мин при 200g, при этом элюируемый белок собирали с помощью 96-луночного планшета для сбора, содержащего по 5 мкл 0,5 M MgCl₂ на дне лунок. Количество элюированного белка измеряли с помощью стандартного ВСА-анализа с использованием SGE в качестве стандарта.

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

Для экспрессии последовательностей клонов, продуцирующих нерастворимые белки, последовательности клона(ов) с 6His-тэгом на конце клонируют в вектор pET9d (EMD Bioscience, San Diego, CA) и экспрессируют в клетках E.coli штамма HMS174. Для этого в 1 л среды LB, содержащей 50 мкг/мл карбенцилина и 34 мкг/мл хлорамфеникола, инокулируют 20 мл культуры клеток (полученной с одной колонии, выращенной рассевом на одной чашке). Культуру инкубируют при 37°C до достижения оптической плотности A₆₀₀ 0,6-1,0. После индукции экспрессии добавлением 1 mM изопропил-β-тиогалактозида (IPTG) культуру инкубируют в течение 4 ч при 30°C и собирают клетки центрифугированием в течение 30 мин при ускорении ≥10,000 g при 4°C. Осадки клеток замораживают при -80°C. Затем клеточные осадки ресуспендируют в 25 мл лизирующего буфера (20 mM NaH₂PO₄, 0.5 M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1 mM PMSF, pH 7.4) используя гомогенизатор ULTRA-TURRAX® (IKA) на льду. Лизирование клеток достигают с помощью высокого давления в гомогенизаторе (≥18,000 psi), используя Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Нерастворимую фракцию отделяют центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23,300 g при 4°C. Полученный осадок отмывают буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4. Затем осадок растворяют в 6,0 M растворе гидрохлорида гуанидина в буфере, содержащем 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4 при обработке ультразвуком и последующей инкубацией при 37°C в течение 1-2 ч. Растворенный осадок фильтруют через фильтры с размером пор 0,45 мкм и наносят на колонку Histrap, предварительно уравновешенную буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/6,0 M гуанидина, pH 7.4. После нанесения, колонку отмывают 25 объемами колонки буфера для уравновешивания. Связавшийся белок элюируют буфером с 50 mM имидазола и содержащем 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/6,0 M гуанидин-хлорида, pH 7.4. Далее проводят рефолдинг очищенного белка путем диализа против буфера с 50 mM ацетата натрия/150 mM NaCl, pH 4,5.

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

Для экспрессии последовательностей клонов, продуцирующих нерастворимые белки, последовательности клона(ов) с 6His-тэгом на конце были клонированы в вектор pET9d (EMD Bioscience, San Diego, CA) и экспрессированы в клетках E.coli штамма HMS174. Для этого в 1 л среды LB, содержащей 50 мкг/мл карбенцилина и 34 мкг/мл хлорамфеникола, инокулировали 20 мл культуры клеток (полученной с одной колонии, выращенной рассевом на одной чашке). Культуру инкубировали при 37°C до достижения оптической плотности A₆₀₀ 0,6-1,0. После индукции экспрессии добавлением 1 mM изопропил-β-тиогалактозида (IPTG) культуру инкубировали в течение 4 ч при 30°C и собирали клетки центрифугированием в течение 30 мин при ≥10,000 g при 4°C. Осадки клеток замораживали при -80°C. Затем клеточные осадки ресуспендировали в 25 мл лизирующего буфера (20 mM NaH₂PO₄, 0.5 M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1 mM PMSF, pH 7.4) используя гомогенизатор ULTRA-TURRAX® (IKA) на льду. Лизирование клеток достигали с помощью высокого давления в гомогенизаторе (≥18,000 psi), используя Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Растворимую фракцию отделяли центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23,300 g при 4°C. Полученный супернатант осветляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Осветленный лизат наносили на колонку Histrap (GE), предварительно уравновешенную буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4. После нанесения, колонку отмывали 25 объемами колонки буфера для уравновешивания, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4, с последующей промывкой 20 объемами буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/25 mM имидазола, pH 7.4, с последующей промывкой 35 объемами буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/40 mM имидазола, pH 7.4. Белок элюировали 15 объемами колонки буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/500 mM имидазола, pH 7.4. Фракции объединяли на основе поглощения при длине волны 280 нм и диализовали против буферов 1× PBS, 50 mM Tris, 150 mM NaCl; pH 8.5 или 50 mM NaOAc; 150 mM NaCl; pH 4.5. Любой осадок удаляли путем фильтрования через фильтр с размером пор 0,22 мкм.

Пример 2. Доклиническая фармакология *in vitro*.

Измерение K_D методом SPR.

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

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

Таблица 7

Кинетические параметры анти-PCSK9 аднектина по отношению к иммобилизованным напрямую PCSK9 человека и яванского макака, определенные с помощью технологии SPR

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

Измерения K_D методом BLI.

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

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

Таблица 8

Кинетические параметры связывания PCSK9 аднектинов
с PCSK9 человека, определенные с помощью метода BLI

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

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

¹ ATI001168 представляет собой деиммунизированный вариант 1922G04 с заменой R23E.

² ATI001175 представляет собой деиммунизированный вариант 1922G04 с заменой R23D.

Аффинность в растворе.
KinExA.

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

Таблица 9
Измерения аффинности аднектинов к PCSK9 в растворе

	АТ10 01081	АТ10 01174
K _D	69.5 пМ	223 пМ
95% доверительный интервал:		
K _d высокая	127 пМ	585 пМ
K _d низкая	28 пМ	54 пМ

ИТС.

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

Таблица 10

Аднектин	Стехиометрия (N)	K _A (M ⁻¹)	K _D (нМ)	ΔH (ккал/моль)	ΔS (кал/моль °C)
АТ1001081	0.926	7.1E8± 2.1E8	1.4 ± 0.4 (±30%)	-26.6 ± 0.2	-45.4
АТ1001174*	0.857	7.5E8± 1.5E8	1.3 ± 0.2	-29.9 ± 0.1	-55.8

Среднее после трех экспериментов.

Анализ на основе флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET).

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

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

Таблица 11

Сводные данные по тестированию аднектинов с помощью 3-х FRET-систем с использованием PCSK9 человека и в одном случае PCSK9 яванского макака

ID клона	hP CSK9: EGFA IC50 (нМ)	hP CSK9: ATI000972 IC50 (нМ)	hP CSK9: ATI001125 IC50 (нМ)	Прямое связывание hPCSK9 EC50 (нМ)	sPCSK9: EGFA IC50 (нМ)
1459D05	4.0	14	nd	3.9	2300
1784F03	2	1.9	nd	1.6	106
1813E02	1.3	2.4	nd	2.3	118
1923B02	2.3	3.2	nd	3.2	53.5
1922G04	1.2	2.0	nd	2.5	26.6
2012A04	2.1	1.2	nd	1.4	70.3
2011H05	2.7	1.4	nd	2.0	17.2
2013E01	1.6	1.8	nd	0.90	12.5
1922G04 (R25D)	2.5	nd	nd	nd	48.1
1922G04 (R25E)	3.5	nd	nd	nd	58.5
2382E03	2.4	nd	0.5	3.7	10.8
2382E05	2.8	nd	0.4	3.8	12.6
2381B08	2.6	nd	1	4.1	27.1
2381B02	2.5	nd	0.5	8.4	9.8
2381B04	2.4	nd	0.5	4.2	17.3
2451H07	0.2	nd	0.2	13.2	27.1
2381D04	2.9	nd	0.5	3.7	12
2381F11	4	nd	0.8	< 1	26.5
2381G09	3.1	nd	1.1	4.5	25.2
2381H09	3.4	nd	0.5	4.1	20.2
2382B09	3.8	nd	0.6	4.0	37.2
2382B10	3	nd	0.5	3.1	18.1
2382C05	4	nd	0.9	3.4	27.2
2382C09	3.5	nd	0.6	2.9	23.9
2382D03	3.3	nd	0.6	3.3	11.8
2382D09	2.6	nd	0.4	3.7	13.9
2382F05	2.4	nd	0.9	3.8	14.6
2382G04	2.9	nd	0.5	3.6	20.1
2382H03	3.4	nd	0.3	3.8	19.8
2382H09	0.9	nd	0.3	3.6	17.9
2382H10	2.6	nd	0.4	4.6	18.2
2382D02	4.5	nd	0.5	5.3	57.8
2451C06	1.2	nd	0.4	5.5	24.7

Анализ ингибирования PCSK9 аднектинами активности PCSK9 с помощью культур клеток.

Анализ поглощения DiI-ЛПНП.

Для анализа способности аднектинов ингибировать активность PCSK9 по отношению к РЛПНП

были разработаны подходы на основе клеточных культур. Эффективными способами измерения клеточной активности РЛПНП являются способы на основе поглощения меченого ЛПНП, как показано Lagace, T.A. et al. (J. Clin. Invest., 116(11):2995-3005 (2006)). В данной работе адаптирован метод оценки функциональной активности РЛПНП с помощью метода поглощения флуоресцентно-меченого ЛПНП (DiI-ЛПНП), перенесенного из метода, оригинально разработанного Teupser et al. (Biochim. Biophys. Acta, 1303(3):193-198 (1996)). На начальном этапе, как показано, клетки инкубируют с рекомбинантным PCSK9 человека (10 мг/мл, 135 нМ) в присутствии и в отсутствие аднектинов. Через 2 ч остаточная активность РЛПНП оценивается с помощью инкубации с DiI-ЛПНП (5 мкг) в течение 2 ч и последующей оценки накопленного внутри клеток DiI-ЛПНП с применением флуоресцентной микроскопии высокого разрешения и последующим анализом изображений (Cellomics). На фиг. 6 показан эффект нескольких аднектинов, ингибирующих активность PCSK9 и восстанавливающих функциональную активность РЛПНП в клетках линии HepG2. В данном анализе аднектины, ингибирующие PCSK9 и восстанавливавшие поглощение DiI-ЛПНП, обладали следующими характеристиками EC₅₀: 1459D05, EC₅₀=190 нМ; 1784F03, 210 нМ; 2012A04, 130 нМ; 2013E01, 160 нМ.

Анализ снижения количества РЛПНП.

Клетки линии HepG2 растили в полной среде Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, ATCC®) с 10% FBS (Hyclone) с обработкой 0,25% трипсина (Invitrogen) дважды в неделю. Для индукции повышения уровня экспрессии рецептора ЛПНП клетки инкубировали в течение ночи в среде LPDS [RPMI (ATCC) с 5% безлипопротеиновой сыворотки (Intracel), 100 нМ superstation (BMS) и 50 мкМ мевалоната натрия (Sigma)]. На следующий день клетки короткое время обрабатывали 0,05% трипсина (Invitrogen) и ресуспендировали в количестве 2×10^6 клеток на мл, а затем отбирали аликвоты по 100 мкл в лунку в 96-луночные планшеты с V-образным дном. Параллельно предварительно инкубировали аднектины с PCSK9 в среде LDPS в течение 1 ч при 37°C. Через час клетки центрифугировали и ресуспендировали в 100 мкл смеси аднектин/PCSK9 и инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день клетки метили антителом против рецептора ЛПНП (BAF 2148 jn R&D) с последующей обработкой вторичными антителами, конъюгированными с фикоэритрин (PE)-стрептавидином (BD554061 от BD Pharmingen) и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canton (BD).

Перед добавлением к клеткам линии HepG2 раствор PCSK9 с концентрацией 10 нМ инкубировали с возрастающей концентрацией кандидатных аднектинов. После инкубации в течение ночи уровень РЛПНП измеряли с помощью проточного цитофлуориметра. Процент ингибирования PCSK9-опосредованного снижения количества РЛПНП отражался на графике, EC₅₀ определяли с помощью PRISM. Клон 1459D05 обладал наименьшей способностью ингибирования (ингибирование не достигало максимума), тогда как другие клоны достигают максимума ингибирования PCSK9 в 150-200% (фиг. 7). Сводные данные по фармакологии PCSK9 аднектина in vitro приведены ниже в табл. 12.

Таблица 12

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

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

Пример 3. Фармакодинамические свойства PCSK9 аднектинов *in vivo*.
Исследования на моделях трансгенных по PCSK9 человека мышей.

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

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

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

Исследования на яванских макаках.

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

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

Клетки линии НЕК-293 6Е были трансфецированы вектором, кодирующим PRD460, с помощью полиэтиленimina (PEI). Клетки инкубировали 5 дней при 37°C, 80% влажности и 5% CO₂. После этого клетки осаждали, супернатант фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наносили на колонку с белком А. Колонку промывали буфером PBS и элюировали белок буфером, содержащим 20 мМ глицина и 150 мМ NaCl pH 2.8. Препарат элюированного белка концентрировали и пропускали через колонку superdex200 в буфере, содержащем 50 мМ MES, 100 мМ NaCl pH 5.8.

Определение K_D PRD460 методом SPR.

Характеристики связывания определялись методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

Антитело против белков человека иммобилизовали на поверхности подложки BIACORE® chip, после чего белок PRD460 (последовательность указана в SEQ ID NO: 322) был помещен на подложку для связывания. Различные концентрации hPCSK9 вносили в промывающий раствор, используя 3М раствор MgCl₂ для регенерации подложки между циклами. Для сравнения, белок ATI-1081 был связан с подложкой BIACORE® chip с иммобилизованными антителами к 6His-тэгу. Эксперименты для PRD460 проводились дважды в разные дни. Определение кинетики проводилось при 25°C. Оценка кинетических параметров проводилась с использованием программного обеспечения BIACORE® Evaluation и алгоритма связывания 1:1.

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

Таблица 13

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

	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (нМ)
PRD460	3.75 +/- 0.7 E+04	1.21 +/- 0.05 E-04	3.29 +/- 0.55
ATI-1081	3.65E+04	2.45E-04	6.7

Анализ связывания PCSK9 на основе FRET.

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

В системе PCSK9:EGFA (при концентрации PCSK9 5 нМ) PRD460 полностью замещал EGFA, связанный с PCSK9, с EC₅₀=0.7 нМ (фиг. 1, слева). В данном формате анализа PRD460 обладал большей активностью, чем ATI-1174 (EC₅₀=1.9 нМ) или ATI-1081 (EC₅₀=3.7 нМ) (фиг. 14). Большая активность PRD460 в данном формате анализа может объясняться бивалентностью связывания аднектина PRD460 с PCSK9 (теоретически) по сравнению с одновалентным (1:1) связыванием у ATI-1081 и ATI-1174.

В системе PCSK9:ATI972 (при концентрации PCSK9 5 нМ) PRD460 ингибировал связывание с EC₅₀=0,3 нМ, по сравнению с 0,8 нМ для ATI-1114 и 2,8 нМ для ATI-1081 (фиг. 15). Эти данные демонстрируют, что PRD460 активно замещает аднектин ATI-972 на его сайтах связывания с PCSK9. Большая активность PRD460 по сравнению с ATI-1081 и ATI-1174 согласуется с бивалентным типом связывания PRD460.

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

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

Серийные разведения PCSK9 аднектинов инкубировались с PCSK9 человека в концентрации 10 нМ в течение 1 ч при 37°C. Затем в смеси вносились клетки линии HepG2 и смеси инкубировались далее в течение 24 ч. После этого уровень РЛПНП на клеточной поверхности клеток линии HepG2 измерялся с помощью проточной цитофлуориметрии. На графике указывался рассчитанный уровень ингибирования снижения представленности РЛПНП, индуцируемого PCSK9 (фиг. 15). По результатам данного анализа ATI-1081, ATI-1174 и PRD460 ингибировали активность PCSK9 со сравнимыми значениями EC₅₀ (9, 8 и 6 нМ соответственно). Однако для PRD460 неоднократно наблюдался сдвиг данной кривой влево. Указанные значения EC₅₀ представляют собой предел измерения для данного анализа.

Анализ PCSK9 клетками линии HepG2.

Связывание PCSK9 с РЛПНП на поверхности гепатоцитов приводит к интернализации комплекса РЛПНП- PCSK9 в ходе эндоцитоза РЛПНП, что приводит к ускоренной деградации РЛПНП. Для измерения опосредованного РЛПНП проникновения внутрь клеток флуоресцентного PCSK9 был разработан специфический анализ. Молекулы PCSK9 человека были ковалентно мечены флуорофором ALEXA FLUOR®-647(AF647). Полученный PCSK9-AF647 инкубировался с клетками линии HepG2 в присутствии и в отсутствие PCSK9-аднектинов, после чего измерялась внутриклеточная флуоресценция с помощью флуоресцентной микроскопии высокого разрешения и анализа изображений (Cellomics). Зависи-

мость поглощения PCSK9-AF647 клетками от эндоцитоза РЛПНП была показана в предварительных экспериментах. Клетки линии HepG2 инкубировались с PCSK9-AF647, в концентрации 10 нМ, и различными количествами аднектинов в течение 4 ч при 37°C. По результатам данного анализа активное ингибирование внутриклеточной флуоресценции PCSK9-AF647 наблюдалось для PRD460 ($EC_{50}=6$ нМ) и для АТИ-1174 ($EC_{50}=10$ нМ) (фиг. 16). Эти данные в культуре линии человеческих гепатоцитов демонстрируют эффективное блокирование аднектинами PRD460 и АТИ-1174 связывания PCSK9 с РЛПНП на клеточной поверхности, что, таким образом, снижает уровень интернализации PCSK9-AF647 при эндоцитозе РЛПНП.

Исследования *in vivo* на трансгенных линиях мышей.

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

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

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

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

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

Немодифицированный аднектин АТИ-1081 также вводился мышам трансгенной линии нормальным уровнем экспрессии hPCSK9 с виде простой подкожной лекарственной формы с пролонгированным высвобождением: смесь 50:50 полипропиленгликоля и PBS, для сравнения с PBS-носителем. Ожидалось, что данная лекарственная форма умеренно снизит скорость абсорбции аднектина и увеличит время экспозиции АТИ-1081 в кровотоке, так образом улучшая фармакодинамику. Введение (внутрибрюшинно) АТИ-1081 в дозировке 1 мг/кг в PBS приводило к снижению несвязанного PCSK9 в плазме на 50% через 3 ч, по сравнению с 85%-м снижением при введении АТИ-1114 в дозировке 0,3 мг/кг (фиг. 21). В ходе

второго эксперимента ATI-1081 вводился трансгенным мышам путем подкожных инъекций с полипропиленгликолевым носителем (PG), что приводило к примерно эквивалентному по сравнению с ATI-1174 снижению несвязанного ЛПНП с увеличенной длительностью данного эффекта на протяжении первых 6 ч исследования (фиг. 22). Эти данные демонстрируют связывание немодифицированного PCSK9 аднектина ATI-1081 с PCSK9 человека *in vivo* и улучшение изначальной фармакодинамики при введении немодифицированного PCSK9 аднектина ATI-1081 подкожно с простым носителем, обеспечивающим пролонгированное время высвобождения. Зависимость эффекта от времени согласовывалась с увеличением времени высвобождения и длительностью эффекта немодифицированного PCSK9 аднектина.

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

Пример 5A. Поиск и селекция кандидатных аднектинов, связывающих сывороточный альбумин.

Обзор.

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

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

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

Осадки клеток (в 24-луночном формате) лизировали ресуспендированием в 450 мкл Лизирующего буфера (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 1x Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободной форме (Roche), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 30 мкг/мл ДНКазы, 2 мкг/мл апротонина, pH 8.0) и последующим перемешиванием при комнатной температуре в течение 1 ч. Лизаты осветляли и анализ переводился в 96-луночный формат путем переноса лизатов на 96-луночный фильтрационный планшет Whatman GF/D UNIFILTER®, совмещенный с планшетом для сбора фильтрата объемом 650 мкл, и последующим центрифугированием в течение 5 мин при ускорении 200 g. Осветленные лизаты переносили на 96-луночный планшет с Ni-хелатирующим сорбентом, предварительно уравновешенный буфером для уравновешивания (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 10 mM CHAPS, 40 mM имидазола, pH 8.0), и инкубировали в течение 5 мин. Несвязавшееся вещество удаляли. Смола отмывалась дважды по 0,3 мл/лунку отмывочным буфером № 1 (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM имидазола, pH 8.0). Затем трижды промывали смолу по 0,3 мл/лунку PBS. Перед элюцией в каждую лунку вносили по 50 мкл Элюирующего буфера (PBS+20 mM ЭДТА). После инкубации в течение 5 мин жидкость удаляли с помощью вакуума. Белок элюировали внесением 100 мкл/лунку Элюирующего буфера. После инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре планшет(ты) центрифугировали в течение 5 мин при ускорении 200 g. Элюированный белок собирали в 96-ти луночный планшет для сбора, содержащий по 5 мкл 0,5 M раствора MgCl_2 на дне лунок. Концентрацию элюированного белка измеряли с помощью метода BCA с использованием в качестве белкового стандарта SGE (контрольный аднектин). SGE аднектин представляет собой $^{10}\text{Fn3}$ домен дикого типа (SEQ ID NO: 1), в котором интегрин-связывающий домен (аминокислотные остатки RGD в положении 78-80) заменен на остатки SGE.

HAS, RhSA и MuSA белки в прямом ИФА.

Для анализа прямого связывания с HSA на планшеты MaxiSorp plates (Nunc International, Rochester, NY) был сорбирован HSA (Sigma, St. Louis, MO) из концентрации 10 мкг/мл в течение ночи при 4°C. После сорбции сайты неспецифического связывания блокировались с помощью инкубации планшетов с казеиновым блокирующим буфером (Thermo Scientific, Rockford, IL) в течение 1-3 ч при комнатной температуре. Для скрининга по одной точке, очищенный с помощью HTTP аднектин разбавляли в соотношении 1:20 в казеиновом блокирующем буфере и вносили в лунки для связывания с HSA. Планшеты инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. При анализе зависимости связывания от концентрации использовали концентрации в диапазоне от 0,1 нМ до 1 мкМ. После инкубации планшеты

отмывали от несвязавшегося аднектина буфером PBST, после чего, для связывания с аднектином с His-тэгом, в лунки вносили конъюгат анти-His моноклональных антител с HRP (R&D Systems, MN) в разведении 1:2500 в казеиновом блокирующем буфере и инкубировали планшеты в течение 1 ч при комнатной температуре. Избыток конъюгата удаляли промыванием PBST и детектировали связывание аднектинов с помощью реактивов, содержащих TMB (BD Biosciences), в соответствии с рекомендациями производителя.

Измерение степени агрегации с помощью гель-фильтрационной хроматографии.

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

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

Идентификация кандидатных аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA).

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

Пример 5B. Продукция и лекарственные формы кандидатных SABA.

Среднемасштабная наработка белков SABA.

Отобранные последовательности SABA, описанные в примере 5A, с 6His-тэгом на конце, были клонированы в вектор pET9d и экспрессированы в клетках E.coli штамма BL21(DE3) pLysS (в табл. 6 приведены последовательности всех SABA с His-тэгом, обозначенные SABA1.1, SABA2.1, SABA3.1 и SABA5.1). 20 мл культуры клеток (полученных с одной колонии рассеянной на чашке) инокулировали в 1 л среды LB с 50 мкг/мл канамицина. Культуру инкубировали до оптической плотности A_{600} 0,6-1,0 при 37°C. После индукции экспрессии внесением изопропил- β -тиогалактозида (IPTG) до концентрации 1 мМ, культуру инкубировали 4 ч при 30°C, после чего собирали клетки центрифугированием в течение 30 мин при ускорении ≥ 10000 g и температуре 4°C. Полученные осадки клеток замораживали при -80°C. Осадки клеток ресуспендировали в 25 мл буфера для лизиса (20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободной форме (Roche), pH 7.4) и лизировали клетки на льду с использованием гомогенизатора ULTRA-TURRAX® (IKA works). Лизис клеток достигался за счет высокого давления при гомогенизации ($\geq 18,000$ psi) при использовании микрофлюидизера Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Растворимую фракцию отделяли центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23300 g и температуре 4°C. Полученный супернатант осветляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Осветленный лизат наносили на колонку HISTRAP® (GE), предварительно уравновешенную буфером, содержащим 20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, pH 7.4. После нанесения колонку промывали 25 объемами колонки буфера 20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, pH 7.4, затем 20 объемами буфера 20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, 25 мМ имидазола pH 7.4, затем 35 объемами 20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, 40 мМ имидазола pH 7.4. белок элюировали в 15 объемах колонки буфером, содержащим 20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, 500 мМ имидазола pH 7.4. Фракции объединяли на основе значений поглощения при A_{280} , после чего диализовали полученные препараты белков против буфера: 1× PBS, 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl pH 8.5 или 50 мМ NaOAc; 150 мМ NaCl; pH 4.5. Выпавший осадок удаляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,22 мкм.

В результате среднемасштабной экспрессии и очистки получали высокоочищенные и активные аднектины, экспрессированные в растворимой форме и очищенные от растворимых фракций бактериального лизата. Анализ с помощью гель-фильтрации на колонках SUPERDEX® 200 или SUPERDEX® 75 10/30GL с подвижной фазой 100 мМ NaPO_4 , 100 мМ NaSO_4 , 150 мМ NaCl, pH 6.8 (GE Healthcare) демонстрировал преимущественное присутствие мономерной формы аднектинов.

Лекарственная форма SABA 1.2.

Определенный SABA, SABA1.2 (SEQ ID NO: 411), был выбран для предварительного подбора лекарственной формы. Последовательность SABA1.2 содержит удлинение (ED)₅ в "коровой последовательности 1" последовательности ¹⁰F_n3 (см. SEQ ID NO: 421 в табл. 6). Для SABA1.2 была определена

стабильная лекарственная форма в виде раствора, содержащего 10 мМ сукциновой кислоты, 8% сорби-тола, 5% глицина и 5 мг/мл белка SABA1.2, pH 6.0. Температура плавления данного белка в такой лекарственной форме составляла 75°C по результатам определения с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) при концентрации белка 1,25 мг/мл. Данная лекарственная формула обеспечила удовлетворительные физическую и химическую стабильность при 4 и 25°C с исходным уровнем агрегации 1,2%. Спустя месяц хранения уровень агрегации был очень низок (1.6% при 4°C и 3.8% при 25°C). Белок в указанной лекарственной форме также оставался стабильным после 4 циклов замораживания-оттаивания при отогревании с -80 и -20°C до комнатной температуры. Также в указанной лекарственной форме SABA1.2 был растворим до концентрации по меньшей мере 20 мг/мл при 4°C и комнатной температуре, без образования осадка или повышения количества агрегатов.

Пример 5С. Определение биофизических характеристик кандидатных SABA.

Гель-фильтрационная хроматография.

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

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

Термостабильность.

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

Таблица 14

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

Клон	Гель-фильтрационная хроматография		ДСК (T_m)
	Мономер (%)	Димер (%)	
SABA1.1	92.3	7.7	63.9 °C
SABA5.1	88	12	70.1 °C
SABA2.1	91	9	58.5/78.2 °C
SABA3.1	99	<пд*	65.2 °C

* пд - предел детекции.

Пример 5D. Характеристика связывания с сывороточным альбумином кандидатного варианта SABA1.

Кинетика связывания выбранных клонов SABA, полученных с помощью технологии НТТР или наработанных в среднемасштабных количествах (описано в примерах 5Аи 5В), была определена с помощью связывания соответствующего сывороточного альбумина (HSA/RhSA/MuSA) на поверхности чипа Biasensor CM5 и пропускания потока растворов с серийными разведениями SABA через ячейку сравнения и ячейку со связанными альбуминами. В дополнение связывание с альбуминами проводилось при различных pH, в диапазоне от 5,5 до 7,4. Аднектины, связывающие HSA, SABA2.1, SABA3.1, SABA4.1 и SABA1.1, обладали кросс-реактивностью по отношению к RhSA, однако не связывались с MuSA. Связывание SABA2 и SABA4 с HSA является pH-чувствительным, тогда как связывание с HSA варианта SABA3 устойчиво к снижению pH вплоть до 6,0. Вариант SABA1.1 удовлетворяет биохимическим кри-

териям по pH-стабильности и аффинности/кинетике при снижении pH до 5,5.

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

Таблица 15

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

Аднектин	Целевой белок	K _D (нМ)	K _{off} (с ⁻¹)	Устойчивость в диапазоне pH 7.4→5.5?	Эпитоп на HSA
SABA2	HSA	33.8 +/- 20.5 (n=6)	1.71E-04	---	Домен I-II
	RhSA	63.6	4.42E-04		
SABA3	HSA	863	6.82E-02	+++ (при снижении до 6.0)	Ни один из конструкторов: домен I-II или домен III (междоменный участок?)
	RhSA	431	3.37E-02		
SABA4	HSA	412 +/- 8 (n=4)	7.82E-04	--	Ни один из конструкторов: домен I-II или домен III (междоменный участок?)
	RhSA	>1000	3.83E-03		
SABA1	HSA	47.2 +/- 18.2 (n=9)	4.57E-04	+++	Домен I-II
	RhSA	778 +/- 313 (n=4)	5.45E-03		

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

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

Определение времени полужизни SABA1-4 у мышей.

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

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

0,28 ч, тогда как совместная инъекция SABA3.1 с HSA приводила к ~2-кратному повышению времени полужизни, которое составляло 0,53 ч (фиг. 24C). Время полужизни в плазме мышей белка SABA4.1 составляло 0,66 ч, тогда как совместная инъекция SABA4.1 с HSA приводила к ~7-кратному повышению времени полужизни, которое составляло 4,6 ч (фиг. 24D). Сводные данные по приведенным примерам приведены на фиг. 25. В табл. 16 сведены сходные данные для вариантов SABA1.1, SABA2.1, SABA3.1 и SABA5.1; по возможности дано сравнение со временем полужизни у яванского макака.

Таблица 16

КЛОН	ПК (T1/2)		Примечания
	Мыши	Яванский макак	
SABA1.1	5.6 ч	96-137 ч	T1/2 = 96-137 ч
SABA5.1	4.6 ч	12 ч	Низкая аффинность связывания с RhSA. При pH<6.0 наблюдается 2-кратное повышение KD
SABA2.1	2.8 ч	НД	Отсутствие связывания при pH<6.5
SABA3.1	32 мин	НД	Малое значение T1/2 наблюдается у мышей

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

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

Таблица 17A

SABA1.1

Обезьяна	t1/2 (ч)	Cmax (мкг/мл)	AUCall (ч*мкг/мл)	Cl_obs (мл/ч/кг)	Vz_obs (мл/кг)
#1	95.8	9.03	673.7	1.45	200.8
#2	136.6	7.24	625.1	1.60	315.2

Таблица 17B

SABA5.1

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

Пример 5F. Характеристики связывания SABA1 с сывороточным альбумином.

SABA1.1 и 1.2 связываются с HSA и RhSA.

SABA1.2 представляет собой "коровую последовательность 1" домена $^{10}\text{Fn3}$, содержащую удлинение $(\text{ED})_5$ (SEQ ID NO: 421 в табл. 6). SABA1.2 связывался с сывороточным альбумином человека (HSA) при нейтральных значениях pH и температуре 25°C со средней константой скорости ассоциации (k_a) $8,21\text{E}+03 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ и средней константой скорости диссоциации (k_d) $4,34\text{E}-04\text{s}^{-1}$, с рассчитанной средней K_D $55,3 \text{ нМ}$ (табл. 18). Для сывороточного альбумина макаки-резус измеренная константа скорости ассоциации составляла $6,6\text{E}+03 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, константа скорости диссоциации составляла $3,78\text{E}-03 \text{ s}^{-1}$, что давало расчетное среднее значение K_D 580 нМ . Измеряемого взаимодействия между SABA1.2 и сывороточными альбуминами мыши или крысы не наблюдалось вплоть до концентрации 1 мкМ (табл. 18 и фиг. 27). При 37°C значения k_a и k_d повышались от 2 до 5 раз, что приводило примерно к 2-кратному росту аффинности к HSA и $1/2$ -кратному росту аффинности к RhSA (табл. 18).

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

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

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

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

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

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

Альбумин	pH	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (нМ)
Человек	7.4	$9,26 \text{ E}+03$	$3,88 \text{ E}-04$	$41,9$
	5.5	$9,44 \text{ E}+03$	$2,70 \text{ E}-04$	$28,6$
Макака-резус	7.4	$6,16 \text{ E}+03$	$2,95 \text{ E}-03$	479
	5.5	$7,57 \text{ E}+03$	$2,72 \text{ E}-03$	359

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

Сайт связывания SABA1.2 на молекуле альбумина был картирован с использованием рекомбинант-

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

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

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

SABA1.2 вводили обезьянам в дозировках 1 и 10 мг/кг внутривенно. Для оценки параметров фармакокинетики применялся некомпартментальный анализ с помощью программного обеспечения WINNONLIN®. Как показано на фиг. 30 и по приведенным ниже параметрам, фармакокинетика SABA1.2 в описанном исследовании имеет дозозависимый характер, что определяется по площади под кривой концентрация-время (AUC). Клиренс (CL) SABA1.2 при 10 мг/кг составлял 0,15 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ($t_{1/2}$) составляла 143 ч, объем распределения (V_z) составлял 30 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 5609 457 ч·нмоль/л (табл. 20). Клиренс (CL) SABA1.2 при 1 мг/кг составлял 0,4 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ($t_{1/2}$) составляла 124 ч, объем распределения (V_z) составлял 72 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 214 636 ч·нмоль/л (табл. 20).

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

Таблица 20

Параметры фармакокинетики для SABA1.2 в исследованиях на обезьянах

Исследование #	1		2	
	1	10	1	1
Доза (мг/кг)	1	10	1	1
Способ введения	i.v.	i.v.	i.v.	s.c.
N	3	3	1	2
CL (мл/ч/кг)	0.4	0.15	0.22	0.32
V_z (мл/кг)	72	30	40	62
AUCall (ч·нмоль/л)	214,636	5,609,457	357,993	251,339
beta T _{1/2} (ч)	124	143	125	134
Биодоступность (F)	н/д	н/д	н/д	0.7

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный полипептид, содержащий десятый домен типа III фибронектина (¹⁰Fn3), слитый с сывороточным альбумином или белком, связывающим сывороточный альбумин, причем последовательность ¹⁰Fn3 имеет петли BC, DE и FG, причем петля BC содержит SEQ ID NO: 112, петля DE содержит SEQ ID NO: 138 и петля FG содержит SEQ ID NO: 156 и причем полипептид связывает пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9).

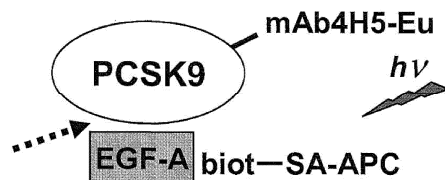
2. Выделенный полипептид по п. 1, причем полипептид связывает PCSK9 с K_D менее чем 10 нМ.

3. Выделенный полипептид по п. 1, причем полипептид дополнительно содержит полиэтиленгликоль.

4. Выделенный полипептид по п.1, причем полипептид дополнительно содержит сиаловую кислоту.
5. Выделенный полипептид по п.1, причем полипептид дополнительно содержит Fc или Fc-фрагмент.
6. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный полипептид по п.1 и фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или стабилизатор.
7. Выделенный полипептид, содержащий десятый домен типа III фибронектина (10 Fn3), слитый с сывороточным альбумином, причем полипептид содержит SEQ ID NO: 209 и причем полипептид связывает пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9).
8. Выделенный полипептид по п.1, причем полипептид связывает PCSK9 с K_D менее чем 10 нМ.
9. Выделенный полипептид по п.7, причем полипептид дополнительно содержит полиэтиленгликоль.
10. Выделенный полипептид по п.7, причем полипептид дополнительно содержит сиаловую кислоту.
11. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенный полипептид по п.7 и фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или стабилизатор.

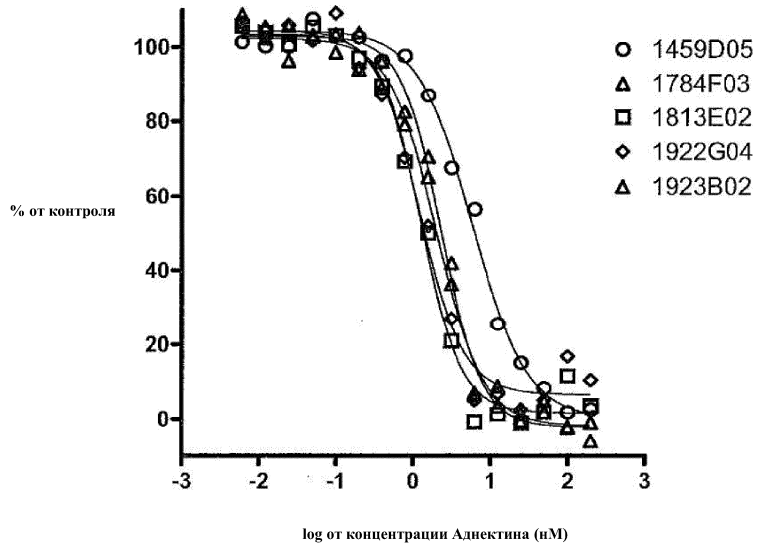
1459D05	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWPPPSHGYYRITYGETGGNSPVQEFVPPGKGTAT
1784F03	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWRPPIHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIVEGTAT
1784F03-m1	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDAPIHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSEGTAT
1784F03-m2	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDAPAHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKGTAT
1784F03-m3	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDAPAVTYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKGTAT
1813E02	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWSPPPANGYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGRGTAT
1923B02	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWTPPPCKGYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
1923B02_N82I	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWTPPPCKGYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
1923B02_N82E	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWTPPPCKGYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
1923B02_T80A	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWTPPPCKGYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
1922G04	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWRPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTAT
1922G04_R25D	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDPPSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTAT
1922G04_R25E	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWEPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTAT
1922G04_R25S	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWSPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTAT
2012A04	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWRPSSNGHYGYRITYGETGGNSPVQEFVFNVEGTAT
2013E01	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWVPPSDDYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTAT
2011H05	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWVPSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
2011H05_V23D	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWDPSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
2011H05_V23E	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLLLISWEPSSHAYGYRITYGETGGNSPVQEFVYVGGGTAT
1459D05	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYYPKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:39)
1784F03	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:41)
1784F03-m1	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:43)
1784F03-m2	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:45)
1784F03-m3	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:47)
1813E02	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTYKSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:49)
1923B02	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTYNGAGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:51)
1923B02_N82I	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTYIGAGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:53)
1923B02_N82E	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:55)
1923B02_T80A	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:57)
1922G04	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYYPWKGSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:59)
1922G04_R25D	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYYPWKGSGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:61)
1922G04_R25E	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYYPWKGSGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:63)
1922G04_R25S	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYYPWKGSGYYHRPISINRYTG---SGSHNNHHH (SEQ ID NO:65)
2012A04	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYFPFKWSGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:67)
2013E01	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYFPWPHAGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:69)
2011H05	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:71)
2011H05_V23D	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:73)
2011H05_V23E	ISGLKPGVDYTIITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO:75)

Фиг. 1

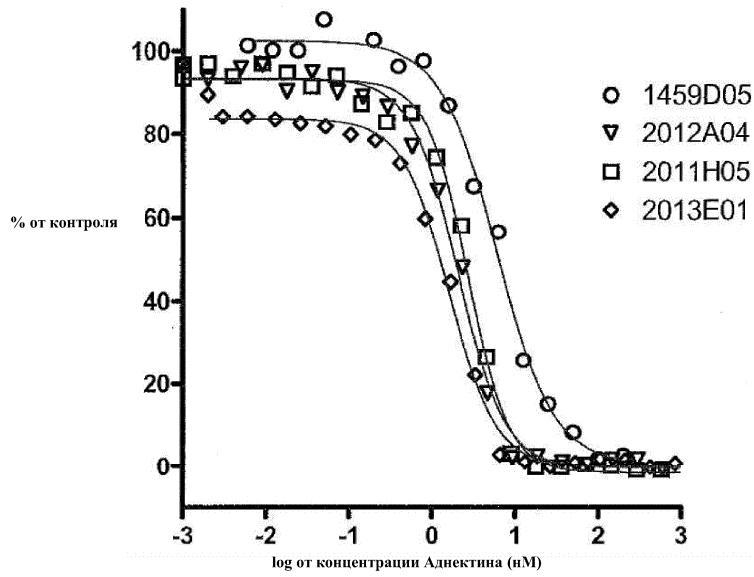


Фиг. 2

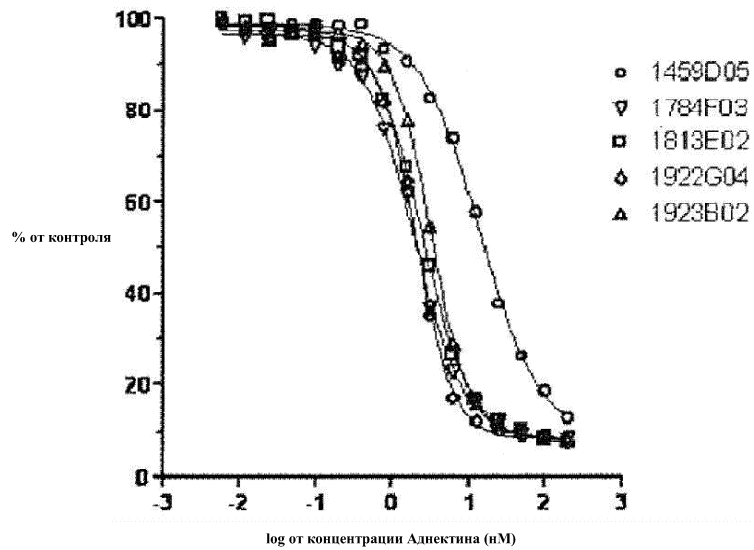
044608



Фиг. 3А

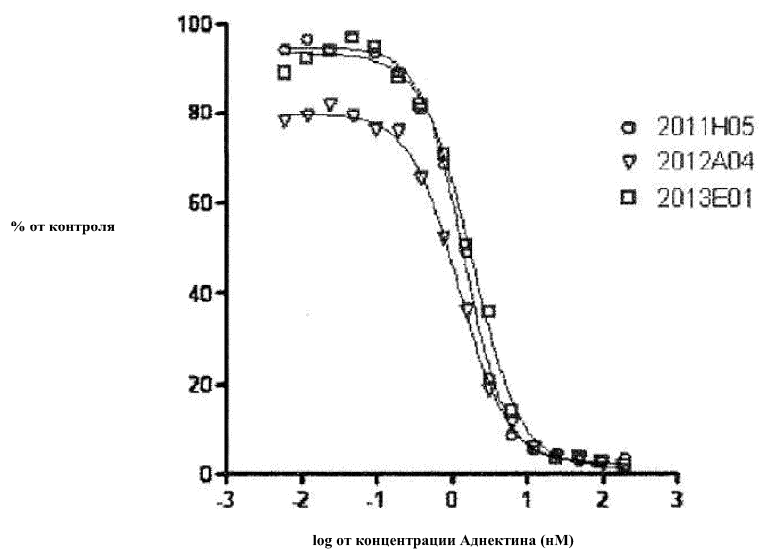


Фиг. 3В

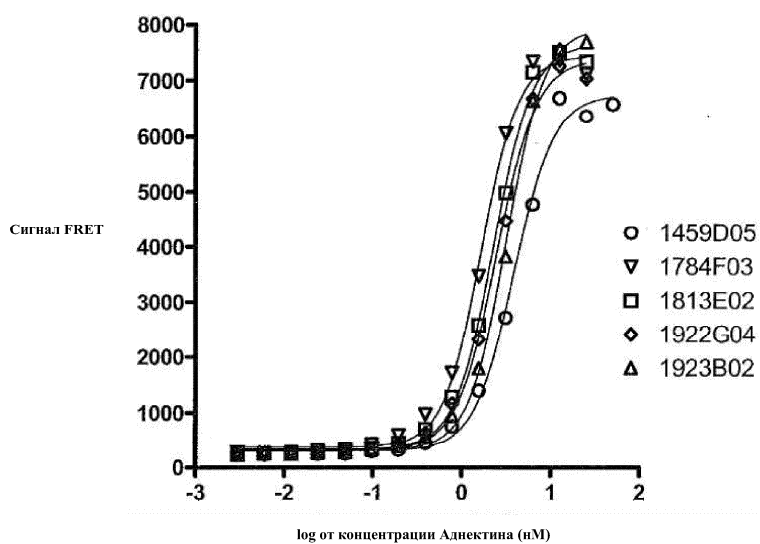


Фиг. 4А

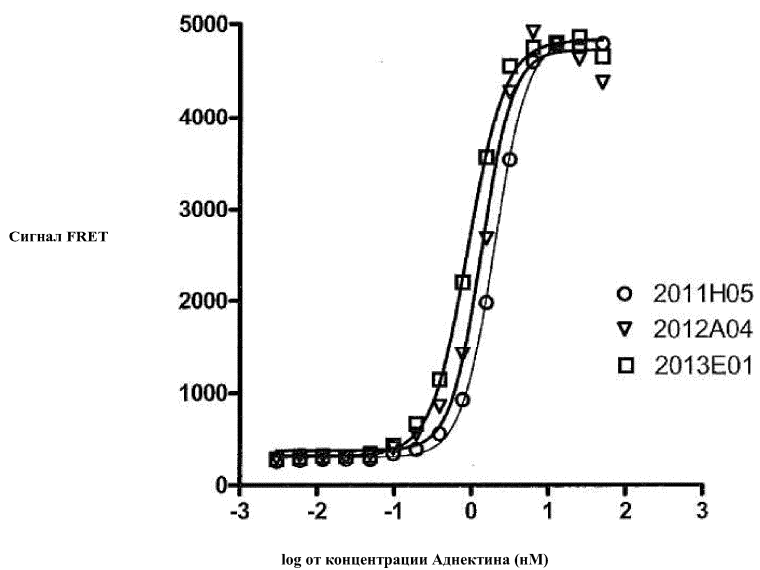
044608



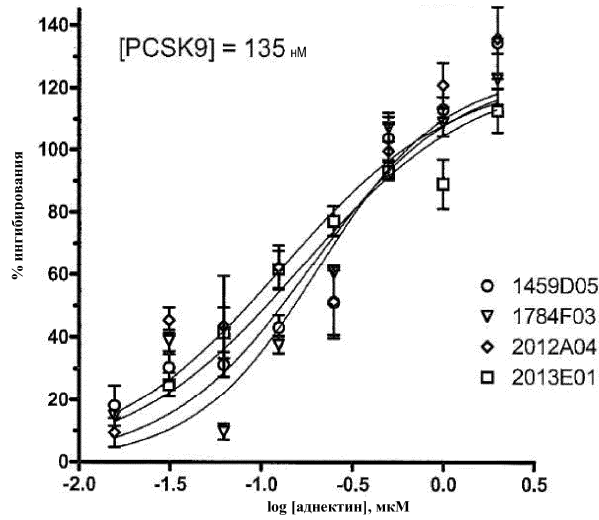
Фиг. 4В



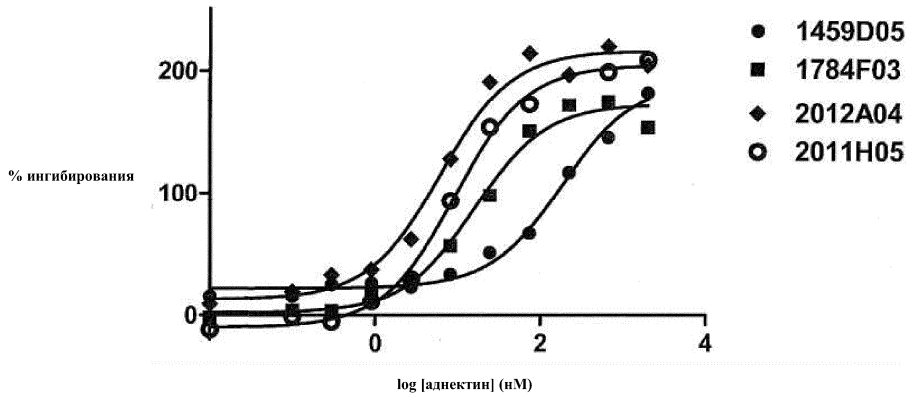
Фиг. 5А



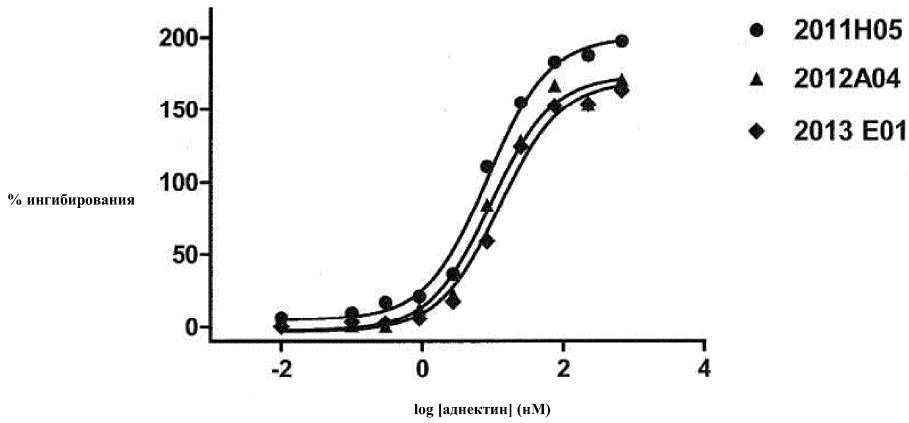
Фиг. 5В



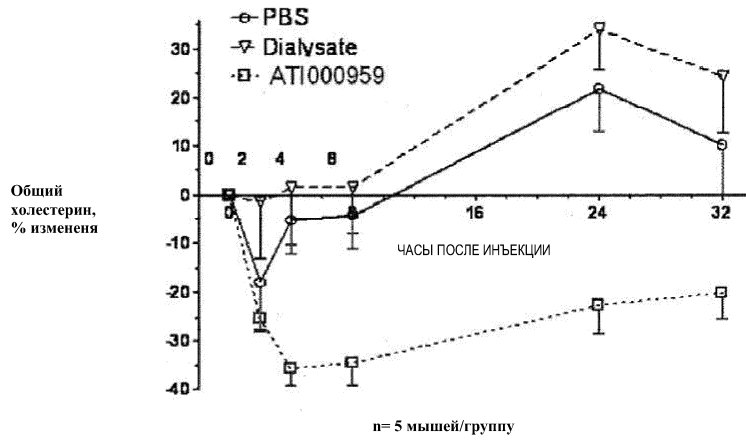
Фиг. 6



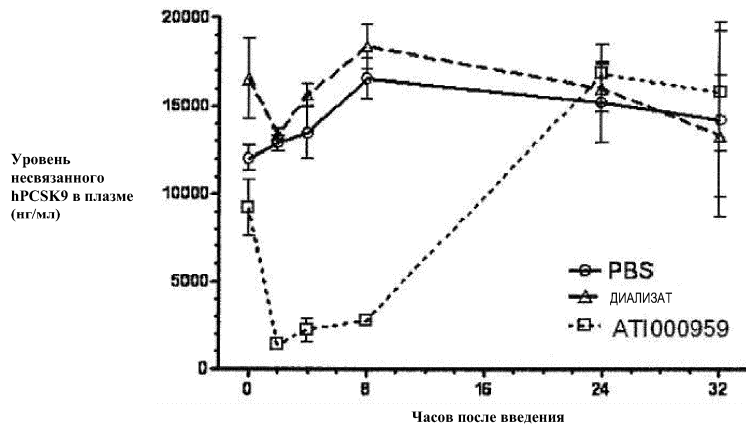
Фиг. 7А



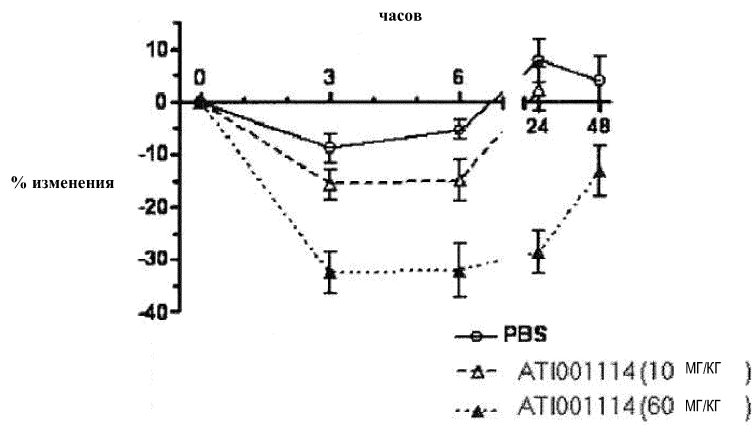
Фиг. 7В



Фиг. 8А

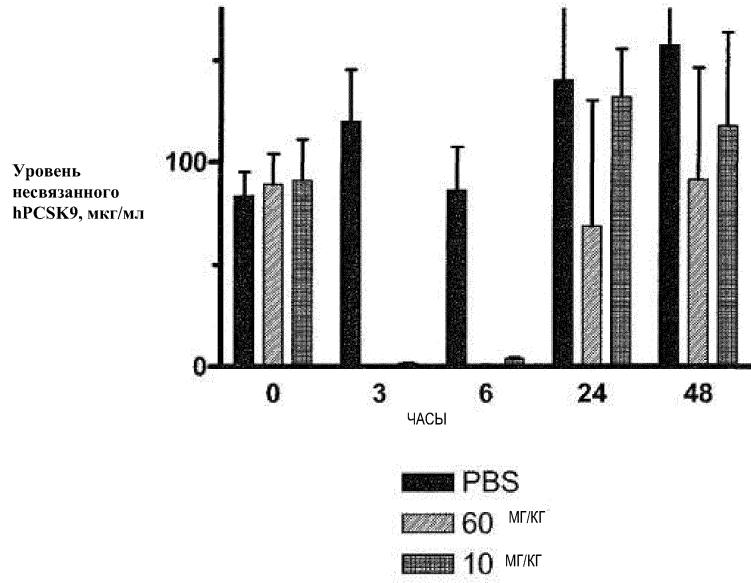


Фиг. 8В

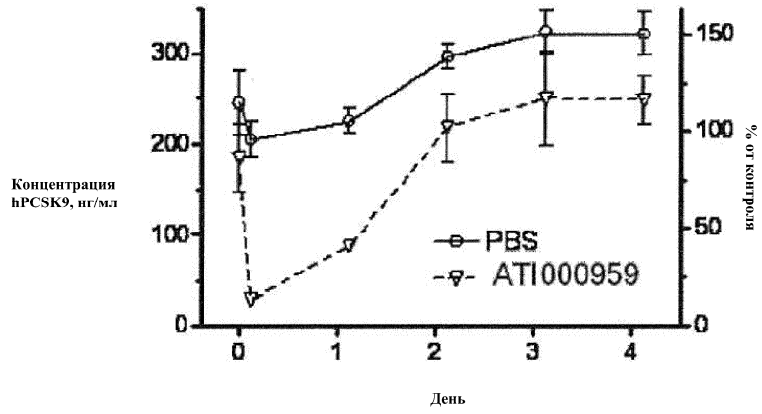


среднее значение, ± SEM
n = 8 мышей в группе
однократное внутривенное введение во время 0ч

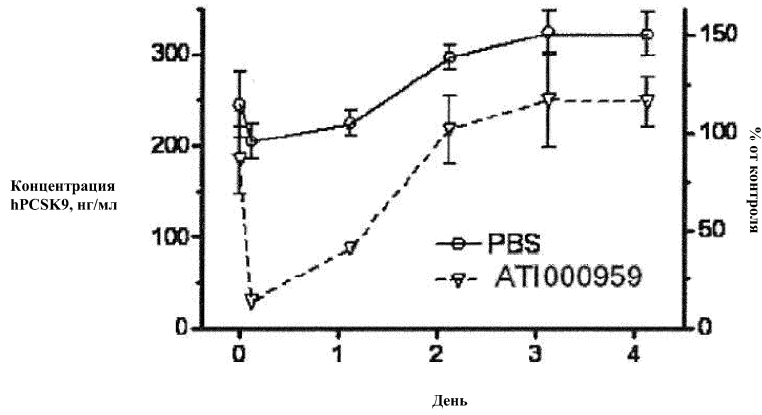
Фиг. 9А



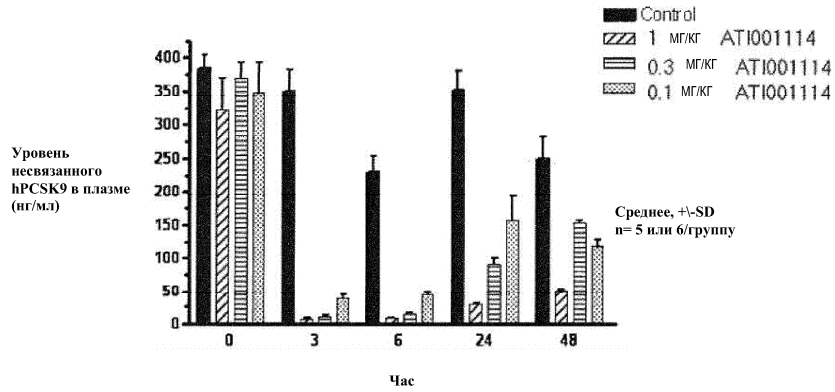
Фиг. 9В



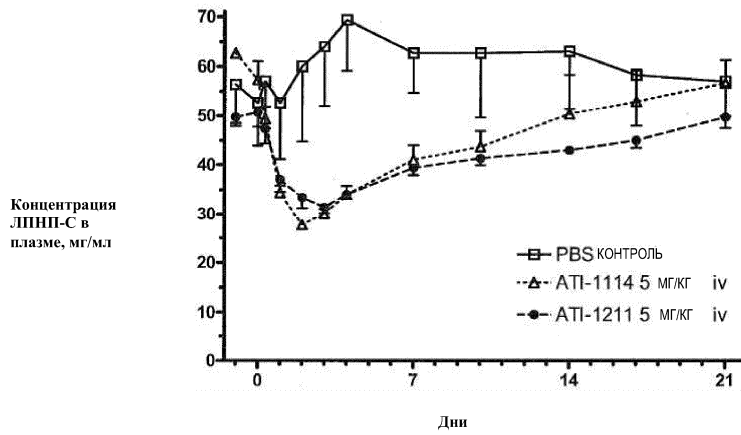
Фиг. 10А



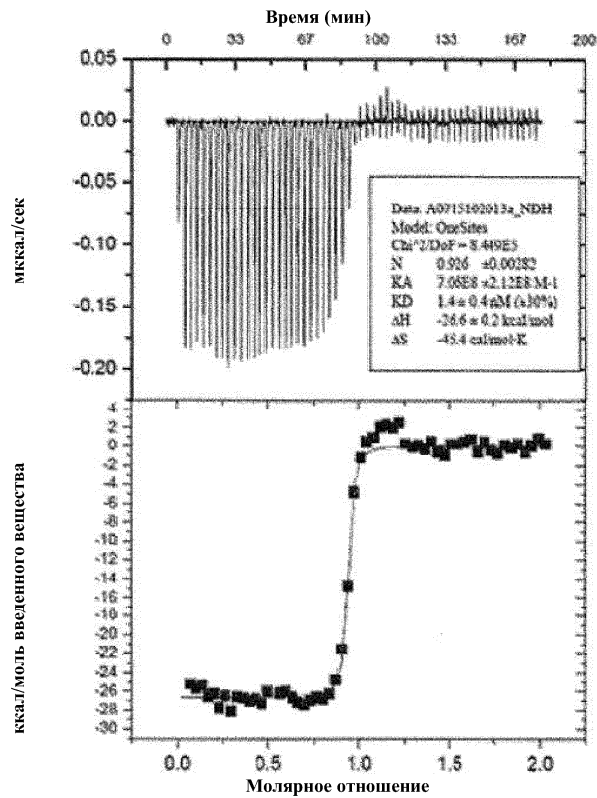
Фиг. 10В



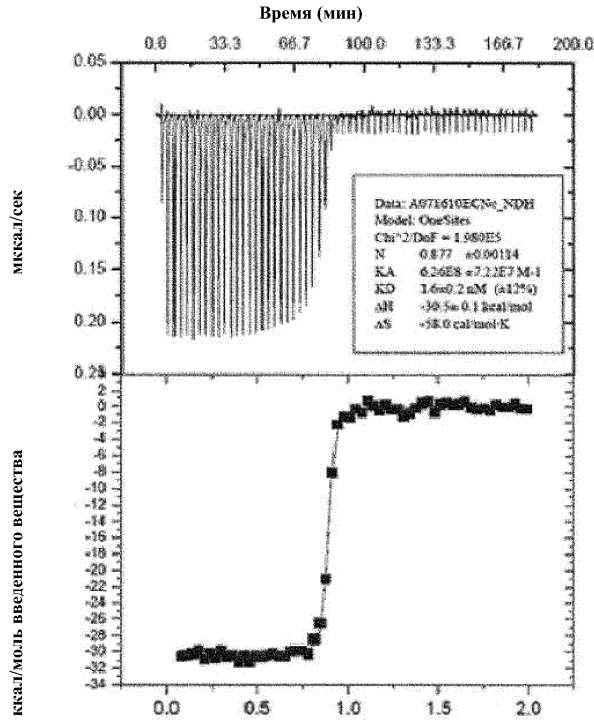
Фиг. 11



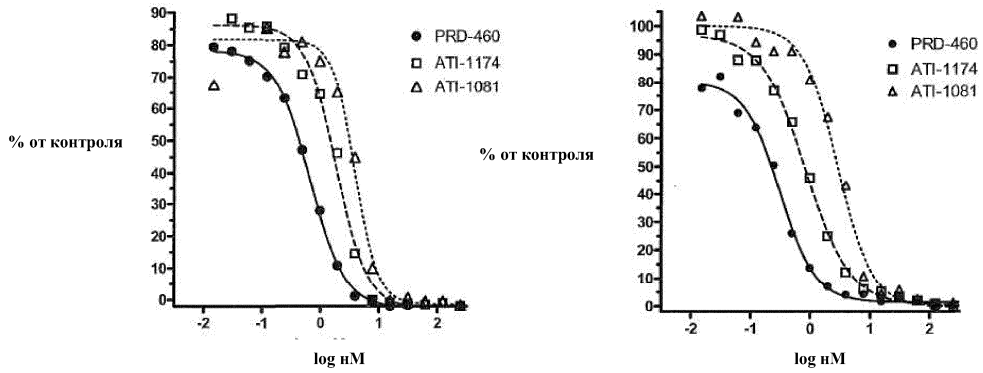
Фиг. 12



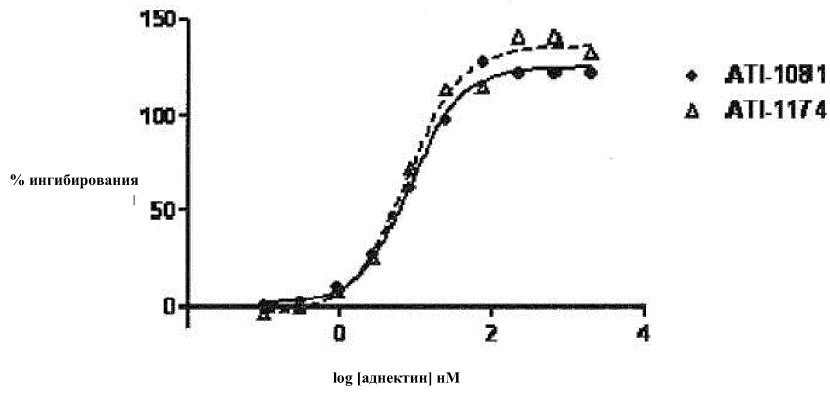
Фиг. 13



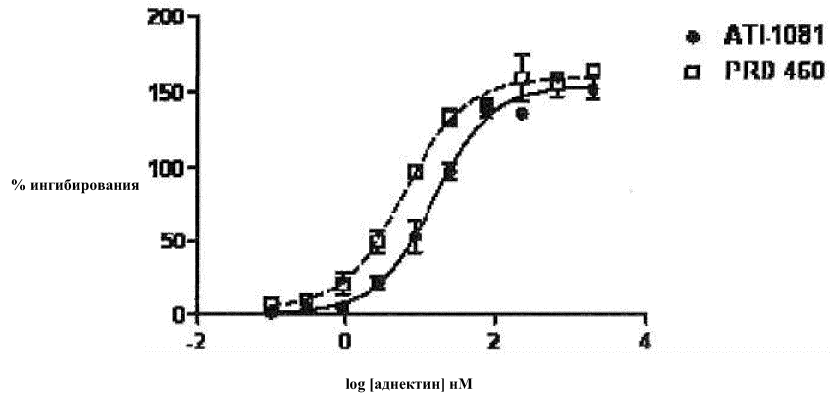
Молярное отношение
Фиг. 13 (продолжение)



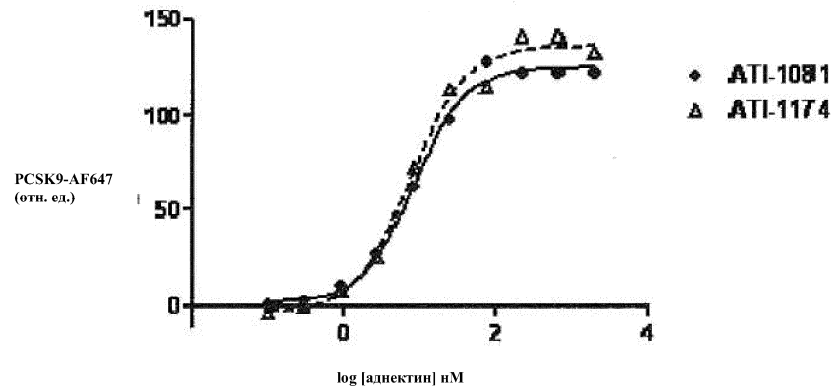
Фиг. 14



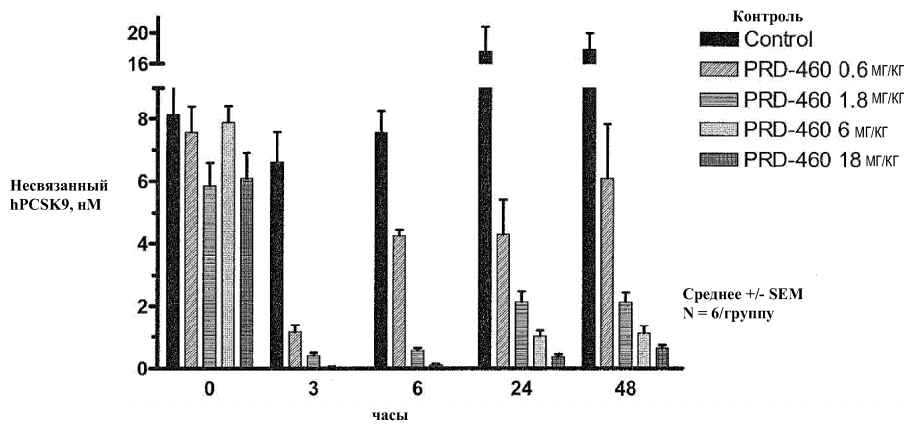
Фиг. 15



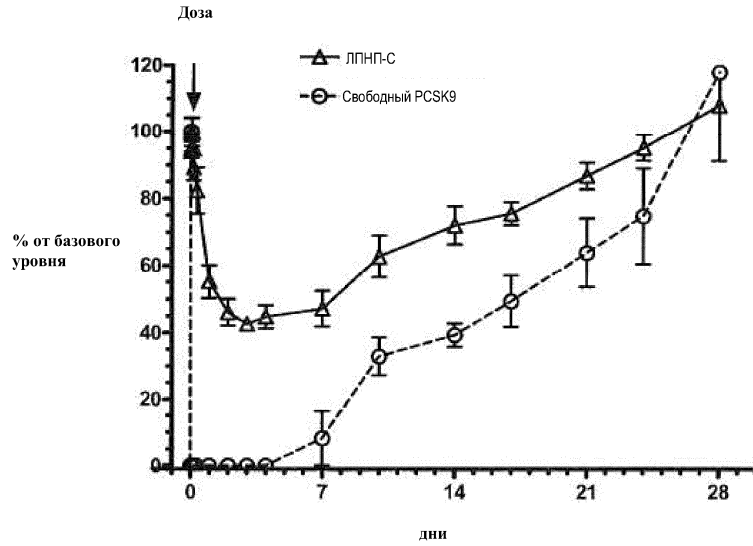
Фиг. 15 (продолжение)



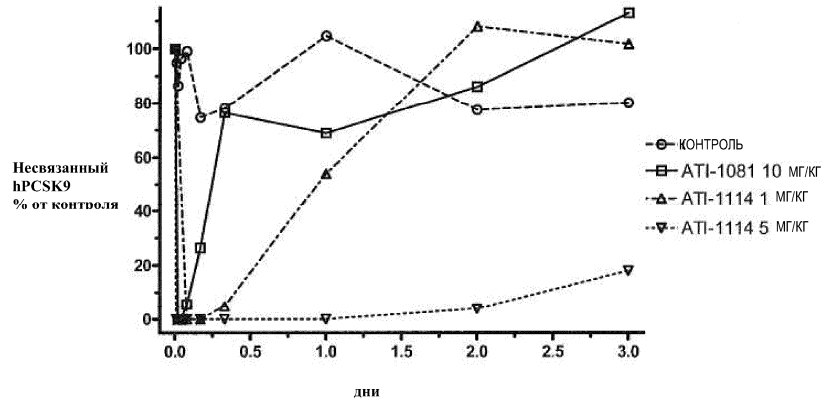
Фиг. 16



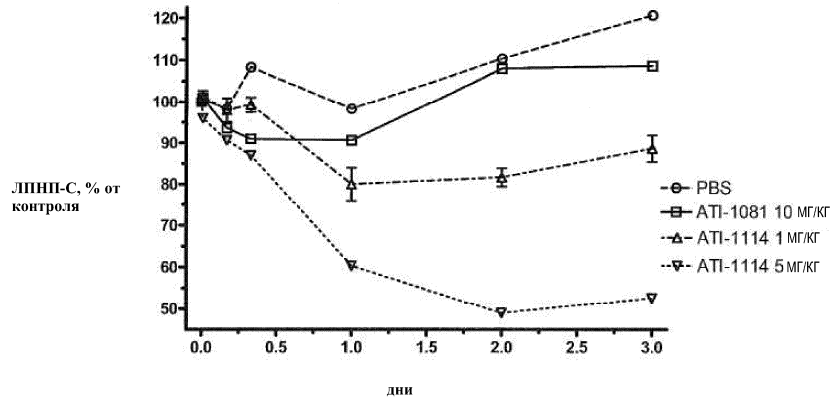
Фиг. 17



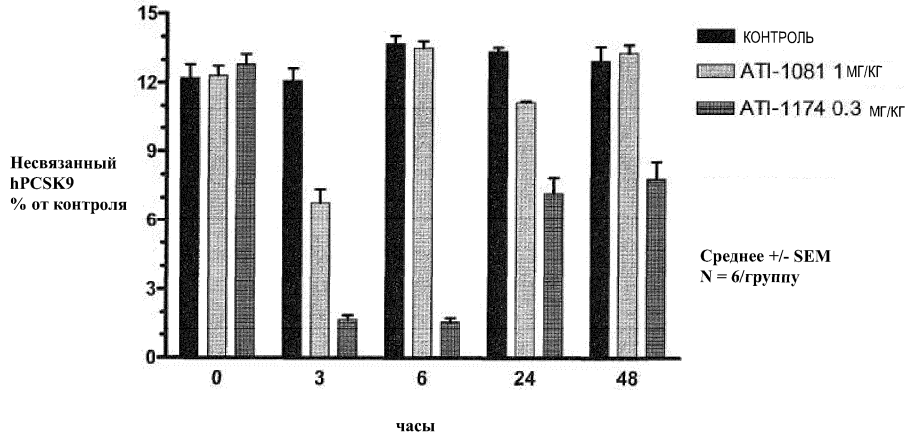
Фиг. 18



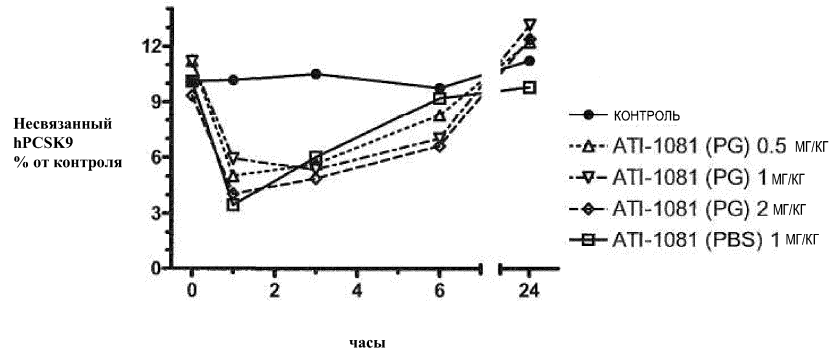
Фиг. 19



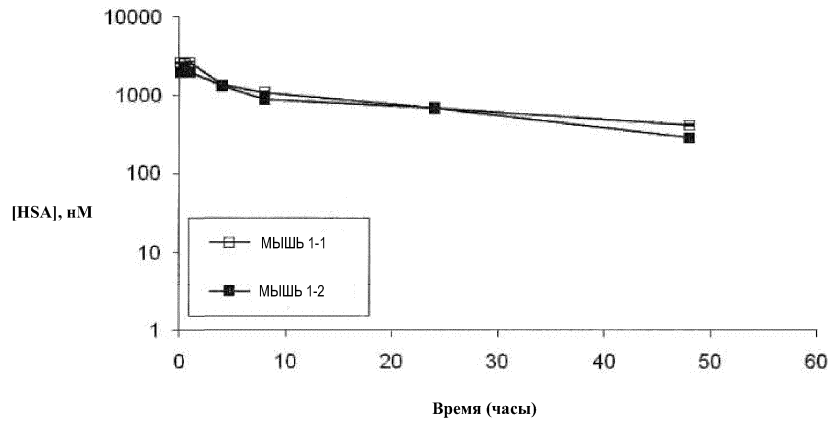
Фиг. 20



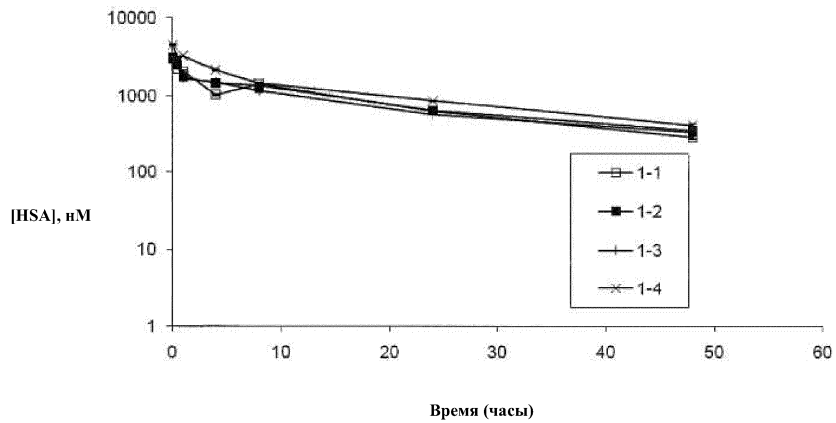
Фиг. 21



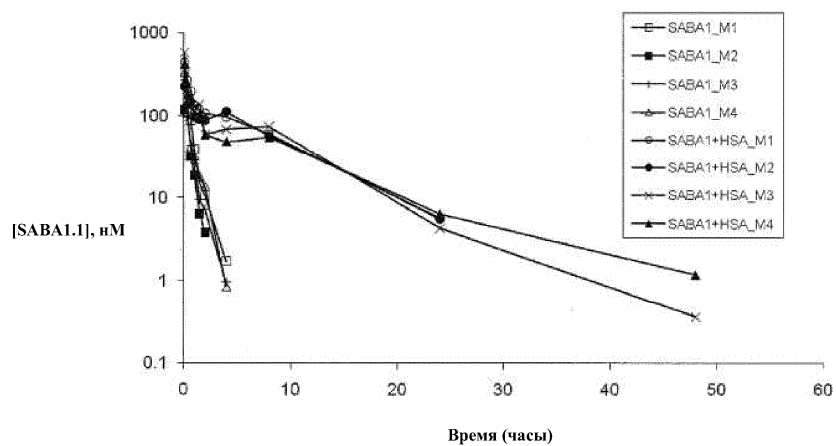
Фиг. 22



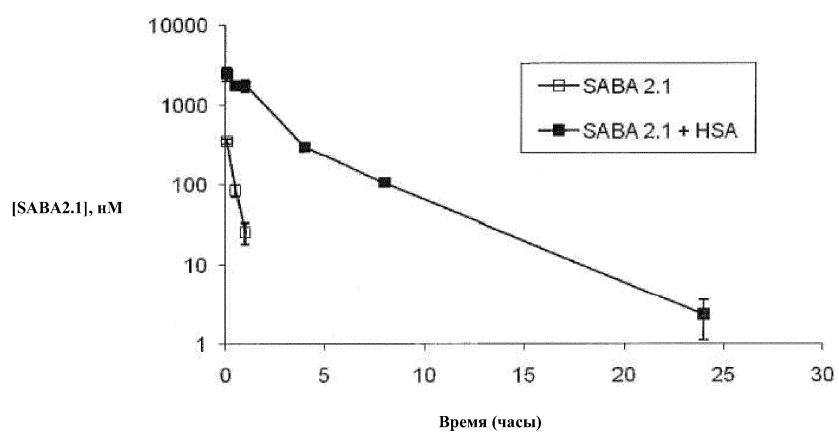
Фиг. 23А



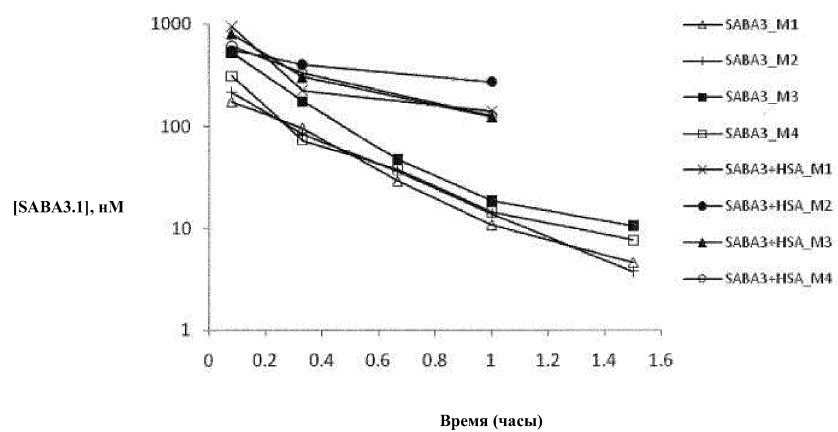
Фиг. 23В



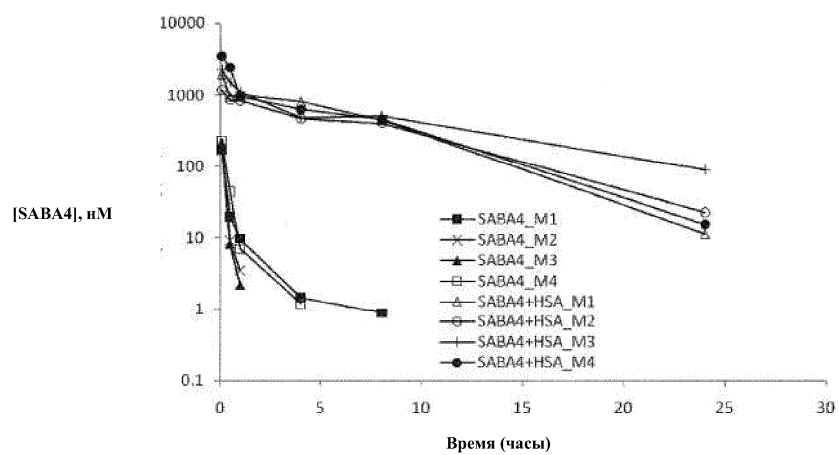
Фиг. 24А



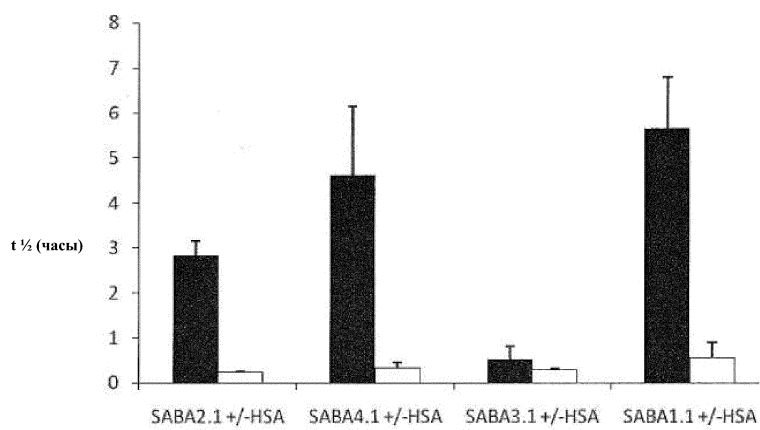
Фиг. 24В



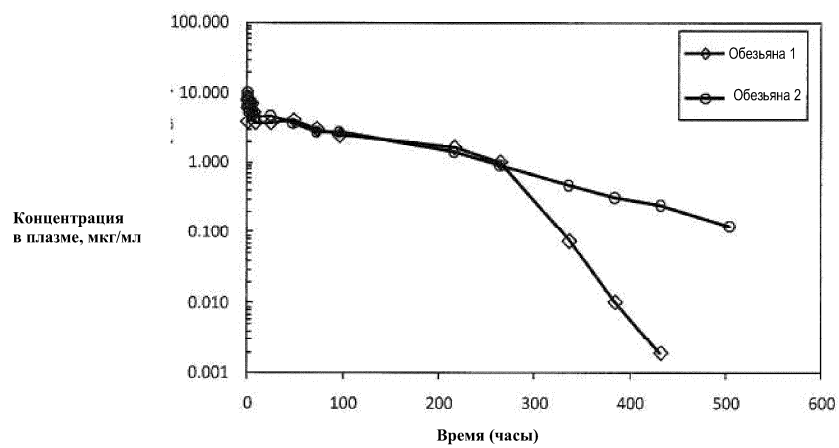
Фиг. 24С



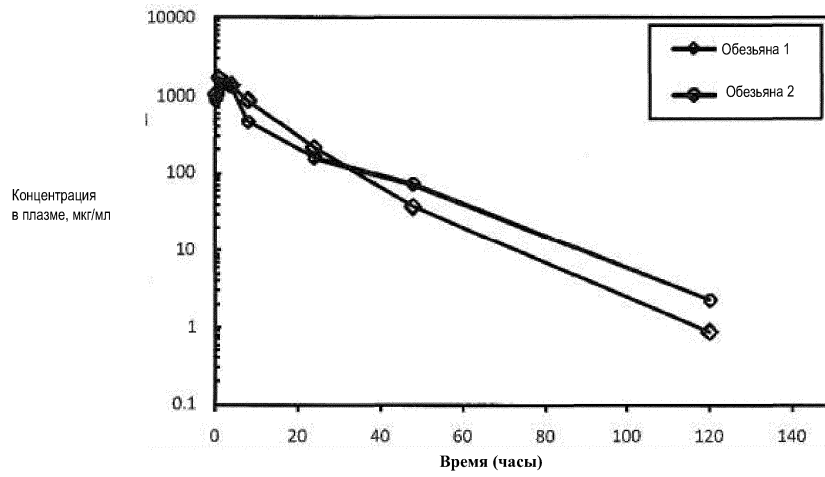
Фиг. 24D



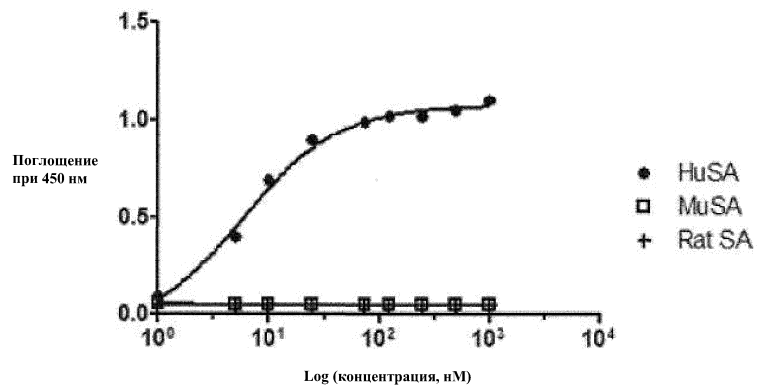
Фиг. 25



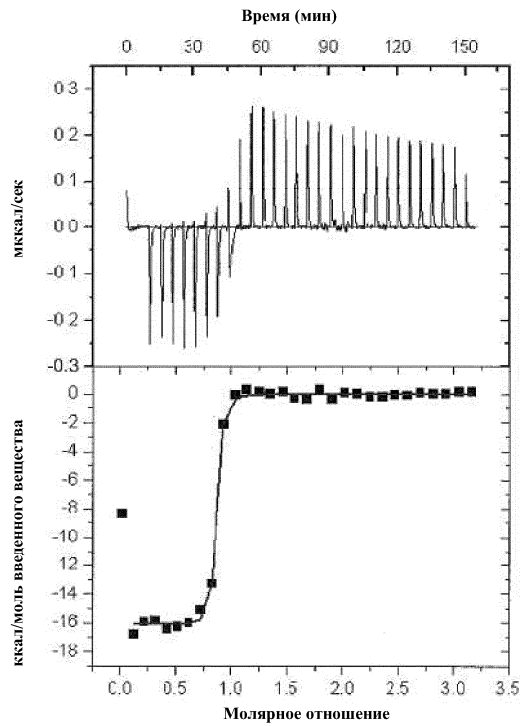
Фиг. 26A



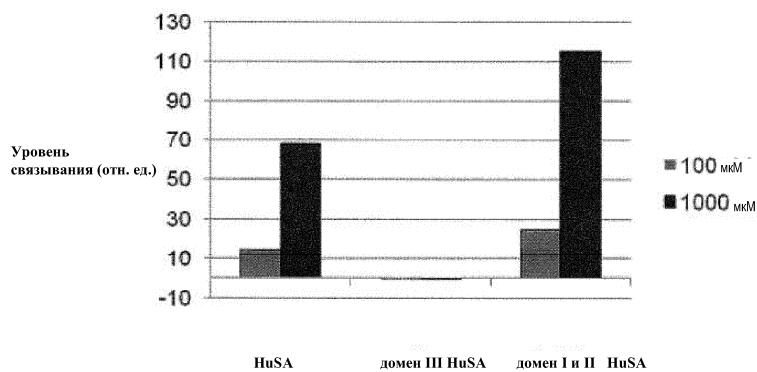
Фиг. 26В



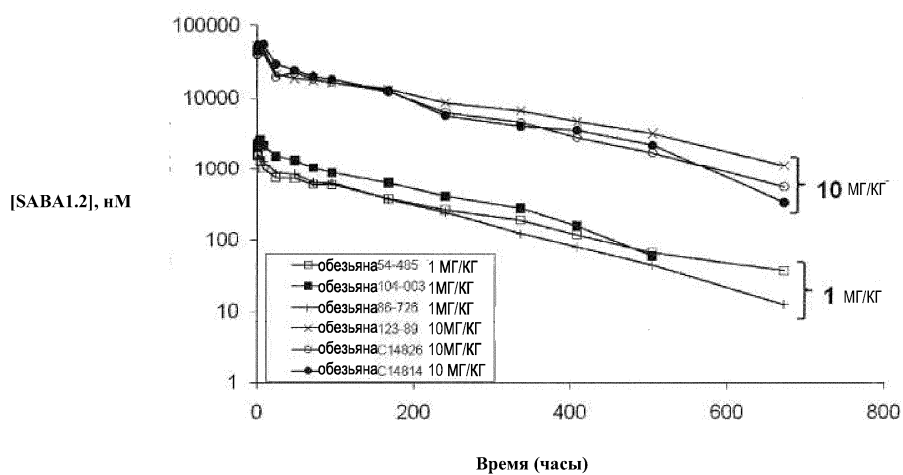
Фиг. 27



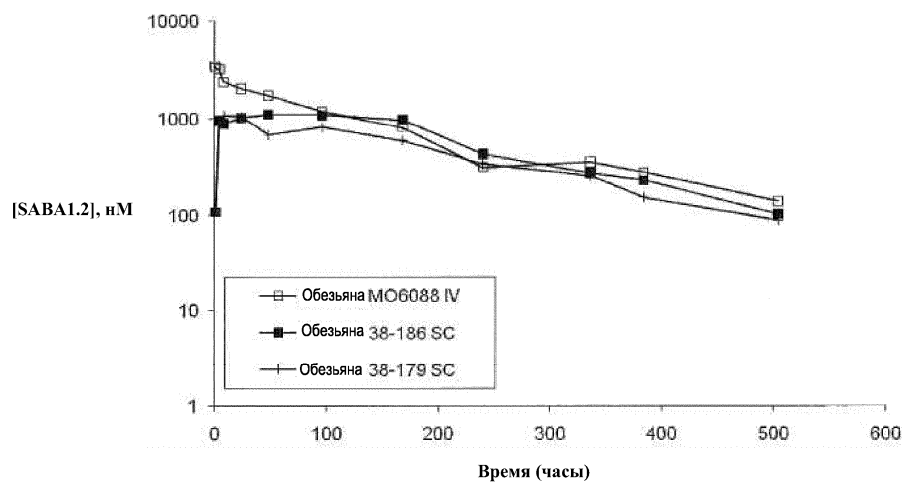
Фиг. 28



Фиг. 29



Фиг. 30



Фиг. 31