

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046146**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.09
- (21) Номер заявки
201992335
- (22) Дата подачи заявки
2019.07.12
- (51) Int. Cl. *A61P 19/02* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ СОРТИЛИНА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

- (31) **62/698,007; 62/860,184; 62/868,849**
- (32) **2018.07.13; 2019.06.11; 2019.06.28**
- (33) **US**
- (43) **2020.03.24**
- (86) **PCT/US2019/041614**
- (87) **WO 2020/014617 2020.01.16**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЛЕКТОР ЭлЭлСи (US)
- (72) Изобретатель:
**Швабе Тина, Карнеллас Майкл,
Розенталь Арнон, Пейхал Роберт,
Купер Энтони Б. (US)**
- (74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)
- (56) **WO-A1-2016164637
WO-A1-2017009327
WO-A1-2016164608**

-
- (57) Настоящее изобретение относится к антителу, которое связывается с белком сортилином, и его вариантам, к конъюгату антитела, к биспецифическому антителу, к поливалентному антителу, биспецифическому антителу, а также к фрагменту антитела. Также заявлена выделенная нуклеиновая кислота, которая кодирует белок, который связывается с сортилином. Также изобретение относится к вектору экспрессии, клетке-хозяину, к способу получения антитела, к фармацевтической композиции, содержащей указанное антитело, и способам применения указанного антитела.

046146
B1

046146
B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США № 62/698007, поданной 13 июля 2018 г., предварительной заявке США № 62/860184, поданной 11 июня 2019 г., и предварительной заявке США № 62/868849, поданной 28 июня 2019 г., которые в полном объеме включены в данный документ посредством ссылок.

Заявление касательно федерально спонсируемых исследований или разработок

Данное изобретение было выполнено при поддержке правительства по гранту № R44AG050363, выданному Национальными институтами здравоохранения (National Institutes of Health). Правительство имеет определенные права на данное изобретение.

Подача перечня последовательностей в виде текстового файла в формате ASCII

Содержание следующего представленного текстового файла в формате ASCII включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме: машиночитаемая форма (CRF) Перечня последовательностей (имя файла: 735022001940SEQLIST.TXT, дата создания: 10 июля 2019 г., размер: 153 кб).

Область техники

Данное изобретение относится к антителам против сортилина, и терапевтическим применениям таких антител.

Известный уровень техники

Сортилин представляет собой трансмембранный белок типа I, который выступает в роли как рецептора нескольких лигандов, так и участвует в сортировке выбранного "груза" (cargo) из сети транс-Гольджи (TGN) в поздние эндосомы и лизосомы для деградации. Сортилин содержит большой внеклеточный домен, входящий в состав семейства VPS10, гомологичный VPS10P дрожжей, и содержит 10-лопастную бета-пропеллерную структуру и богатый цистеином модуль 10CC (Nykjaer, A et al., (2012) Trends Neurosci 35: 261-270; и Zheng, Y et al., (2011) PLoS One 6: e21023). Небольшая часть сортилина (<5%) может сбрасываться с поверхности (shed) в результате активности ADAM10 или гамма-секретазы (Nykjaer, A et al., (2012) Trends Neurosci 35: 261-270; и Willnow, TE et al., (2011) Curr Opin Lipidol 22: 79-85).

Сортилин связывает секретлируемый белок програнулин (PGRN) и нацеливает его для лизосомальной деградации, тем самым негативно регулируя внеклеточные уровни PGRN (Hu, F et al. (2010) Neuron 68, 654-667). Соответственно, дефицит сортилина значительно увеличивает уровни PGRN плазмы как в мышечных моделях *in vivo*, так и в человеческих клетках *in vitro* (Carrasquillo, M.M et al., (2010) Am J Hum Genet 87, 890-897; Lee, W.C et al., (2014) Hum Mol Genet 23, 1467-1478). Более того, было показано, что полиморфизм сортилина сильно связан с уровнями PGRN сыворотки у людей (Carrasquillo M.M et al., (2010), Am J Hum Genet. 10; 87(6):890-7).

Програнулин (PGRN) представляет собой секретлируемый подобный фактору роста, трофический, и противовоспалительный белок, который также играет роль адипокина, участвующего в вызываемом рационом питания ожирении и инсулинорезистентности (Nguyen DA et al., (2013). Trends in Endocrinology and Metabolism, 24, 597- 606). На дефицит програнулина приходится примерно 25% всех наследственных форм лобно-височной деменции (ЛВД), представляющей собой нейродегенеративную болезнь с ранним началом. Пациенты с гетерозиготными мутациями потери функции PGRN имеют сниженные на около 50% внеклеточные уровни белка, и у них неизбежно развивается ЛВД, что делает PGRN геном, ответственным за это заболевание (Baker, M et al., (2006) Nature 442, 916-919; Carecchio M et al., (2011) J Alzheimers Dis 27, 781-790; Cruts, M et al., (2008) Trends Genet 24, 186-194; Galimberti, D et al., (2010) J Alzheimers Dis 19, 171-177). Кроме того, мутантные аллели PGRN были идентифицированы у пациентов с болезнью Альцгеймера (Seelaar, H et al., (2011). Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry 82, 476-486). Важно отметить, что PGRN оказывает защитное действие в нескольких моделях заболеваний с повышенными уровнями PGRN, ускоряя поведенческое восстановление при ишемии (Tao, J et al., (2012) Brain Res 1436, 130-136; Egashira, Y. et al., (2013). J Neuroinflammation 10, 105), подавляя локомоторные дефициты в модели болезни Паркинсона (Van Kampen, J.M et al. (2014). PLoS One 9, e97032), ослабляя патологию в модели амиотрофического (amyotrophic) бокового склероза (Laird, A.S et al., (2010). PLoS One 5, e13368.) и артрита (Tang, W et al., (2011). Science 332, 478-484) и предотвращая дефициты памяти в модели болезни Альцгеймера (Minami, S.S et al., (2014). Nat Med 20, 1157-1164).

Сортилин также связывается непосредственно с пронеуротрофинами, такими как про-фактор роста нервов (про-NGF), про-BDNF (про-нейротрофический фактор головного мозга), пронеуротрофин-3 и т.д., которые содержат (harbor) про-домен и типично являются проапоптотическими. Такие прекурсоры пронеуротрофина высвобождаются при стрессе, и сортилин участвует в регуляции их высвобождения, а также связывании на принимающей клетке и стимуляции апоптоза в сочетании с p75NTR (Willnow, TE et al., (2008) Nat Rev Neurosci 9: 899-909; Nykjaer, A et al., Trends Neurosci 35: 261-270; и Nykjaer, A et al., (2004) Nature 427: 843-848; Hiroko Yano et al., (2009) J Neurosci. 29: 14790-14802. Teng H.K., et al., J. Neurosci. 25:5455-5463(2005)). Сортилин также непосредственно связывается с p75NTR (Skeldal S et al., (2012) J Biol Chem.; 287:43798). Сортилин также связывается с нейротензином в области, частично перекрывающейся со связыванием програнулина (Quistgaard, EM et al., (2009) Nat Struct Mol Biol 16: 96-98; и Zheng, Y et al., PLoS One 6: e21023). Сортилин также взаимодействует с Trk-рецепторами NTRK1,

NTRK2, и NTRK3; и может регулировать их anterogradный аксональный транспорт и сигнализацию (Vaegter, CB et al., (2011) Nat. Neurosci. 14:54-61). Сортилин также взаимодействует с, и регулирует, процессинг и направленную миграцию белка-предшественника амилоида и происходящее в результате этого продуцирование патологических бета-амилоидных пептидов (Gustafsen C et al., (2013). J Neurosci. 2;33(1):64-71).

Было также показано, что сортилин связывается с аполипопротеинами и липопротеинлипазой; таким образом, дефицит приводит к пониженному высвобождению VLDL (липопротеинов очень низкой плотности) из печени и сниженному холестерину (Willnow, TE et al., (2011) Curr Opin Lipidol 22: 79-85; Kjolby, M et al., (2010) Cell Metab 12: 213-223; Nilsson, SK et al., (2007) Biochemistry 46: 3896-3904; Nilsson, SK et al., (2008) J Biol Chem 283: 25920-25927; и Klinger, SC et al., (2011) J Cell Sci 124: 1095-1105). Недавно было высказано предположение, что сортилин также непосредственно участвует в связывании с APP (предшественник бета-амилоидного белка) (Gustafsen, C et al., (2013) J. Neurosci. 33:64-71), а также с ферментом процессинга APP BACE1 (бета-секретазы) (Gustafsen, C et al., (2013) J. Neurosci. 33:64-71; и Finan, GM et al., J Biol Chem 286: 12602-12616). Сортилин также связывается с аполипопротеином E (APOE), с бета-амилоидным (A beta) пептидом (Carlo, AS et al., (2013) J. Neurosci, 33: 358-370), и с PCSK9 (пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9) (Gustafsen et al., (2014) Cell Metab, 19:310-318). Было также показано, что сортилин связывается с, и регулирует внеклеточные уровни, PCSK9, которая направляет рецептор липопротеина низкой плотности для деградации в лизосомы, что приводит к повышенным уровням холестерина LDL (Gustafsen C et al., (2014). Cell Metab. 2014 Feb 4; 19(2):310-8).

В случае присутствия во внутриклеточных везикулах, таких как эндосомы, аминоконцевой внеклеточный домен сортилина направлен к полости, где находится груз везикулы. Карбоксиконцевой внутриклеточный/цитоплазматический домен сортилина, однако, связывается с рядом адаптерных белков, которые регулируют его направленную миграцию с поверхности и во внутриклеточные компартменты. Они включают AP2 (адаптер клатрина, для модулирования эндоцитоза с поверхности клетки), и комплекс ретромер/AP1, который модулирует перемещение из ранних эндосом в аппарат Гольджи для рециркуляции; и взаимодействие с белками семейства GGA (локализующиеся в аппарате Гольджи, содержащие гамма-eag, связывающие фактор АДФ-рибозилирования) для перемещения из аппарата Гольджи непосредственно в ранние эндосомы, обычно для последующей деградации посредством лизосом. Таким образом, сортилин может связываться с лигандами своим люминальным доменом, в то же время сцепляясь с цитоплазматическими адаптерами, которые определяют его назначение для определения внутриклеточной судьбы, такой как деградация, для програнулина и других факторов.

Было продемонстрировано, что благодаря своим различным взаимодействиям с белками, такими как програнулин, сортилин и его многочисленные лиганды участвуют в различных заболеваниях, расстройствах и состояниях, таких как лобно-височная деменция, боковой амиотрофический склероз, фенотипы бокового амиотрофического склероза-лобно-височной деменции, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, депрессия, нейропсихиатрические расстройства, сосудистая деменция, эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, возрастная макулярная дегенерация, глаукома, травматическое повреждение головного мозга, старение, эпилептические припадки, заживление ран, инсульт, артрит и атеросклеротические болезни сосудов.

Соответственно, существует потребность в терапевтических антителах, которые специфически связывают белки сортилина и блокируют связывание сортилина с его лигандами, такими как програнулин, или иначе модулируют эффективную концентрацию лигандов, для лечения одной или нескольких болезней, расстройств и состояний, связанных с активностью сортилина.

Все источники, упоминаемые в данном документе, включая патенты, патентные заявки и публикации, настоящим включены посредством ссылок в полном объеме.

Сущность изобретения

Данное изобретение в общем относится к композициям, которые содержат антитела, например, моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают человеческий сортилин, и к способам использования таких композиций.

В некоторых аспектах, данное изобретение предусматривает антитело, которое связывается с белком сортилином, при этом антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий SEQ ID NO: 1, HVR-H2, содержащий SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 3, и HVR-H3, содержащий SEQ ID NO: 5 или SEQ ID NO: 6; и вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1 содержащий любые из SEQ ID NO: 8-27, HVR-L2, содержащий SEQ ID NO: 29 или SEQ ID NO: 30, и HVR-L3, содержащий SEQ ID NO: 32.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIIQGYGMDV (SEQ ID NO: 5); и вариабельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSNGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2,

ARQGSIQQGYGMDV (SEQ ID NO: 5); и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 26), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQETPLT (SEQ ID NO: 33).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQGLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 27), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых аспектах, данное изобретение предусматривает антитело, которое связывается с белком сортилином, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQGLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых аспектах, данное изобретение предусматривает антитело, которое связывается с белком сортилином, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи с HVR-H1, содержащим аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащим аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащим аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQGLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых вариантах реализации любых из вышеуказанных аспектов, антитело против сортилина: (а) снижает уровни сортилина клеточной поверхности больше, чем уровень снижения, вызываемый антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79; (б) повышает внеклеточные уровни програнулина большее, чем уровень повышения, вызываемый антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79; (с) ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином больше, чем уровень ингибирования, вызываемый антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и переменную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79; или (д) обеспечивает любую комбинацию (а)-(с). В некоторых вариантах реализации любых из вышеуказанных аспектов, антитело против сортилина: (а) снижает уровни сортилина клеточной поверхности больше, чем уровень снижения, вызываемый антителом против сортилина, выбранным из группы, состоящей из S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, или S-60-8; (б) повышает внеклеточные уровни програнулина большее, чем уровень повышения, вызываемый антителом против сортилина, выбранным из группы, состоящей из S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, или S-60-8; (с) ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином больше, чем уровень ингибирования, вызываемый антителом против сортилина, выбранным из группы, состоящей из S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, или S-60-8; или (д) обеспечивает любую комбинацию (а)-(с).

Определенные аспекты данного изобретения предусматривают антитело против сортилина с переменной областью тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 54-56; и/или переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 57-58, 60-78, или 80.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 59.

веческий белок. В некоторых вариантах реализации, белок сортилин представляет собой белок дикого типа. В некоторых вариантах реализации, белок сортилин представляет собой природный вариант. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению специфически связывается с человеческим белком сортилином. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любыми из предшествующих вариантов реализации, антитело представляет собой человеческое антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой моноклональное антитело.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах реализации, биспецифические антитела по данному изобретению распознают как сортилин, так и антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер. В некоторых конкретных вариантах реализации, первый антиген представляет собой сортилин и второй антиген представляет собой сортилин, рецептор трансферрина (TR), рецептор инсулина (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2, родственные рецептору липопротеина низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMM 30(A), домен белковой трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептид angioper, басигин (basigin), Glut1, CD98hc, или ANG1005.

В некоторых вариантах реализации данного изобретения, антитело против сортилина представляет собой фрагмент антитела, который связывается с человеческим белком сортилином. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого сортилина, природного варианта человеческого сортилина, и варианта болезни человеческого сортилина. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации, фрагмент антитела против сортилина представляет собой Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- или scFv-фрагмент.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает антитело против сортилина, при этом (a) антитело против сортилина повышает внеклеточные уровни програнулина, снижает клеточные уровни сортилина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию; (b) антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, повышает внеклеточные уровни програнулина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию; (c) антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, снижает внутриклеточно уровни сортилина, снижает общие уровни сортилина, или обеспечивает любую их комбинацию; (d) антитело против сортилина индуцирует деградацию сортилина, расщепление сортилина, интернализацию сортилина, снижение экспрессии сортилина, или обеспечивают любую их комбинацию; (e) антитело против сортилина снижает клеточные уровни сортилина и ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином; (f) антитело против сортилина снижает клеточные уровни сортилина и повышает клеточные уровни програнулина; и/или (g) антитело против сортилина повышает эффективную концентрацию програнулина.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает антитело против сортилина, при этом антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, повышает внеклеточные уровни програнулина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение до 2,5 раз ниже, чем у антитела против сортилина, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79, при этом K_D определяют методом FACS (см., например, пример 1). В некоторых вариантах реализации, антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение от более чем 1 раза и до примерно 2,1 раза ниже, чем у антитела против сортилина, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79, при этом K_D определяют методом FACS. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение в диапазоне от примерно 1,10E-8 М до примерно 4,68E-10 М, при этом K_D определяют методом FACS (см., например, пример 1), или от примерно 270 до примерно 2910 пМ, при этом K_D определяют методом интерферометрии биослоев (см., например, пример 4). В некоторых вариантах реализации, антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение в диапазоне от примерно 5,0E-10 М до примерно 1,0E-9 М, при этом K_D определяют методом FACS, или примерно 250-500 пМ, при этом K_D определяют методом интерферометрии биослоев.

В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любыми из предшествующих вариантов реализации, антитело против сортилина по данному изобретению (a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей

менее 150 пМ, при измерении методом проточной цитометрии; (b) снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 50% при 1,25 нМ IgG, на более чем примерно 80% при 0,63 нМ IgG, или на более чем примерно 69% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,13 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, или более чем в примерно 1,22 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА; блокирует связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 0,325 нМ, при измерении методом проточной цитометрии; (e) блокирует связывание програнулина с сортилином на более чем примерно 88% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 27,5% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; или (f) обеспечивает любую их комбинацию.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению (a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 681 пМ, при измерении методом проточной цитометрии; (b) снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 40% при 1,25 нМ IgG, на более чем примерно 29% при 0,6 нМ IgG, или на более чем примерно 62% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; (c) повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,11 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, или более чем в примерно 1,75 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА; (d) блокирует связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 0,751 нМ, при измерении методом проточной цитометрии; (e) блокирует связывание програнулина с сортилином на более чем примерно 90% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 95% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; или (f) обеспечивает любую их комбинацию.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению конкурирует за связывание с сортилином с антителом, содержащим вариabельный домен тяжелой цепи и вариabельный домен легкой цепи антитела, выбранные из группы, состоящей из S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt) (дикого типа)], S-60-15.1 [N33T], S-60-16, S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любыми из предшествующих вариантов реализации, антитело против сортилина по данному изобретению связывает по существу тот же эпитоп сортилина, что и антитело, содержащее вариabельный домен тяжелой цепи и вариabельный домен легкой цепи антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-16, S-60-18, S-60-19 и S-60-24.

В другом аспекте, данное изобретение относится к антителу, продуцируемому любым из способов, описанных в данном документе. В некоторых аспектах, данное изобретение предусматривает выделенную нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело против сортилина по любому из предшествующих аспектов и вариантов реализации. Соответственно, некоторые аспекты предусматривают вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против сортилина, и некоторые аспекты предусматривают выделенную клетку-хозяина, содержащую такой вектор. В определенных аспектах, данное изобретение предусматривает способ продуцирования антитела против сортилина, которое связывается с сортилином, включающий культивирование такой выделенной клетки-хозяина таким образом, чтобы при этом продуцировалось антитело против сортилина. В некоторых вариантах реализации, способ дополнительно включает выделение антитела, продуцируемого клеткой. В некоторых аспектах, данный документ предусматривает выделенное антитело, которое связывается с сортилином и продуцируется способом по данному изобретению.

В другом аспекте, данное изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей любое из антител против сортилина, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации, данное изобретение относится к использованию любых антител или композиций, описанных в данном документе, для приготовления или производства лекарственного средства. В некоторых вариантах реализации, данное изобретение относится к использованию любых антител или композиций, описанных в данном документе, для приготовления или производства лекарственного средства для лечения лобно-височной деменции, прогрессирующего надъядерного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, нейропатической боли, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита или остеоартрита. Некоторые варианты реализации предусматривают антитело или композицию, описанные в данном документе, для использования в способе лечения. Некоторые варианты реализации предусматривают антитело или композицию, описанные в данном документе, для использования в способе лечения лобно-височной деменции, прогрессирующего надъядерного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, нейропатической боли, деменции, инсульта, болезни

Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелимита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита или остеоартрита.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением, включающий введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, болезнь, расстройство или поражение выбирают из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего надъядерного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, нейропатической боли, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелимита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита. В некоторых вариантах реализации, болезнь, расстройство или поражение выбирают из лобно-височной деменции, прогрессирующего надъядерного паралича, болезни Альцгеймера и бокового амиотрофического склероза.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ ингибирования чего-то одного или нескольких из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным разрастанием и aberrантным ветвлением, микроглиальной активации, и воспалительного ответа, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ усиления чего-то одного или нескольких из заживления ран, аутофагии, и клиренса агрегированных белков, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с артритом, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ снижения экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, один или несколько провоспалительных медиаторов выбирают из группы, состоящей из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

В некоторых аспектах, данный документ предусматривает способ ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, включающий воздействие на клетку, экспрессирующую сортилин, антителом против сортилина или фармацевтической композицией по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, клетка находится в условиях *in vitro*. В некоторых вариантах реализации, клетка находится в условиях *in vivo*. В некоторых вариантах реализации, способ дополнительно включает снижение уровня сортилина, экспрессируемого на поверхности клетки. В некоторых вариантах реализации, внеклеточные уровни програнулина повышены.

В некоторых аспектах, данный документ предусматривает способ повышения уровней програнулина у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина или фармацевтической композиции по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, уровни програнулина повышаются в плазме. В некоторых вариантах реализации, уровни програнулина повышаются в цереброспинальной жидкости. В некоторых аспектах, данный документ предусматривает способ снижения уровней сортилина у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина или фармацевтической композиции по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, уровни сортилина понижаются в лейкоцитах периферической крови. В некоторых вариантах реализации, индивидуум имеет одну или несколько мутаций в гене, кодирующем програнулин. В некоторых вариантах реализации, индивидуум является гетерозиготным по одной или нескольким мутациям потери функции в гене, кодирующем програнулин. В некоторых вариантах реализации, индивидуум имеет экспансию гексануклеотидных повторов c9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9). Индивидуум имеет лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, или боковой амиотрофический склероз, или риск их развития.

В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любыми из предшествующих аспектов или вариантов реализации, данное изобретение предусматривает способ, в котором антитело против сортилина содержит два или больше антител против сортилина.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1А-1С демонстрируют фармакокинетические и фармакодинамические исследования не являющихся человеком приматов, получавших разовые дозы антител против сортилина S-60-15.1 [N33T] LALAPS (S-60-15.1 [N33T] с huIgG1 с мутациями L234A/L235A/P331S). На фиг. 1А представлены уровни SORT1 в лейкоцитах периферической крови в процентах от базовой линии в указанные моменты времени после введения (часов) доз указанного антитела против сортилина. Экспрессия SORT1 снижается для всех тестируемых доз антитела против сортилина. Более высокие дозы антитела (60 мг/кг, 200 мг/кг) приводили как к более раннему, так и к более длительному снижению уровней SORT1 по сравнению с более низкими дозами антитела против сортилина (5 мг/кг, 20 мг/кг). На фиг. 1В представлены уровни PGRN в плазме в процентах от базовой линии в указанные моменты времени после введения (часов) указанных доз антитела против сортилина. Уровни PGRN повышаются время- и дозозависимым образом. В частности, уровни PGRN плазмы повышаются от 3 до 4 раз при C_{max} , по сравнению с уровнями базовой линии, для всех тестируемых доз антитела против сортилина и остаются повышенными на протяжении более длительных периодов времени при более высоких дозах антитела. На фиг. 1С представлены уровни PGRN в ЦСЖ в процентах от базовой линии в указанные моменты времени после введения (часов) указанных доз антитела против сортилина. Уровни PGRN ЦСЖ повышаются от 2 до 3 раз по сравнению с базовой линией у животных, получивших 20 мг/кг, 60 мг/кг, или 200 мг/кг. Аналогично уровням PGRN плазмы (фиг. 1В), уровни PGRN ЦСЖ остаются повышенными по прошествии длительного времени в группах более высоких доз антитела. Для фиг. 1А-1С, $n=3$ животных на дозу.

Фиг. 2А-2С демонстрируют фармакокинетические и фармакодинамические исследования не являющихся человеком приматов, получавших повторные дозы антитела против сортилина S-60-15.1 [N33T] LALAPS. Животным (2 самца и 2 самки) вводили антитело против сортилина S-60-15.1 [N33T] LALAPS в дозе 60 мг/кг раз в неделю в течение четырех недель. Дни введения доз отмечены вертикальными пунктирными линиями. На фиг. 2А представлены средние (+/- стандартное отклонение) концентрации SORT1 в лейкоцитах периферической крови (WBC) в процентах от исходного уровня в указанные моменты времени (дней). Уровни SORT1 в лейкоцитах периферической крови оставались сниженными на протяжении исследований. На фиг. 2В представлены средние (+/- стандартное отклонение) концентрации PGRN в плазме в процентах от исходного уровня (нормированные) в указанные моменты времени (дней). Уровни PGRN плазмы повышались от 5 до 6 раз выше базовой линии при пиковых уровнях. Снижение PGRN в плазме наблюдали после четвертого и последнего введения антитела против сортилина; однако, уровни PGRN плазмы остаются повышенными в 2 раза от базовой линии. На фиг. 2С представлены средние (+/- стандартное отклонение) концентрации PGRN в ЦСЖ в процентах от исходного уровня (нормированные) в указанные моменты времени (дней). Уровни PGRN ЦСЖ были повышены в 3-4 раза от базовой линии (фиг. 2С).

Подробное описание сущности изобретения

Определения.

В используемом в данном документе значении, термин "предотвращение" включает обеспечение профилактики по отношению к проявлению или рецидивированию конкретного заболевания, расстройства или состояния у индивидуума. Индивидуум может быть предрасположен к, восприимчив к конкретной болезни, расстройству или состоянию, или иметь риск развития такой болезни, расстройства или состояния, но еще без установленного диагноза болезни, расстройства или состояния.

В используемом в данном документе значении, индивидуум "с риском" развития конкретной болезни, расстройства или состояния может иметь или не иметь детектируемую болезнь или симптомы болезни, и может иметь или не иметь детектируемые проявления болезни или симптомов болезни до проведения способов лечения, описанных в данном документе. "С риском" означает, что индивидуум имеет один или несколько факторов риска, которые представляют собой измеримые параметры, коррелирующие с развитием конкретной болезни, расстройства или состояния, как известно специалистам. Индивидуум с одним или несколькими такими факторами риска имеет более высокую вероятность развития конкретной болезни, расстройства или состояния, чем индивидуум без одного или нескольких таких факторов риска.

В используемом в данном документе значении, термин "лечение" относится к клиническому вмешательству, направленному на изменение естественного хода событий для индивидуума, получающего лечение в ходе клинической патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, улучшение или облегчение патологического состояния, и ремиссия или улучшенный прогноз конкретной болезни, расстройства или состояния. Индивидуум успешно "проходит лечение", например, если один или несколько симптомов, связанных с конкретной болезнью, расстройством или состоянием, смягчаются или устраняются.

"Эффективное количество" относится к по меньшей мере количеству, являющемуся эффективным, в дозировках и на протяжении периодов времени, необходимых для достижения желательного терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество может быть обеспечено за одно или несколько введений. Эффективное количество в данном документе может меняться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и вес индивидуума, и способности лечения вызывать желательный ответ у индивидуума. Эффективное количество является также таким, при котором

терапевтически полезные эффекты превышают любое токсическое или вредное воздействие лечения. Для профилактического применения, полезные или желательные результаты включают такие результаты, как устранение или снижение риска, ослабление тяжести, или задержка начала проявления болезни, включая биохимические, гистологические и/или поведенческие симптомы болезни, ее осложнения и промежуточные патологические фенотипы, наблюдаемые в ходе развития болезни. Для терапевтического применения полезные или желательные результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или нескольких симптомов, вызванных болезнью, повышение качества жизни особ, страдающих болезнью, уменьшение дозы других лекарственных препаратов, требующихся для лечения болезни, усиление действия другого лекарственного препарата, например, посредством направленной доставки, замедление прогрессирования болезни, и/или увеличение выживаемости. Эффективное количество лекарственного препарата, соединения, или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для проведения профилактического или терапевтического лечения, прямо или косвенно. Как подразумевается в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного препарата, соединения, или фармацевтической композиции может достигаться или не достигаться в сочетании с другим лекарственным препаратом, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, "эффективное количество" может рассматриваться в контексте введения одного или нескольких терапевтических агентов, и может считаться, что один агент был введен в эффективном количестве, если, в сочетании с одним или несколькими другими агентами, может быть достигнут или был достигнут желательный результат.

В используемом в данном документе значении, введение "в сочетании" с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в другое время. Введение в сочетании также охватывает введение в виде совместной композиции или введение в виде отдельных композиций, включая разные частоты или интервалы введения доз, и использование одного и того же пути введения или разных путей введения.

"Индивидуум", в целях лечения, предотвращения или снижения риска, относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, одомашненных и сельскохозяйственных животных, и животных в зоопарках, спортивных животных или домашних питомцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомячки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т.п. Предпочтительно, индивидуум представляет собой человека.

Термины "сортилин" или "полипептид сортилина" используются взаимозаменяемо в данном документе по отношению к любому нативному сортилину из любого источника, относящегося к млекопитающих, включая приматов (например, людей и яванских макаков (*супос*)) и грызунов (например, мышей и крыс), если не указано иное. В некоторых вариантах реализации, термин охватывает как последовательности дикого типа, так и природные варианты последовательностей, например, варианты сплайсинга или аллельные варианты. В некоторых вариантах реализации, термин охватывает "полноразмерный", непротессированный сортилин, а также любую форму сортилина, которая образуется в результате протессинга в клетке. В некоторых вариантах реализации, сортилин представляет собой человеческий сортилин. В некоторых вариантах реализации, аминокислотная последовательность типичного примера человеческого сортилина представляет собой SEQ ID NO: 81.

Термины "антитело против сортилина", "антитело, которое связывается с сортилином", и "антитело, которое специфически связывает сортилин" относятся к антителу, которое способно связывать сортилин с достаточной аффинностью таким образом, чтобы антитело было пригодно для использования в качестве диагностического и/или терапевтического агента при нацеливании на сортилин. В одном варианте реализации, степень связывания антитела против сортилина с неродственным, не относящимся к сортилину полипептидом, составляет менее примерно 10% от связывания антитела с сортилином, при измерении, например, методом радиоиммуноанализа (РИА). В некоторых вариантах реализации, антитело, которое связывается с сортилином, имеет константу диссоциации (KD) < 1 мкМ, < 100 нМ, < 10 нМ, < 1 нМ, $< 0,1$ нМ, $< 0,01$ нМ, или $< 0,001$ нМ (например, 10^{-8} М или меньше, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина связывается с эпитопом сортилина, который является консервативным для сортилина от разных видов.

Термин "иммуноглобулин" (Ig) используется в данном документе взаимозаменяемо с "антителом". Термин "антитело" используется в данном документе в самом широком смысле и особо охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), включая образованные по меньшей мере двумя интактными антителами, и фрагменты антител, при условии, что они проявляют желательную биологическую активность.

"Нативные антитела" представляют собой обычно гетеротетрамерные гликопротеины размером примерно 150000 Дальтон, состоящие из двух идентичных легких ("L") цепей и двух идентичных тяжелых ("H") цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как число дисульфидных связей в тяжелых цепях разных изоформ иммуноглобулина меняется. Каждая тяжелая и легкая цепь имеет также расположенные с равными промежутками внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце варибельный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет варибельный домен на

одном конце (V_L) и константный домен на другом ее конце; константный домен легкой цепи прилегает к первому константному домену тяжелой цепи, и переменный домен легкой цепи прилегает к переменному домену тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют поверхность раздела между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи.

Структура и свойства разных классов антител описаны, например, в Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr и Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, страница 71 и глава 6.

Легкая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различающихся типов, обозначенных каппа ("к") и лямбда ("λ"), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (СН), иммуноглобулины могут быть отнесены к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG, и IgM, имеющих тяжелые цепи, обозначаемые альфа ("α"), дельта ("δ"), эпсилон ("ε"), гамма ("γ"), и мю ("μ"), соответственно. Классы γ и α дополнительно делятся на подклассы (изотипы) на основании относительно незначительных различий в последовательности и функции СН, например, человек экспрессирует следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, и IgA2. Структуры и трехмерные конфигурации субъединиц разных классов иммуноглобулинов хорошо известны и описаны в общем, например, в Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

"Переменная область" или "переменный домен" антитела, такого как антитело против сортилина по данному изобретению, относится к аминокислотным доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут быть обозначены " V_H " и " V_L ", соответственно. Эти домены обычно являются наиболее переменными частями антитела (по сравнению с другими антителами того же класса) и содержат антигенсвязывающие сайты.

Термин "переменный" относится к тому факту, что определенные сегменты переменных доменов в значительной степени отличаются по последовательности у разных антител, таких как антитела против сортилина по данному изобретению. Переменный домен медирует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. Однако, изменчивость не распределена равномерно по всей протяженности переменных доменов. Вместо этого, она сконцентрирована в трех сегментах, называемых гиперпеременными участками (HVR) переменных доменов как легкой, так и тяжелой цепей. Более высококонсервативные участки переменных доменов называются каркасными участками (FR). Переменные домены нативных тяжелых и легких цепей содержат каждый четыре FR-участка, преимущественно принимающих конфигурацию бета-листов, соединенных тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие, и в некоторых случаях образующие часть структуры бета-листов. HVR в каждой цепи удерживаются на близком расстоянии друг к другу каркасными участками (FR) и, вместе с HVR другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

"Выделенное" антитело, такое как антитело против сортилина по данному изобретению, представляет собой антитело, которое было идентифицировано, отделено и/или извлечено из компонента среды его продуцирования (например, естественным путем или рекомбинантно). Предпочтительно, выделенный полипептид не связан со всеми другими загрязняющими компонентами из среды его продуцирования. Загрязняющие компоненты из среды его продуцирования, такие как образующие рекомбинантными трансфицированными клетками, представляют собой материалы, которые будут обычно препятствовать исследовательскому, диагностическому или терапевтическому применению антитела, и могут включать ферменты, гормоны, и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах реализации, полипептид будет очищен: (1) до более чем 95 мас.% антитела при определении, например, методом Лоури, и в некоторых вариантах реализации, до более чем 99 мас.%; (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней части аминокислотной последовательности при использовании секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до состояния гомогенности по методу ДСН-ПААГ в невозстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием окрашивания кумасси голубым или, предпочтительно, серебром. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных Т-клетках, поскольку по меньшей мере один компонент природной среды антитела будет отсутствовать. Обычно, однако, выделенный полипептид или антитело будут получены с использованием по меньшей мере одной стадии очистки.

Термин "моноклональное антитело", в используемом в данном документе значении, относится к антителу, такому как моноклональное антитело против сортилина по данному изобретению, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. индивидуальные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования и т.д.), которые могут присутствовать в не-

значительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, будучи направленными против одного антигенного сайта. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые типично включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одного детерминанта оп антиген. В дополнение к своей специфичности, моноклональные антитела имеют то преимущество, что они синтезируются гибридной культурой, незагрязненными другими иммуноглобулинами. Определение "моноклональный" указывает на характер антитела как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и не подразумевает требования продуцирования антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела для использования в соответствии с данным изобретением могут быть приготовлены различными способами, включая, без ограничений, один или несколько из следующих способов - методы иммунизации животных включая, без ограничений, крыс, мышей, кроликов, морских свинок, хомячков и/или кур, чем-то одним или несколькими из ДНК, вирусоподобных частиц, полипептида (polypeptide) (полипептидов), и/или клетки (клеток), гибридомные методы, методы клонирования В-клеток, методы рекомбинантных ДНК, и технологии продуцирования человеческого или человекоподобных антител у животных, имеющих часть или все локусы человеческого иммуноглобулина или гены, кодирующие последовательности человеческого иммуноглобулина.

Термины "полноразмерное антитело", "интактное антитело" или "цельное антитело" используются взаимозаменяемо по отношению к антителу, такому как антитело против сортилина по данному изобретению, в его по существу интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. Более конкретно, цельные антитела включают антитела с тяжелыми и легкими цепями, включая Fc-область. Константные домены могут быть константными доменами с нативными последовательностями (например, человеческими константными доменами с нативными последовательностями) или вариантами их аминокислотных последовательностей. В некоторых случаях, интактное антитело может иметь одну или несколько эффекторных функций.

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

Папаиновый гидролиз антител, таких как антитела против сортилина по данному изобретению, дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых "Fab"-фрагментами, и остаточный "Fc"-фрагмент, название которого отображает способность легко кристаллизоваться. Fab-фрагмент состоит из легкой (L) цепи вместе с доменом переменной области тяжелой (H) цепи (V_H), и первым константным доменом одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый фрагмент Fab является моновалентным по связыванию антигена, т.е. он имеет один антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином дает один большой F(ab')₂-фрагмент, который соответствует приблизительно двум дисульфидно-связанным Fab-фрагментам, имеющим разную антигенсвязывающую активность и сохраняющим способность к перекрестному связыванию антигена. Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов наличием нескольких дополнительных остатков на карбоксильном конце домена C_{H1}, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела. Fab'-SH используется в данном документе для обозначения Fab', в котором цистеиновый остаток (остатки) константных доменов несет свободную тиольную группу. F(ab')₂-фрагменты антител первоначально получали в виде пар Fab'-фрагментов, между которыми расположены шарнирные цистеины. Известны также другие химические сочетания фрагментов антител.

Fc-фрагмент содержит карбоксиконцевые участки обеих H-цепей, удерживаемые вместе дисульфидными связями. Эффекторные функции антител определяются последовательностями в Fc-области, в области, которую распознают также Fc-рецепторы (FcR), присутствующие на определенных типах клеток.

"Fv" представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный антигенраспознающий и -связывающий сайт. Этот фрагмент состоит из димера доменов переменной области одной тяжелой и одной легкой цепей с сильными нековалентными связями. При укладке этих двух доменов образуются шесть гипервариабельных петель (по 3 петли в каждой из H- и L-цепей), аминокислотные остатки которых участвуют в связывании антигена и придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако, даже один переменный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем целый связывающий сайт.

"Одноцепочечный Fv", также сокращенно обозначаемый "sFv" или "scFv", обозначает фрагменты антител, которые содержат домены V_H и V_L антитела, соединенные в одну полипептидную цепь. Предпочтительно, полипептид sFv дополнительно содержит полипептидный линкер между V_H и V_L доменами, который дает возможность sFv образовывать желательную для связывания антигена структуру. Обзор sFv приведен Pluckthun в The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

"Функциональные фрагменты" антител, таких как антитела против сортилина по данному изобрете-

нию, содержат часть интактного антитела, как правило, включая антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела или F-участок антитела, который сохраняет или имеет модифицированную FcR-связывающую способность. Примеры фрагментов антител включают линейное антитело, одноцепочечные молекулы антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Термин "диатела" относится к малым фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов sFv (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (примерно 5-10 остатков) между V_H и V_L -доменами таким образом, чтобы обеспечивалась межцепочечное, но не внутрицепочечное спаривание вариабельных доменов, с образованием в результате бивалентного фрагмента, т.е. фрагмента, имеющего два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух "кроссинговых" фрагментов sFv, в которых домены V_H и V_L двух антител находятся в разных полипептидных цепях.

В используемом в данном документе значении, "химерное антитело" относится к антителу (иммуноглобулину), такому как химерное антитело против сортилина по данному изобретению, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующей последовательности антител, полученных от определенного вида или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, в то время как остальная цепь (цепи) идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, полученных от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, при условии, что они проявляют желательную биологическую активность. Химерные антитела, представляющие интерес для данного изобретения, включают антитела PRIMATIZED®, в которых антигенсвязывающий участок антитела получают из антитела, продуцируемого путем, например, иммунизации макака антигеном, представляющим интерес. В используемом в данном документе значении, "гуманизованное антитело" используется как подмножество (is used a subset) "химерных антител".

"Гуманизованные" формы не принадлежащих человеку (например, мышинных) антител, таких как гуманизованные формы антител против сортилина по данному изобретению, представляют собой химерные антитела, содержащие аминокислотные остатки из не принадлежащих человеку HVR и аминокислотные остатки из человеческих FR. В некоторых вариантах реализации, гуманизованное антитело будет содержать по существу полностью по меньшей мере один, и типично два, вариабельных домена, в которых все или по существу все HVR (например, CDR) соответствуют не принадлежащему человеку антителу, и все или по существу все FR соответствуют человеческому антителу. Гуманизованное антитело необязательно может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, полученной из человеческого антитела. "Гуманизованная форма" антитела, например, не принадлежащего человеку антитела, относится к антителу, которое было подвергнуто гуманизации.

"Человеческое антитело" представляет собой антитело, имеющее аминокислотную последовательность, соответствующую антителу, такому как антитело против сортилина по данному изобретению, продуцируемое человеком и/или приготовленное с использованием любых методов получения человеческих антител, как раскрыто в данном документе. Это определение человеческого антитела прямо исключает гуманизованное антитело, содержащее не принадлежащие человеку антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут продуцироваться с использованием различных методов, известных специалистам, включая библиотеки фагового дисплея и технологии на платформе использования дрожжей. Человеческие антитела могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано для продуцирования таких антител в ответ на антигенный стимул, но с заблокированными эндогенными локусами, например, иммунизированным ксеномышам, а также посредством технологии человеческой B-клеточной гибридомы.

Термин "гипервариабельный участок", "HVR", или "HV", при использовании в данном документе относится к областям вариабельного домена антитела, такого как антитела против сортилина по данному изобретению, которые являются гипервариабельными по последовательностям и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела содержат шесть HVR; три в V_H (H1, H2, H3), и три в V_L (L1, L2, L3). В нативных антителах, H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие шести HVR, и H3, в частности, как считается, играет уникальную роль в придании антителам тонкой специфичности. Природные антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи.

Используется ряд определений HVR, которые включены в данный документ. В некоторых вариантах реализации, HVR могут быть областями, определяющими комплементарность (CDR), по Кабату (Kabat), основанными на изменчивости последовательностей и наиболее часто используемыми (Kabat et al., выше). В некоторых вариантах реализации, HVR могут представлять собой CDR по Чотиа (Chothia). Система Чотиа отличается использованием расположения структурных петель (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах реализации, HVR могут представлять собой HVR согласно AbM. AbM HVR являются компромиссом между CDR по Кабату и структурными петлями Чотиа, и используются в программе моделирования антител AbM фирмы Oxford Molecular. В некоторых вариантах реализации, HVR могут быть "контактными" HVR. "Контактные" HVR основаны на анализе дос-

тупных структур сложных кристаллов. Остатки каждого из этих HVR указаны ниже.

Пегля	Кабат	AbM	Чотиа	Контакт
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (нумерация по Кабату)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация по Чотиа)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

HVR могут включать "расширенный HVR" (extended HVR) следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (предпочтительный вариант реализации) (H2), и 93-102, 94-102, или 95-102 (H3) в VH. Остатки варибельного домена пронумерованы в соответствии с Kabat et al., выше, для каждого из этих определений расширенных HVR.

"Каркасные" или "FR" остатки представляют собой остатки варибельного домена, отличные от остатков HVR, как было определено в данном документе.

"Человеческий каркас-акцептор", в используемом в данном документе значении, представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркаса V_L или V_H , полученную из каркаса человеческого иммуноглобулина или человеческого консенсусного каркаса. Человеческий каркас-акцептор, "полученный из" каркаса человеческого иммуноглобулина или человеческого консенсусного каркаса, может содержать ту же самую его аминокислотную последовательность, или же он может содержать заданные изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах реализации, число заданных аминокислотных изменений составляет 10 или меньше, 9 или меньше, 8 или меньше, 7 или меньше, 6 или меньше, 5 или меньше, 4 или меньше, 3 или меньше, или 2 или меньше. В тех случаях, когда заданные аминокислотные изменения присутствуют в VH, предпочтительно, такие изменения находятся только в трех, двух или одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотными остатками в этих положениях могут быть (may be) 71A, 73T и/или 78A. В одном варианте реализации, человеческий каркас-акцептор VL является идентичным по последовательности с каркасной последовательностью V_L человеческого иммуноглобулина или человеческой консенсусной каркасной последовательностью.

"Человеческий консенсусный каркас" является каркасом, который представляет наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки в выбранных каркасных последовательностях V_L или V_H человеческого иммуноглобулина. Как правило, выбор последовательностей V_L или V_H человеческого иммуноглобулина проводят из подгруппы последовательностей варибельного домена. Как правило, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу согласно Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают для V_L подгруппу, которая может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как в Kabat et al., выше. Дополнительно, для V_H , подгруппа могут быть подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как в Kabat et al., выше.

"Аминокислотная модификация" в определенном положении, например, антитела против сортилина по данному изобретению, относится к замене или делеции определенного остатка, или инсерции по меньшей мере одного аминокислотного остатка рядом с определенным остатком. Инсерция "рядом" с определенным остатком означает инсерцию на расстоянии от одного до двух остатков от него. Инсерция может быть N-концевой или C-концевой по отношению к определенному остатку. Предпочтительная аминокислотная модификация в данном документе представляет собой замену.

Антитело "с созревшей аффинностью", такое как антитело против сортилина по данному изобретению, представляет собой антитело с одним или несколькими изменениями в одном или нескольких его HVR, которые приводят к повышению аффинности антитела к антигену, по сравнению с исходным антителом, не имеющим такого изменения (изменений). В одном варианте реализации, антитело с созревшей аффинностью имеет наномолярную или даже пикомолярную аффинность к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью получают с использованием процедур, известных специалистам. Например, Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992) описывает созревание аффинности путем перетасовки VH- и VL-доменов. Неспецифический мутагенез HVR и/или каркасных остатков описаны, например, в Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); и Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992).

В используемом в данном документе значении, термин "специфически распознает" или "специфически связывается" относится к измеримым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как притяжение или связывание между мишенью и антителом, таким как антитело против сортилина по данному

изобретению, которое позволяет определять присутствие мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, такое как антитело против сортилина по данному изобретению, которое специфически или предпочтительно связывается с мишенью или эпитопом, представляет собой антитело, которое связывает эту мишень или эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко, и/или на более длительный период времени, чем оно связывается с другими мишенями или другими эпитопами мишени. Это определение также подразумевает, что, например, антитело (или фрагмент), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью, или не связываться с ней таким образом. По существу, "специфическое связывание" или "предпочтительное связывание" не требует обязательно (хотя оно может включать) исключительного связывания. Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь константу ассоциации, равную по меньшей мере примерно 10^3 M^{-1} или 10^4 M^{-1} , иногда примерно 10^5 M^{-1} или 10^6 M^{-1} , в других случаях примерно 10^6 M^{-1} или 10^7 M^{-1} , примерно от 10^8 M^{-1} до 10^9 M^{-1} , или от примерно 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше. Различные форматы иммуноанализов могут быть использованы для выбора антител, специфически иммунореактивных по отношению к конкретному белку. Например, твердофазные ИФА-иммуноанализы обычно используются для выбора моноклональных антител, специфически иммунореактивных по отношению к белку. См., например, Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, где описаны форматы и условия иммуноанализов, которые могут быть использованы для определения специфической иммунореактивности.

В используемом в данном документе значении, "взаимодействие" между белком сортилином и вторым белком охватывает, без ограничений, белок-белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. В используемом в данном документе значении, антитело "ингибирует взаимодействие" между двумя белками, когда антитело нарушает, ослабляет или полностью устраняет взаимодействие между этими двумя белками. Антитело по данному изобретению, или его фрагмент, "ингибирует взаимодействие" между двумя белками, когда антитело или его фрагмент связывается с одним из двух белков.

"Агонистическое" антитело или "активирующее" антитело представляет собой антитело, такое как агонистическое антитело против сортилина по данному изобретению, которое индуцирует (например, усиливает) одну или несколько активностей или функций антигена после связывания антитела с антигеном.

"Блокирующее" антитело, "антагонистическое" антитело, или "ингибирующее" антитело представляет собой антитело, такое как антитело против сортилина по данному изобретению, которое ингибирует или ослабляет (например, снижает) связывание антигена с одним или несколькими лигандами после связывания антитела с антигеном, и/или ингибирует или ослабляет (например, снижает) одну или несколько активностей или функций антигена после связывания антитела с антигеном. В некоторых вариантах реализации, блокирующие антитела, антагонистические антитела, или ингибирующие антитела в значительной степени или полностью ингибируют связывание антигена с одним или несколькими лигандами и/или одну или несколько активностей или функций антигена.

"Эффекторные функции" антитела относятся к тем биологическим активностям, которые могут быть приписаны Fc-участку (нативной последовательности Fc-участка или варианту аминокислотной последовательности Fc-участка) антитела, и меняются в зависимости от изотипа антитела.

Термин "Fc-область" используется в данном документе для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-участков. Хотя границы Fc-участка тяжелой цепи иммуноглобулина могут меняться, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как протяженный от аминокислотного остатка в положении Cys226, или от Pro230, до его карбоксильного конца. C-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) Fc-участка может быть удален, например, при продуцировании или очистке антитела, или путем рекомбинантного модифицирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител с полностью удаленными остатками K447, популяции антител с неудаленными остатками K447, и популяции антител со смесью антител, содержащих остаток K447 и без него. Пригодные Fc-области с нативной последовательностью для использования в антителах по данному изобретению включают человеческие IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

"Fc-область с нативной последовательностью" содержит аминокислотную последовательность, идентичную природной аминокислотной последовательности Fc-участка. Человеческие Fc-области с нативными последовательностями включают Fc-область человеческого IgG1 с нативной последовательностью (аллотипы не-A и A); Fc-область человеческого IgG2 с нативной последовательностью; Fc-область человеческого IgG3 с нативной последовательностью; и Fc-область человеческого IgG4 с нативной последовательностью, а также их природные варианты.

"Вариант Fc-участка" содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-участка вследствие по меньшей мере одной аминокислотной модификации, предпочтительно, одной или нескольких аминокислотных замен. Предпочтительно, вариант Fc-

участка имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-участка или с Fc-участком исходного полипептида, например, от примерно одной до примерно десяти аминокислотных замен, и предпочтительно, от примерно одной до примерно пяти аминокислотных замен, в нативной последовательности Fc-участка или в Fc-области исходного полипептида. Вариант Fc-участка в данном документе будет предпочтительно обладать по меньшей мере примерно 80% гомологии с нативной последовательностью Fc-участка и/или Fc-участком исходного полипептида, и наиболее предпочтительно, по меньшей мере примерно 90% гомологии с ними, более предпочтительно, по меньшей мере примерно 95% гомологии с ними.

"Fc рецептор" или "FcR" описывает рецептор, который связывается с Fc-участком антитела. Предпочтительный FcR представляет собой человеческий FcR с нативной последовательностью. Кроме того, предпочтительным является FcR, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и формы альтернативного сплайсинга этих рецепторов, FcγRII рецепторы включают FcγRIIA ("активирующий рецептор") и FcγRIIB ("ингибирующий рецептор"), которые имеют схожие аминокислотные последовательности, различающиеся преимущественно в их цитоплазматических доменах. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный тирозин-активируемый мотив ("ITAM") в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив ("ITIM") в своем цитоплазматическом домене. Термин "FcR" в данном документе охватывает другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем. FcR могут также увеличивать период полувыведения антител сыворотки. В используемом в данном документе значении, "процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей" и "гомология" по отношению к последовательности пептида, полипептида или антитела относится к процентному содержанию в последовательности-кандидате аминокислотных остатков, идентичных аминокислотным остаткам в определенной пептидной или полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо для достижения максимального процента идентичности последовательностей, и без учета каких-либо консервативных замен при определении идентичности последовательностей. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть проведено различными способами, доступными специалистам в данной области техники, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программы BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, известные специалистам, необходимые для достижения максимального выравнивания по полной длине сравниваемых последовательностей.

"Выделенная" клетка представляет собой молекулу или клетку (cell is a molecule or a cell), которая была идентифицирована и отделена от по меньшей мере одной загрязняющей клетки, с которой она обычно ассоциирована в среде ее продуцирования. В некоторых вариантах реализации, выделенная клетка освобождена от всех компонентов, связанных со средой продуцирования. Выделенная клетка находится в форме, отличной от формы или условий, в которых она существует в природе. Выделенные клетки отличаются от клеток, существующих в природных условиях в тканях, органах или индивидуумах. В некоторых вариантах реализации, выделенная клетка представляет собой клетку-хозяина по данному изобретению.

"Выделенная" молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое как антитело против сортилина по данному изобретению, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которую идентифицируют и отделяют от по меньшей мере одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно ассоциирована в среде, в которой ее продуцируют. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не связана со всеми компонентами, ассоциированными со средой продуцирования. Молекулы выделенной нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела по данному изобретению, находятся в форме, отличной от формы или условий, в которых они существуют в природе. Молекулы выделенной нуклеиновой кислоты, таким образом, отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела по данному изобретению, присутствующей в клетках в естественных условиях.

Термин "вектор", в используемом в данном документе значении, должен относиться к молекуле нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она была связана. Один тип вектора представляет собой "плазмиду", которая относится к кольцевым двухцепочечным ДНК, в которые могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой фаговый вектор. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, в котором дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую их вводят (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина.

Кроме того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе "рекомбинантные экспрессионные векторы", или просто "экспрессионные векторы". В общем, экспрессионные векторы, пригодные для использования в методах рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании, "плазида" и "вектор" могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее широко применяемой формой вектора.

"Полинуклеотид", или "нуклеиновая кислота", используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам нуклеотидов любой длины, и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут быть дезоксирибонуклеотидами, рибонуклеотидами, модифицированными нуклеотидами или основаниями, и/или их аналогами, или любым субстратом, который может быть включен в полимер ДНК- или РНК-полимеразой или с помощью реакции синтеза.

"Клетка-хозяин" включает индивидуальную клетку или клеточную культуру, которая может быть или была реципиентом вектора (векторов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство не обязательно будет полностью идентичным (по морфологии или по комплекту геномной ДНК) исходной родительской клетке вследствие природной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом (полинуклеотидами) по данному изобретению.

"Носители" в используемом в данном документе значении включают фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, подвергнутого их воздействию, в используемых дозировках и концентрациях.

Термин "примерно" в используемом в данном документе значении относится к обычному диапазону ошибки для соответствующего значения, хорошо известному специалистам в данной области техники. Указание "примерно" для значения или параметра в данном документе включает (и описывает) варианты реализации, которые касаются данного значения или параметра *per se*.

В используемом в данном документе значении и в приложенной формуле изобретения, формы в единственном числе включают указания на множественное число, если контекст четко не указывает иное. Например, ссылка на "антитело" представляет собой ссылку на от одного до множества антител, такого как молярные количества, и включает их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и т.д.

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

Обзор.

Данное изобретение относится, частично, к антителам против сортилина, которые демонстрируют одну или несколько улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик по сравнению с антителом против сортилина, S-60, имеющим вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, как описано в WO2016164637. Неограничительные улучшенные и/или повышенные функциональные свойства включают, например, антитела, способные связывать сортилин с более высокой аффинностью, уменьшать уровни сортилина клеточной поверхности, уменьшать полумаксимальную эффективную концентрацию (EC_{50}) для снижения уровней сортилина клеточной поверхности, улучшать максимальное снижение уровней сортилина клеточной поверхности, повышать внеклеточную секрецию лиганда сортилина: например, програнулина (PGRN), уменьшать полумаксимальную эффективную концентрацию (EC_{50}) для блокирования связывания програнулина (PGRN) с сортилином, улучшать максимальное блокирование связывания програнулина (PGRN) с сортилином, или любые их комбинации. В данном документе также предусматриваются антитела против сортилина с разными вариантами Fc, которые демонстрируют одну или несколько улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик, включая уменьшение полумаксимальной эффективной концентрации (EC_{50}) для снижения уровней сортилина клеточной поверхности, увеличение максимального снижения уровней сортилина клеточной поверхности, повышение внеклеточной секреции лиганда сортилина: например, програнулина (PGRN), уменьшение полумаксимальной эффективной концентрации (EC_{50}) для блокирования связывания програнулина (PGRN) с сортилином, и увеличение максимального блокирования связывания програнулина (PGRN) с сортилином.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению обладают более высокой активностью снижения уровней сортилина клеточной поверхности по сравнению с антителом против сортилина, имеющим вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, активность измеряют по полумаксимальной эффективной концентрации (EC_{50}) при снижении уровней клеточной поверхности SORT1.

Данное изобретение дополнительно относится к способам получения и применения антитела против сортилина, как описано в данном документе; фармацевтическим композициям, содержащим такие антитела; нуклеиновым кислотам, кодирующим такие антитела; и клеткам-хозяевам, содержащим нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут

иметь одну или несколько активностей, которые вызваны, по крайней мере частично, способностью антител снижать уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина путем индуцирования деградациии, снижения экспрессии (down regulation), расщепления, десенсибилизации рецептора, и/или лизосомального нацеливания сортилина. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина проявляют одно или несколько из следующих свойств: а) имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет более низкое значение, чем у антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60; б) Снижение уровней сортилина клеточной поверхности (например, снижение уровней сортилина клеточной поверхности на рекомбинантных клетках, экспрессирующих человеческий сортилин *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}) имеющей более низкое значение, чем у антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60; в) имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая может находиться в диапазоне значений от примерно 0,560 нМ до примерно 1,63 нМ, например, при определении K_D методом сортировки клеток с активацией флуоресценции (FACS); д) имеют константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая может находиться в диапазоне значений от примерно 0,270 нМ до примерно 2,910 нМ, например, при определении K_D методом интерферометрии биослоев; е) снижают уровни сортилина клеточной поверхности (например, снижают уровни сортилина клеточной поверхности на рекомбинантных клетках, экспрессирующих человеческий сортилин *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая может находиться в диапазоне значений от примерно 72,58 пМ до примерно 103,6 пМ, например, при определении EC_{50} *in vitro* методом FACS; ф) снижают уровни сортилина клеточной поверхности с максимальной величиной снижения, которая может находиться в диапазоне значений от примерно 51,33% до 88,76%; г) увеличивают внеклеточную секрецию PGRN сильнее, чем антитела против сортилина, имеющие переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60; h) блокируют связывание PGRN с сортилином (например, блокируют связывание PGRN для сортилина на рекомбинантных клетках, экспрессирующих человеческий сортилин *in vitro*) с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая может находиться в диапазоне значений от примерно 325 нМ до примерно 2,27 нМ, например, при определении EC_{50} *in vitro* методом FACS; и/или и) увеличивают максимальное блокирование связывания програнулина (PGRN) с сортилином сильнее, чем антитела против сортилина, имеющие переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60.

Предпочтительно, антитела против сортилина по данному изобретению сильнее (например, с более низким значением EC_{50}) снижают уровни сортилина клеточной поверхности (например, до приблизительно 3,02 раз) по сравнению с контрольным антителом против сортилина (например, контрольным антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) (см., например, пример 2). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению сильнее снижают связывание PGRN с сортилином, с более низким значением EC_{50} (до приблизительно 5,36 раз) по сравнению с контрольным антителом против сортилина (например, контрольным антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) (см., например, пример 3). Кроме того, предпочтительно, антитела против сортилина по данному изобретению имеют более высокую аффинность (например, до приблизительно 2,79 раз более высокую аффинность) к сортилину (например, более низкое значение K_D при измерении методом FACS или интерферометрии биослоев) по сравнению с контрольным антителом против сортилина (например, контрольным антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60 (см., например, примеры 1 и 4). Неожиданно, более высокая аффинность к сортилину не обязательно коррелирует ни с увеличением способности или активности снижения уровней сортилина клеточной поверхности (см., например, примеры 2 и 4), ни с увеличением способности или активности блокирования связывания PGRN с сортилином (см., например, примеры 3 и 4).

Данное изобретение дополнительно относится к антителам против сортилина с улучшенной стабильностью при производстве, хранении, и *in vivo* введении. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют улучшенную стабильность при различных стрессовых условиях (см., например, пример 4).

Белки сортилина.

В одном аспекте, данное изобретение предусматривает антитела, такие как выделенные (например, моноклональные) антитела, которые взаимодействуют с, или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в белке сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, антитела взаимодействуют с, или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в белке сортилина по данному изобретению с улучшенной/повышенной кинетикой (например, по сравнению с антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела взаимодействуют с, или иначе связываются с областью, такой как эпитоп, в человеческом белке сортилина, с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), которая ниже значения для контрольного антитела (например, по сравнению с антителом

против сортилина, имеющим вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином и модулируют одну или несколько активностей сортилина после связывания с белком сортилином, например, активность, связанную с экспрессией сортилина на клетке. Белки сортилина по данному изобретению включают, без ограничений, белок сортилин млекопитающих, человеческий белок сортилин, мышинный белок сортилин, и белок сортилин крысы. Типичные примеры последовательностей белка сортилина приведены в табл. 32.

Сортилин по-разному называется сортилин 1, SORT1, 100 кДа NT (нейротензин) рецептор, глико-протеин 95 (GP95), рецептор програнулина (PGRN-R), и рецептор нейротензина-3 (NT-3 или NTR-3). Сортилин представляет собой белок размером 831 аминокислот, который кодирует мембранный рецептор типа I. Известны различные гомологи сортилина, включая, без ограничений, человеческий сортилин, сортилин крысы, и мышинный сортилин. Аминокислотная последовательность человеческого сортилина приведена ниже как SEQ ID NO: 81 (ключевые аминокислотные остатки, прогнозируемо участвующие в связывании програнулина, выделены жирным шрифтом, и прогнозируемый участок связывания про-NGF (фактор роста нервной ткани) выделен подчеркиванием

```

10 20 30 40 50
MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLLQLLPPS TLSQDRLDAP PPPAAPLPRW
60 70 80 90 100
SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRWRRSAP GEDEECGRVR DFKVAKLANNT
110 120 130 140 150
HQHVFDLDRG SVLSWVGDS TGVILVLTTF HVPLVIMTEG QSKLYRSEDY
160 170 180 190 200
GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGGRIFRS
210 220 230 240 250
SDFAKNFVQTDLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE
260 270 280 290 300
EИHKAVCLAK WGSNDTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG
310 320 330 340 350
VKIYSFGLGG RFLFASVMAD KDTTRRIHVS TDQGDWWSMA QLPSVGGQEQF
360 370 380 390 400
YSILAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFTSD DRGIVYSKSL DRHLYTTGG
410 420 430 440 450
ETDFTNVTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA
460 470 480 490 500
TAKNKNECSL HIHASYISQ KLNVPMAPLS EPNAVGVIVIA HGSVGDALSV
510 520 530 540 550
MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYYTILDS GGIIVAIEHS SRPINVIKFS
560 570 580 590 600

```

TDEGQCWQTY TFRDPIYFT GLASEPGARS MNISIWGFTE SELTSQWVSY

610 620 630 640 650

TIDFKDILER NCEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFLRLRKSSV

660 670 680 690 700

CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGYYPENDSKCVE QPELKGHDLE

710 720 730 740 750

FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ

760 770 780 790 800

NSKSNSVPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSVLQQAHE

810 820 830

ANGVDGVDAL DTASHTNKSG YHDDSDEDLLE

Аминокислотная последовательность мышинного сортилина представлена SEQ ID NO: 82:

MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG
 PVGVSWGLRA AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ
 HVFDDLSGSV SLSWVG DSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDY GK
 NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD
 FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI
 HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK
 IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVQGEQFYS
 ILAANEDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET
 DFTNVTSLRG VYITSTLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLRK PENSKCDATA
 KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIVIAHG SVGDAISVMV
 PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIHSNR PINVIKFSTD
 EGQCWQSYVF TQEPYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESE ITRQWVSYTV
 DFKDILERNCEEDDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ
 NGRDYVVAQK PSVCPCLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC
 LYGKEEHLTT NGYRKIPGDK CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPKQNS
 KSNSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKYYV CGGRFLVHRY SVLQQAHAED
 GVEALDSTSH AKSGYHDDSD EDLLE

Аминокислотная последовательность сортилина крысы представлена SEQ ID NO: 83:

MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLLPPAAV GQDRLDAPPP PAPPLLRWAG
 PVGVSWGLRA AAPGGPVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ
 HVFDDLSGSV SLSWVG DSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDY GK
 NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGGRVFRSSD
 FAKNFVQTDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI
 HKAVCLAKWG PNNIIFFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK
 IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVQGEQFYS
 ILAANDDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGGET
 DFTNVTSLRG VYITSTLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLQK PENSKCDATA
 KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIVIAHG SVGDAISVMV
 PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYYTILDSGG IIVAIHSNR PINVIKFSTD
 EGQCWQSYVF SQEPVYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESE LTRQWVSYTI
 DFKDILERNCEENDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ
 NGRDYVVAQK PSICPCLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC
 LYGKEEHLTT NGYRKIPGDR CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPKQNS
 KSSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKYYV CGGRFLVHRY SVLQQAHAED
 GVEALDTASH AKSGYHDDSD EDLLE

В некоторых вариантах реализации, сортилин представляет собой препротейн, включающий сигнальную последовательность. В некоторых вариантах реализации, сортилин представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах реализации, зрелый белок сортилин не включает сигнальную последовательность. В некоторых вариантах реализации, зрелый белок сортилин экспрессируется на клетке.

Белки сортилина по данному изобретению включают несколько доменов, включая, без ограничений, сигнальную последовательность, пропептид, люминальный домен, домен Vps10p, домен 10 СС, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. Дополнительно, белки по данному изобретению экспрессируются с высокими уровнями в ряде тканей, включая, без ограничений, головной мозг, спинной мозг, сердечную и скелетные мышцы, щитовидную железу, плаценту и яички.

Соответственно, в используемом в данном документе значении белок "сортилина" по данному изобретению включает, без ограничений, белок сортилин млекопитающих, человеческий белок сортилин, белок сортилин приматов, мышинный белок сортилин, и белок сортилин крысы. Дополнительно, антитела против сортилина по данному изобретению могут связывать эпитоп одного или нескольких из белка сор-

тилина млекопитающих, человеческого белка сортилина, сортилина приматов, мышинового белка сортилина, и белка сортилина крысы.

Домены белка сортилина.

Белки сортилина по данному изобретению содержат несколько доменов, таких как домен Vps10p, который содержит мотив Asp-бокса, десятилопастную структуру бета-пропеллера, и гидрофобную петлю; и домен 10 CC.

Как раскрыто в данном документе, взаимодействия между белками сортилина по данному изобретению и пронеуротрофинами или нейротрофинами опосредуются доменом Vps10p, который содержит структуру десятилопастного бета-пропеллера и мотив Asp-бокса. В некоторых вариантах реализации, белки сортилина по данному изобретению содержат домен Vps10p, который включает структуру десятилопастного бета-пропеллера и расположен в аминокислотных остатках 78-611 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или в аминокислотных остатках сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 78-611 SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах реализации, аминокислотные остатки 190-220 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или аминокислотные остатки сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 190-220 SEQ ID NO: 81, расположены в домене Vps10p.

Домены Vps10p по данному изобретению могут включать мотив Asp-бокса. В используемом в данном документе значении, мотивы Asp-бокса имеют следующую последовательность: (S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y) (SEQ ID NO: 84), или X-X-(S/T)-X-(D/N)-X-G-X-(T/S)-(W/F/Y)-X (SEQ ID NO: 85), где X представляет собой любую аминокислоту. В человеческом сортилине, мотив Asp-бокса представляет собой SSDFAKNF (SEQ ID NO: 86), и расположен в аминокислотных остатках 200-207 человеческого сортилина. Соответственно, в некоторых вариантах реализации, мотив Asp-бокса расположен в аминокислотных остатках 200-207 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или аминокислотных остатках сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 200-207 SEQ ID NO: 81.

Как раскрыто в данном документе, взаимодействиям между белками сортилина по данному изобретению и p75 опосредуются доменом 10CC гидрофобной петли домена Vps10p.

В некоторых вариантах реализации, белки сортилина по данному изобретению содержат домен 10CC, который расположен в аминокислотных остатках 610-757 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или аминокислотных остатках сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 610-757 SEQ ID NO: 81. В предпочтительных вариантах реализации, аминокислотные остатки 592-593, 610-660, и/или 667-749 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или аминокислотные остатки сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 592-593, 610-660, и/или 667-749 SEQ ID NO: 81, расположены в домене 10CC сортилина.

В других вариантах реализации, белки сортилина по данному изобретению содержат гидрофобную петлю в домене Vps10p, который расположен в аминокислотных остатках 130-141 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81) или аминокислотных остатках сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 130-141 SEQ ID NO: 81.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что начальные и конечные остатки доменов по данному изобретению могут меняться в зависимости от используемой программы компьютерного моделирования или способа, используемого для определения домена.

Партнеры связывания сортилина.

Белки сортилина по данному изобретению может взаимодействовать с (например, связываться с) одним или несколькими белками, включая, без ограничений, белок програнулина (PGRN); нейротрофины, такие как пронеуротрофины, пронеуротрофин-3, нейротрофин-3, пронеуротрофин-4/5, нейротрофин-4/5, про-фактор роста нервов (про-NGF), фактор роста нервов (NGF), про-мозговой нейротрофический фактор (про-BDNF), и мозговой нейротрофический фактор (BDNF); нейротензин, p75, липопротеинлипазу (LpL), аполипопротеин AV (APOA5), аполипопротеин E (APOE), белок-предшественник амилоида, амилоидный бета-пептид (A beta), PCSK9, p75NTR, и рецептор-ассоциированный белок (RAP).

Програнулин (PGRN).

Было продемонстрировано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) непосредственно с програнулином и опосредуют деградацию програнулина (например, Zheng, Y et al., (2011) PLoS ONE 6(6): e21023).

Програнулин по другому называется PGRN, проэпителин, гранулин-эпителиновый прекурсор, фактор роста клеток PC (рак простаты) (PCDGF), и акрогранин. Програнулин представляет собой белок размером 593 аминокислот, кодирующий секретлируемый гликопротеин 68,5 кДа, имеющий 7,5 повторов меньших мотивов гранулина (эпителина), в диапазоне размеров 6-25 кДа, который может быть протеолитически отщеплен от прекурсора PGRN. Примеры продуктов расщепления програнулина включают, без ограничений, гранулин А/эпителины 1, гранулин В/эпителины 2, гранулин С, гранулины D, гранулин Е, гранулин F, гранулин G и любые другие известные пептидные продукты, полученные из програнулина.

Соответственно, антитела против сортилина по данному изобретению, которые повышают уровни програнулина, снижают уровни сортилина клеточной поверхности, и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, будут полезны для предотвращения, сни-

жения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных с пониженными уровнями экспрессии и/или активности програнулина, гибелью клеток (например, гибелью нейронных клеток), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением головного мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими болезнями сосудов, нежелательными симптомами нормального старения, деменцией, смешанной деменцией, болезнью Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалией, боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Гентингтона, таупатией, инсультом, острой травмой, хронической травмой, волчанкой, острым и хроническим колитом, болезнью Крона, воспалительной болезнью кишечника, неспецифическим язвенным колитом, малярией, эссенциальным тремором, волчанкой центральной нервной системы, болезнью Бехчета, болезнью Паркинсона, деменцией с тельцами Леви, мультисистемной атрофией, дегенерацией межпозвоночных дисков, синдромом Шая-Дрейджера, прогрессирующим надъядерным параличом, кортикобазальной ганглионарной дегенерацией, острым рассеянным энцефаломиелитом, гранулематозными расстройствами, саркоидозом, болезнями старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомой, пигментным ретинитом, дегенерацией сетчатки, инфекцией дыхательных путей, сепсисом, глазной инфекцией, системной инфекцией, воспалительными расстройствами, артритом, рассеянным склерозом, метаболическим нарушением, ожирением, инсулинорезистентностью, диабетом типа 2, повреждением ткани или сосудов, травмой, и/или одним или несколькими нежелательными симптомами нормального старения. Дополнительно, антитела против сортилина по данному изобретению, которые повышают уровни програнулина, снижают уровни сортилина клеточной поверхности, и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, могут ингибировать взаимодействие между сортилином и програнулином, могут индуцировать одну или несколько активностей програнулина, могут снижать эндосомальную интернализацию програнулина или его фрагментов, и/или могут увеличивать эффективную концентрацию програнулина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые повышают уровни програнулина, снижают уровни сортилина клеточной поверхности, и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, связываются с одной или несколькими аминокислотами из аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632, и/или 740-749 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или с аминокислотными остатками сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632, и/или 740-749 SEQ ID NO: 81. В других вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые повышают уровни програнулина, снижают уровни сортилина клеточной поверхности, и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, могут связывать одну или несколько аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающих, которые соответствуют одному или нескольким аминокислотным остаткам His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 SEQ ID NO: 81.

Другие лиганды сортилина.

Было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) непосредственно с пронеуротрофинами (например, про-NGF), которые несут про-домен и типично являются про-апоптотическими. Такое связывание может медиироваться через линейный эпитоп на сортилине, который соответствует аминокислотным остаткам 163-174 SEQ ID NO: 81. Также было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с нейротензином в бета-пропеллерной структуре сортилина, и было показано, что важный контакт приходится на серин в положении 283 человеческого сортилина.

Было также показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с низкоаффинным рецептором фактора роста нервов (NGF) (p75) в домене 10СС сортилина или гидрофобной петле домена Vps10p сортилина. Как раскрыто в данном документе, белки сортилина по данному изобретению могут функционировать как корецептор с p75 для пронеуротрофинов, которые индуцируют апоптотическую сигнализацию. Дополнительно было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с белком-предшественником амилоида (APP).

Было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связыва-

ваются) с липопротеинлипазой (LpL). Как раскрыто в данном документе, белки сортилина по данному изобретению связываются с и модифицируют деградацию LpL. Было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с аполипопротеином AV (APOA5). Как раскрыто в данном документе, белки сортилина по данному изобретению связываются с и модифицируют деградацию APOA5.

Было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с аполипопротеином E (APOE, APOE2, APOE3, APOE4). Как раскрыто в данном документе, белки сортилина по данному изобретению связываются с и модифицируют деградацию и транспорт APOE а также агентов, которые переносит APOE, таких как амилоидный бета-пептид (A beta). Кроме того, было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с рецептор-ассоциированным белком (RAP). Кроме того, было показано, что белки сортилина по данному изобретению взаимодействуют (например, связываются) с пропротеиновой конвертазой субтилизин/кексинового типа 9 (PCSK9), и секретируют ее в циркуляцию.

В некоторых вариантах реализации любого из антител против сортилина, антитела против сортилина по данному изобретению могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и одним или несколькими другими лигандами сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, один или несколько других лигандов представляют собой один или несколько из пронеуротрофинов, нейротензина, низкоаффинного рецептора фактора роста нервов (NGF) (p75), белка-предшественника амилоида, липопротеинлипазы, аполипопротеина AV, аполипопротеина, рецептор-ассоциированного белка, и/или пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9. Такие антитела могут быть полезны для предотвращения, снижения риска или лечения состояний и/или болезней, связанных с пониженными уровнями экспрессии и/или активности одного или нескольких других лигандов сортилина, гибелью клеток (например, гибелью нейронных клеток). В некоторых вариантах реализации, один или несколько других лигандов представляют собой один или несколько из пронеуротрофинов, нейротензина, низкоаффинного рецептора фактора роста нервов (NGF) (p75), белка-предшественника амилоида, липопротеинлипазы, аполипопротеина AV, аполипопротеина, рецептор-ассоциированного белка, и/или пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9.

Антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и одним или несколькими другими лигандами сортилина по данному изобретению, могут также предотвращать гибель клеток (например, апоптоз), индуцируемую одним или несколькими другими лигандами сортилина. В некоторых вариантах реализации, один или несколько других лигандов представляют собой один или несколько из пронеуротрофинов, нейротензина, низкоаффинного рецептора фактора роста нервов (NGF) (p75), белка-предшественника амилоида, липопротеинлипазы, аполипопротеина AV, аполипопротеина, рецептор-ассоциированного белка, и/или пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9.

В некоторых вариантах реализации любого из антител против сортилина, антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина по данному изобретению, связывают одну или несколько аминокислот в аминокислотных остатках 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632, и/или 740-749 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или в аминокислотных остатках сортилина млекопитающих, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632, и/или 740-749 SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах реализации, один или несколько других лигандов представляют собой один или несколько из пронеуротрофинов, нейротензина, низкоаффинного рецептора фактора роста нервов (NGF) (p75), белка-предшественника амилоида, липопротеинлипазы, аполипопротеина AV, аполипопротеина, рецептор-ассоциированного белка, и/или пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9.

В других вариантах реализации любого из антител против сортилина, антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина по данному изобретению, связывают одну или несколько аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающих, которые соответствуют одному или нескольким аминокислотным остаткам His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах реализации, один или несколько других лигандов представляют собой один или несколько из пронеуротрофинов, нейротензина, низкоаффинного рецептора фактора роста нер-

вов (NGF) (p75), белка-предшественника амилоида, липопротеинлипазы, аполипопротеина AV, аполипопротеина, рецептор-ассоциированного белка, и/или пропротеиновой конвертазы субтилизин/кексинового типа 9.

Антитела сортилина.

Определенные аспекты данного изобретения относятся к антителам против сортилина, имеющим одну или несколько улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют одну или несколько улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик по сравнению с антителом против сортилина, S-60, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, как описано в WO2016164637. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют аффинность к сортилину (например, человеческому сортилину), которая выше, чем у контрольного антитела против сортилина (например, контрольного антитела против сортилина, содержащего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина в большей степени и с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC50), которая ниже значения для контрольного антитела (например, контрольного антитела против сортилина, содержащего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению увеличивают максимальное снижение уровней сортилина на клеточной поверхности по сравнению с антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению увеличивают секрецию внеклеточного програнулина (PGRN) по сравнению с антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению блокируют связывание PGRN с сортилином в большей степени и с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC50), которая ниже значения для контрольного антитела (например, контрольного антитела против сортилина, содержащего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению увеличивают максимальное блокирование связывания програнулина (PGRN) с сортилином по сравнению с антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60.

В данном документе также предусматриваются антитела против сортилина с разными вариантами Fc, которые демонстрируют одну или несколько улучшенных и/или повышенных функциональных характеристик по сравнению с антителом против сортилина, содержащим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60, включая уменьшение полумаксимальной эффективной концентрации (EC50) для снижения уровня сортилина клеточной поверхности, увеличение максимального снижения уровня сортилина клеточной поверхности, повышение внеклеточной секреции PGRN, уменьшение полумаксимальной эффективной концентрации (EC50) для блокирования связывания програнулина (PGRN) с сортилином, и увеличение максимального блокирования связывания програнулина (PGRN) с сортилином.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой человеческое антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело

В предпочтительном варианте реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой моноклональное антитело.

Связывающий эпитоп антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином по данному изобретению и/или природными вариантами. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином, при этом белок сортилин представляет собой человеческий белок. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином, при этом белок сортилин представляет собой белок дикого типа. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином, при этом белок сортилин представляет собой природный вариант.

В определенных предпочтительных вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению специфически связываются с человеческим белком сортилином.

Определенные аспекты данного изобретения предусматривают антитела против сортилина, которые связывают прерывистый эпитоп сортилина. В некоторых вариантах реализации, прерывистый эпитоп сортилина содержит два или больше пептидов, три или больше пептидов, четыре или больше пептидов, пять или больше пептидов, шесть или больше пептидов, семь или больше пептидов, восемь или больше пептидов, девять или больше пептидов, или 10 или больше пептидов. В некоторых вариантах реализа-

ции, каждый из пептидов содержит пять или больше, шесть или больше, семь или больше, восемь или больше, девять или больше, 10 или больше, 11 или больше, 12 или больше, 13 или больше 14 или больше, 15 или больше, 16 или больше, 17 или больше, 18 или больше, 19 или больше, 20 или больше, 21 или больше, 22 или больше, 23 или больше, 24 или больше, 25 или больше, 26 или больше, 27 или больше, 28 или больше, 29 или больше, или 30 или больше аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 81; или пять или больше, шесть или больше, семь или больше, восемь или больше, девять или больше, 10 или больше, 11 или больше, 12 или больше, 13 или больше 14 или больше, 15 или больше, 16 или больше, 17 или больше, 18 или больше, 19 или больше, 20 или больше, 21 или больше, 22 или больше, 23 или больше, 24 или больше, 25 или больше, 26 или больше, 27 или больше, 28 или больше, 29 или больше, или 30 или больше аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающих, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 81. Другие аспекты данного изобретения предусматривают антитела против сортилина, которые связываются с конформационным эпитопом сортилина.

Определенные аспекты данного изобретения предусматривают антитела против сортилина, которые связываются с одной или несколькими аминокислотами из аминокислотных остатков 207-231 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или с аминокислотными остатками сортилина млекопитающих, соответствующими аминокислотным остаткам 207-231 SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина связываются с одной или несколькими аминокислотами аминокислотных остатков Thr218, Tyr222, Ser223, и/или Ser227 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающих, соответствующих аминокислотным остаткам Thr218, Tyr222, Ser223, и/или Ser227 SEQ ID NO: 81. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина связываются с одной или несколькими аминокислотами аминокислотных остатков F105, L108, R109, G110, I537, F569, E590, F592, L593, S595, и/или W597 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающих, соответствующих аминокислотным остаткам F105, L108, R109, G110, I537, F569, E590, F592, L593, S595, и/или W597 SEQ ID NO: 81. Другие аспекты данного изобретения предусматривают антитела против сортилина, которые связываются с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки (S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y), где X представляет собой любую аминокислоту (SEQ ID NO: 84).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и белком, выбранным из програнулина (PGRN), пронеуротрофина, нейротрофина, пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, про-фактора роста нервов (про-NGF), фактора роста нервов (NGF), про-мозгового нейротрофического фактора (про-BDNF), мозгового нейротрофического фактора (BDNF), нейротензина, p75, пропептида сортилина (Sort-pro), белка-предшественника амилоида (APP), бета-амилоидного (A beta) пептида, липопротеинлипазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9, и рецептор-ассоциированного белка (RAP). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и PGRN.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые связываются с белком сортилином по данному изобретению, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, пронеуротрофином-3, нейротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, нейротрофином-4/5, про-фактором роста нервов (про-NGF), фактором роста нервов (NGF), про-мозговым нейротрофическим фактором (про-BDNF), мозговым нейротрофическим фактором (BDNF), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), PCSK9, и рецептор-ассоциированным белком (RAP) путем снижения эффективных уровней сортилина, доступного для взаимодействия с этими белками на поверхности клетки или внутри клетки.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые связываются с белком сортилином по данному изобретению, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, пронеуротрофином-3, нейротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, нейротрофином-4/5, про-фактором роста нервов (про-NGF), фактором роста нервов (NGF), про-мозговым нейротрофическим фактором (про-BDNF), мозговым нейротрофическим фактором (BDNF), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), PCSK9, и рецептор-ассоциированным белком (RAP) путем индуцирования деградации сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с человеческим сортилином или его гомологом, включая, без ограничений, белок сортилин млекопитающих, или белок сортилин не являющегося человеком примата. В некоторых вариантах реализации,

антитела против сортилина по данному изобретению специфически связываются с человеческим сортилином. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с человеческим сортилином и не являются перекрестно реактивными с ортологами или гомологами сортилина других видов.

Конкурентное связывание антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного другого антитела против сортилина, выбранного из любых антител, указанных в табл. 1-29. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt) (дикого типа)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению конкурирует с одним или несколькими антителами против сортилина, выбранными из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24 и любой их комбинации, за связывание с сортилином, когда антитело против сортилина снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации, с сортилином на величину, составляющую от примерно 50% до 100%, по сравнению со связыванием с сортилином в отсутствие антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению конкурирует с одним или несколькими антителами против сортилина, выбранными из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации, за связывание с сортилином, когда антитело против сортилина снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации, с сортилином на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, или 100%, по сравнению со связыванием с сортилином в отсутствие антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению, которое снижает связывание одного или нескольких антител, выбранных из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации, с сортилином на 100% указывает на то, что антитело против сортилина по существу полностью блокирует связывание одного или нескольких антител, выбранных из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A],

S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации, с сортилином. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина и одно или несколько антител, выбранных из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации, присутствуют в количествах, которые соответствуют соотношению 10:1, соотношению 9:1, соотношению 8:1, соотношению 7:1, соотношению 6:1, соотношению 5:1, соотношению 4:1, соотношению 3:1, соотношению 2:1, соотношению 1:1, соотношению 0,75:1, соотношению 0,5:1, соотношению 0,25:1, соотношению 0,1:1, соотношению 0,075:1, соотношению 0,050:1, соотношению 0,025:1, соотношению 0,01:1, соотношению 0,0075:1 (0,0075: ratio), соотношению 0,0050:1, соотношению 0,0025:1, соотношению 0,001:1 (0,001: ratio), 0,00075:1, соотношению 0,00050:1, соотношению 0,00025:1, соотношению 0,0001:1 (0,0001: ratio), соотношению 1:10, соотношению 1:9, соотношению 1:8, соотношению 1:7, соотношению 1:6, соотношению 1:5, соотношению 1:4, соотношению 1:3, соотношению 1:2, соотношению 1:0,75, соотношению 1:0,5, соотношению 1:0,25, соотношению 1:0,1, соотношению 1:0,075, соотношению 1:0,050, соотношению 1:0,025, соотношению 1:0,01, соотношению 1:0,0075, соотношению 1:0,0050, соотношению 1:0,0025, соотношению 1:0,001, соотношению 1:0,00075, соотношению 1:0,00050, соотношению 1:0,00025, или соотношению 1:0,0001 антитела против сортилина к одному или нескольким антителам выбранным из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина присутствует в количественном избытке в диапазоне значений от примерно 1,5-кратного до 100-кратного, или больше 100-кратного, по сравнению с количеством одного или нескольких антител, выбранных из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина присутствует в количестве, являющимся примерно 2-кратным, 3-кратным, 4-кратным, 5-кратным, 6-кратным, 7-кратным, 8-кратным, 9-кратным, 10-кратным, 15-кратным, 20-кратным, 25-кратным, 30-кратным, 35-кратным, 40-кратным, 45-кратным, 50-кратным, 55-кратным, 60-кратным, 65-кратным, 70-кратным, 75-кратным, 80-кратным, 85-кратным, 90-кратным, 95-кратным, или 100-кратным избытком по сравнению с количеством одного или нескольких антител, выбранных из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с эпитопом человеческого сортилина, который является таким же или перекрывается с эпитопом сортилина, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из любых антител, указанных в табл. 1-29. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с эпитопом человеческого сортилина, который является таким же или перекрывается с эпитопом сортилина, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связывают по существу тот же эпитоп сортилина, что и связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из любых антител, указанных в табл. 1-29. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связывают по существу тот же эпитоп сортилина, что и связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5

[N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации. Подробное описание типичных методов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, приведены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", в *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

Любой пригодный конкурентный анализ или анализ связывания сортилина, известный специалистам, такой как анализ VІАсоге, анализы ИФА, или проточная цитометрия, могут быть использованы для определения того, конкурирует ли антитело против сортилина с одним или несколькими антителами, выбранными из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 (описанных в WO2016164637); или S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24; и любой их комбинации, за связывание с сортилином. В типичном примере конкурентного анализа, иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с сортилином (например, человеческое или принадлежащее не являющемуся человеком примату), и второе немеченое антитело, которое тестируют на его способность конкурировать с первым антителом за связывание с сортилином. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля, иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, перmissive для связывания первого антитела с сортилином, избыток несвязанного антитела удаляют, и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или клетками, экспрессирующими сортилин. Если количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или клетками, экспрессирующими сортилин, существенно снижено в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с сортилином. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению конкурирует за связывание с сортилином с антителом, содержащим вариabельный домен тяжелой цепи и вариabельный домен легкой цепи антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-16, S-60-18, S-60-19, S-60-24, и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению связывает по существу тот же эпитоп сортилина, что и антитело, содержащее вариabельный домен тяжелой цепи и вариabельный домен легкой цепи антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-16, S-60-18, S-60-19, и S-60-24.

Дополнительные антитела против сортилина, например, антитела, которые специфически связываются с белком сортилином по данному изобретению, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу, и/или охарактеризованы по их физическим/химическим свойствам и/или биологическим активностям различными методами анализа, известными специалистам.

Вариabельные области тяжелой цепи и легкой цепи антитела против сортилина.

A. HVR тяжелой цепи.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению включают вариabельную область тяжелой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранные из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в табл. 14-16). В некоторых вариантах реализации, вариabельная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в табл. 14-16).

В некоторых вариантах реализации, HVR-H1 содержит последовательность YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1). В некоторых вариантах реализации, HVR-H2 содержит последовательность в соответствии с формулой I: TIYHSGSTYYNPSLX₁S (SEQ ID NO: 4), где X₁ представляет собой K или E. В некоторых вариантах реализации, HVR-H2 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-3. В некоторых вариантах реализации, HVR-H3 содержит последовательность в соответствии с формулой II: ARQGSIX₁QGYGMDV (SEQ ID NO: 7). В некоторых вариантах реализации, HVR-H3 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-6.

В некоторых вариантах реализации, HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации, HVR-H1 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1).

кислотной последовательностью SEQ ID NO: 1), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-H1 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации, HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 2-3. В некоторых вариантах реализации, HVR-H2 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 2-3), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-H2, выбранной из SEQ ID NO: 2-3. В некоторых вариантах реализации, HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 5-6. В некоторых вариантах реализации, HVR-H3 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 5-6), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-H3, выбранной из SEQ ID NO: 5-6.

В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий последовательность YSISSGYW (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий последовательность в соответствии с формулой I, и HVR-H3, содержащий последовательность в соответствии с формулой II.

В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 1, HVR-H2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-3, и HVR-H3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-6.

В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, или любой их комбинации (как указано в табл. 14-16).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит один или несколько из: (a) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H1 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24; и (c) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R],

S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6).

В. HVR легкой цепи.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варируемую область легкой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в табл. 17-19). В некоторых вариантах реализации, варируемая область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в табл. 17-19).

В некоторых вариантах реализации, HVR-L1 содержит последовательность в соответствии с формулой III: RSSQX₁LLX₂SX₃GYNYLD (SEQ ID NO: 28), где X₁ представляет собой S или G, X₂ представляет собой R или H, и X₃ представляет собой N, T, S, G, R, D, H, K, Q, Y, E, W, F, I, V, A, M, или L. В некоторых вариантах реализации, HVR-L1 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-27. В некоторых вариантах реализации, HVR-L1 содержит последовательность RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 8), RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), RSSQS LLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 10), RSSQSLLRSGGYNYLD (SEQ ID NO: 11), RSSQSLLRSRG YNYLD (SEQ ID NO: 12), RSSQSLLRSDGYNYLD (SEQ ID NO: 13), RSSQSLLRSHGYNYLD (SEQ ID NO: 14), RSSQSLLRSKGYNYLD (SEQ ID NO: 15), RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 16), RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 17), RSSQSLLRSEGNYLD (SEQ ID NO: 18), RSSQSLLRSWGNYLD (SEQ ID NO: 19), RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 20), RSSQSL LRSIGYNYLD (SEQ ID NO: 21), RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 22), RSSQSLLRSG YNYLD (SEQ ID NO: 23), RSSQSLLRSMGYNYLD (SEQ ID NO: 24), RSSQSLLRSLGYNYLD (SEQ ID NO: 25), RSSQSLLRSGNYNYLD (SEQ ID NO: 26), или RSSQSLLRSGNYNYLD (SEQ ID NO: 27). В одном конкретном варианте реализации, HVR-L1 содержит последовательность RSSQSLLRSGYNYLD (SEQ ID NO: 8). В другом конкретном варианте реализации, HVR-L1 содержит последовательность RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9) (как указано в табл. 19).

В некоторых вариантах реализации, HVR-L2 содержит последовательность в соответствии с формулой IV: LGSNRX₁S (SEQ ID NO: 31), где X₁ представляет собой A или V. В некоторых вариантах реализации, HVR-L2 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-30.

В некоторых вариантах реализации, HVR-L3 содержит последовательность в соответствии с формулой V: MQQQEX₁PLT (SEQ ID NO: 34), где X₁ представляет собой A или T. В некоторых вариантах реализации, HVR-L3 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32-33.

В некоторых вариантах реализации, HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 8-27. В некоторых вариантах реализации, HVR-L1 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 8-27), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-L1, выбранной из SEQ ID NO: 8-27. В некоторых вариантах реализации, HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 29-30. В некоторых вариантах реализации, HVR-L2 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 29-30), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-L2, выбранной из SEQ ID NO: 29-30. В некоторых вариантах реализации, HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 32-33. В некоторых вариантах реализа-

ции, HVR-L3 содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 32-33), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, или до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности HVR-L3, выбранной из SEQ ID NO: 32-33.

В некоторых вариантах реализации, переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность в соответствии с формулой III, HVR-L2, содержащий последовательность в соответствии с формулой IV, и HVR-L3, содержащий последовательность в соответствии с формулой V. В некоторых вариантах реализации, переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-27, HVR-L2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-30, и HVR-L3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32-33.

В некоторых вариантах реализации, переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, или любой их комбинации (как указано в табл. 17-19).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область легкой цепи, при этом переменная область легкой цепи содержит один или несколько из: (a) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L1 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L2 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24; и (c) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-L3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLRSNGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

С. HVR тяжелой цепи и HVR легкой цепи.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 (как указано в табл. 14-16), и переменную область легкой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, или все три) HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в табл. 17-19). В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, HVR-H2 и

HVR-H3 (как указано в табл. 14-16), и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 (как указано в табл. 17-19).

В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий последовательность YSISSGYW (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий последовательность в соответствии с формулой I, и HVR-H3, содержащий последовательность в соответствии с формулой II, и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность в соответствии с формулой III, HVR-L2, содержащий последовательность в соответствии с формулой IV, и HVR-L3, содержащий последовательность в соответствии с формулой V. В некоторых вариантах реализации, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 1, HVR-H2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-3, и HVR-H3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-6, и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-27, HVR-L2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-30, и HVR-L3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 32-33.

В некоторых аспектах, переменная область тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 1, HVR-H2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2-3, и HVR-H3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5-6, и переменная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-27, HVR-L2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 29-30, и HVR-L3, содержащий последовательность SEQ ID NO: 32.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, или любой их комбинации (как указано в табл. 14-16); и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, S-60-24, или любой их комбинации (как указано в табл. 17-19).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, и переменную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, при этом антитело содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 14-19).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит один или несколько из: (a) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H1 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24; (b) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H2 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24; и (c) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью HVR-H3 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-

YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и вариательную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и вариательную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRNSGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQETPLT (SEQ ID NO: 33).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIQGYGMDV (SEQ ID NO: 5); и вариательную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRNSGYNYLD (SEQ ID NO: 26), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQETPLT (SEQ ID NO: 33).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и вариательную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQGLLRNSGYNYLD (SEQ ID NO: 27), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

D. Вариательная область тяжелой цепи.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариательную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 54-56. В некоторых вариантах реализации, вариательная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54-56. В некоторых вариантах реализации, вариательная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54-56), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, до 5, до 6, до 7, до 8, до 9, или до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в вариательной области тяжелой цепи аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 54-56.

В некоторых вариантах реализации, вариательная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариательную область тяжелой цепи антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 30).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариательную область тяжелой цепи, содержащую HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISSGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6).

E. Вариательная область легкой цепи.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариательную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 57-80. В некоторых вариантах реализации, вариательная область легкой цепи содержит ами-

нокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 57-80. В некоторых вариантах реализации, варибельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 57-80), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, до 5, до 6, до 7, до 8, до 9, или до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в варибельной области легкой цепи аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 57-80.

В некоторых вариантах реализации, варибельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах реализации, варибельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельную область легкой цепи антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 31).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLRSNGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельную область легкой цепи, содержащую HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

F. Варибельная область тяжелой цепи и варибельная область легкой цепи.

В некоторых аспектах, антитело против сортилина по данному изобретению содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 54-56; и/или варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 57-80. В некоторых вариантах реализации, варибельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54-56, и варибельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 91%, по меньшей мере примерно 92%, по меньшей мере примерно 93%, по меньшей мере примерно 94%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 96%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 57-80. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 54-56), и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с аминокислотной последовательностью, выбранной из SEQ ID NO: 57-80), но сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, до 1, до 2, до 3, до 4, до 5, до 6, до 7, до 8, до 9, или до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в варибельной области тяжелой цепи аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 54-56; и до 1, до 2, до 3, до 4, до 5, до 6, до 7, до 8, до 9, или до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в варибельной области легкой цепи аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 57-80.

В некоторых аспектах, антитело против сортилина по данному изобретению содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 54-56; и/или варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 57-58, 60-78, и 80.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению связыва-

последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-10, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-10, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-10.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139.

(2) S-60-11.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; и/или вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена легкой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-11. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена легкой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, при этом вариабельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-11. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью вариабельного домена тяжелой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела S-60-11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности вариабельного домена тяжелой цепи антитела S-60-11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-11 или SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-11, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-11, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-11. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность вариабельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности

с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-11 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 58, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-11 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-11 или SEQ ID NO: 58, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-11, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-11, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-11.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 140.

(3) S-60-12.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен тяжелой цепи и варибельный домен легкой цепи, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; и/или варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-12. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59, при этом варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-12. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5

аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 54. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-12 или SEQ ID NO: 54, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-12, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-12, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-12. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-12 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 59, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-12 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-12 или SEQ ID NO: 59, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-12, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-12, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-12.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 141.

(4) S-60-13.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-13. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-13 или с аминокис-

лотной последовательностью SEQ ID NO: 57, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-13. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах реализации, замены, вставки или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, вставки или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-13 или SEQ ID NO: 55, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-13, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-13, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-13. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-13 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57, и содержащую замены (например, консервативные замены, вставки или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-13 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57. В некоторых вариантах реализации, замены, вставки или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, вставки или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-13 или SEQ ID NO: 57, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-13, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-13, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-13.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135 или SEQ ID NO: 136. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135 или SEQ ID NO: 136 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139.

(5) S-60-14.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 55; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-14 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 57.

жены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-15 или SEQ ID NO: 57, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-15, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-15, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-15.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139.

(7) S-60-15.1.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-15.1. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-15.1. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-15.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-15.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-15.1 или SEQ ID NO: 56, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-15.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-15.1, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-15.1. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному

изобретению содержат последовательность варибельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-15.1 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 60, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-15.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-15.1 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-15.1 или SEQ ID NO: 60, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-15.1, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-15.1, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-15.1.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

(8) S-60-16.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен тяжелой цепи и варибельный домен легкой цепи, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; и/или варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-16. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77, при этом варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-16. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализа-

ции, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-16 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-16 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-16 или SEQ ID NO: 56, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-16, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-16, и (с) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-16. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-16 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 77, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-16 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-16 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-16 или SEQ ID NO: 77, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (а) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-16, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-16, и (с) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-16.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 131.

(9) S-60-18.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-18. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78.

мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78, при этом варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-18. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-18 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-18 или SEQ ID NO: 56, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-18, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-18, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-18. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность варибельного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена легкой цепи антитела S-60-18 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 78, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-18 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности варибельного домена легкой цепи антитела S-60-18 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 78. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VL антитела S-60-18 или SEQ ID NO: 78, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VL содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-L1 антитела S-60-18, (b) аминокислотной последовательности HVR-L2 антитела S-60-18, и (c) аминокислотной последовательности HVR-L3 антитела S-60-18.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 или SEQ ID NO: 138 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132.

(10) S-60-19.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат варибельный домен тяжелой цепи и варибельный домен легкой цепи, при этом варибельный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью варибельного домена тяжелой цепи антитела S-60-19 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 54; и/или варибельный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по

кую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 105 или SEQ ID NO: 106 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 133.

(11) S-60-24.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56; и/или переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 80. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, при этом переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 антитела S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность с по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 80, при этом переменный домен легкой цепи содержит аминокислотные последовательности HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 антитела S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 56, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-24 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 5 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена тяжелой цепи антитела S-60-24 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56. В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены в областях вне HVR (т.е. на FR-участках). В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции расположены на FR-участках. Необязательно, антитело против сортилина содержит последовательность VH антитела S-60-24 или SEQ ID NO: 56, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте реализации, VH содержит один, два или три HVR, выбранных из: (a) аминокислотной последовательности HVR-H1 антитела S-60-24, (b) аминокислотной последовательности HVR-H2 антитела S-60-24, и (c) аминокислотной последовательности HVR-H3 антитела S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат последовательность переменного домена легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или 100% идентичности с аминокислотной последовательностью переменного домена легкой цепи антитела S-60-24 или с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 80, и содержащую замены (например, консервативные замены, инсерции или делеции по сравнению с референсной последовательностью), но антитело против сортилина, содержащее такую последовательность, сохраняет способность связываться с сортилином. В некоторых вариантах реализации, в общей сложности, от 1 до 10 аминокислот было замещено, вставлено и/или удалено в аминокислотной последовательности переменного домена легкой цепи антитела S-60-24 или аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 80. В некоторых вариантах реализации, в об-

S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи моноклонального антитела S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область легкой цепи моноклонального антитела S-60-24. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой выделенное антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи моноклонального антитела S-60-24.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой антагонистическое антитело. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина представляет собой агонистическое антитело. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению принадлежат к классу IgG, классу IgM, или классу IgA. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению принадлежат к классу IgG и имеют изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Дополнительные антитела против сортилина, например, антитела, которые специфически связываются с белком сортилином по данному изобретению, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу, и/или охарактеризованы по их физическим/химическим свойствам и/или биологическим активностям различными методами анализа, известными специалистам.

Определенные аспекты данного изобретения относятся к использованию двух или больше антител против сортилина, которые при совместном использовании проявляют аддитивные или синергические эффекты, по сравнению с использованием соответствующего отдельного антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой фрагмент антитела, который связывается с человеческим белком сортилином.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой фрагмент антитела, который связывается с одним или несколькими человеческими белками, выбранными из группы, состоящей из человеческого сортилина, природного варианта человеческого сортилина, и варианта болезни человеческого сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению представляет собой фрагмент антитела, при этом фрагмент антитела представляет собой Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- или scFv-фрагмент.

Каркасы антител.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 (как указано в табл. 20-23). В некоторых вариантах реализации, VH FR1 содержит последовательность QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSG (SEQ ID NO: 35). В некоторых вариантах реализации, VH FR2 содержит последовательность WIRQPPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 36). В некоторых вариантах реализации, VH FR3 содержит последовательность, соответствующую Формуле VI: X₁VTISVDTSKNQFSLX₂LSSVTAADTAVYYC (SEQ ID NO: 39), где X₁ представляет собой Q или R, и X₂ представляет собой E или K. В некоторых вариантах реализации, VH FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 37-38. В некоторых вариантах реализации, VH FR4 содержит последовательность WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 40). В некоторых вариантах реализации, антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую VHFR1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 35, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 36, VH FR3 в соответствии с формулой VI, и VH FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах реализации, антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 35, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 36, VH FR3 содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 37-38, и VH FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 40.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 20-23).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат переменную область легкой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 (как указано в табл. 24-27). В некоторых вариантах реализации, VL FR1 содержит последовательность в соответствии с формулой VII: DIVMTQSPLSLPVTGPX₁X₂ASISC (SEQ ID NO: 44), где X₁ представляет собой E или G, и X₂ представляет собой P или S. В некоторых вариантах реализации, VL FR1 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-43. В некоторых

вариантах реализации, VL FR2 содержит последовательность в соответствии с формулой VIII: WYLQKPGQX₁PQLLIY (SEQ ID NO: 47), где X₁ представляет собой S или P. В некоторых вариантах реализации, VL FR2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45-46. В некоторых вариантах реализации, VL FR3 содержит последовательность в соответствии с формулой IX: GVPDRX₁SGSGSGT DFTLKISRX₂EAEVDVGX₃YYC (SEQ ID NO: 52), где X₁ представляет собой F или L, X₂ представляет собой A или V, и X₃ представляет собой V или A. В некоторых вариантах реализации, VL FR3 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 48-51. В некоторых вариантах реализации, VL FR4 содержит последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 53). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, соответствующую Формуле VII, VL FR2, содержащий последовательность, соответствующую Формуле VIII, VL FR3, содержащий последовательность, соответствующую Формуле IX, и VL FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 41-43, VL FR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 45-46, VL FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 48-51, и VL FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 24-27).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 (как указано в табл. 20-23), и вариабельную область легкой цепи, содержащую один или несколько (например, один или больше, два или больше, три или больше, или все четыре) каркасных участков, выбранных из VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 (как указано в табл. 24-27). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 35, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 36, VH FR3 в соответствии с формулой VI, и VH FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 40; и вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, соответствующую Формуле VII, VL FR2, содержащий последовательность, соответствующую Формуле VIII, VL FR3, содержащий последовательность, соответствующую Формуле IX, и VL FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 53. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, содержащий последовательность SEQ ID NO: 35, VH FR2, содержащий последовательность SEQ ID NO: 36, VH FR3 содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 37-38, и VH FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 40; вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 41-43, VL FR2, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 45-46, VL FR3, содержащий последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 48-51, и VL FR4, содержащий последовательность SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH FR1, VH FR2, VH FR3, и VH FR4 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 20-23), и вариабельную область легкой цепи, содержащую VL FR1, VL FR2, VL FR3, и VL FR4 антитела S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16; S-60-18, S-60-19, или S-60-24 (как указано в табл. 24-27).

Активности антитела против сортилина.

В определенных аспектах любого из антител против сортилина, антитела против сортилина по данному изобретению могут ингибировать одну или несколько активностей белка сортилина, включая, без ограничений, снижение клеточных уровней сортилина (например, уровней сортилина клеточной поверхности, внутриклеточных уровней сортилина, и/или общих уровней сортилина); повышение уровней про-

гранулина (например, внеклеточных уровней програнулина и/или клеточных уровней програнулина); и ингибирование взаимодействия (например, связывания) между програнулином и сортилином. Как предусматривается в данном документе, антитела против сортилина по данному изобретению могут ингибировать дополнительные активности белка сортилина, включая, без ограничений, ингибирование взаимодействия (например, связывания) с одним или несколькими пронейротрофинами по данному изобретению (пронейротрофин-3, пронейротрофин-4/5, про-NGF, про-BDNF и т.д.), нейротрофинами по данному изобретению (нейротрофин-3, нейротрофин-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), и рецептор-ассоциированным белком (RAP), снижение секреции PCSK9, снижение (decreasing) продуцирования бета-амилоидного пептида.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает антитело против сортилина, при этом (a) антитело против сортилина повышает внеклеточные уровни програнулина, снижает клеточные уровни сортилина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию; (b) антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, повышает внеклеточные уровни програнулина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию; (c) антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, снижает внутриклеточные уровни сортилина, снижает общие уровни сортилина, или обеспечивает любую их комбинацию; (d) антитело против сортилина индуцирует деграцию сортилина, расщепление сортилина, интернализацию сортилина, снижение экспрессии сортилина, или обеспечивают любую их комбинацию; (e) антитело против сортилина снижает клеточные уровни сортилина и ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином; (f) антитело против сортилина снижает клеточные уровни сортилина и повышает клеточные уровни програнулина; и/или (g) антитело против сортилина повышает эффективную концентрацию програнулина.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает антитело против сортилина, при этом антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, повышает внеклеточные уровни програнулина, ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, или обеспечивает любую их комбинацию.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению (a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 150 пМ, при измерении методом проточной цитометрии; (b) снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 50% при 1,25 нМ IgG, на более чем примерно 80% при 0,63 нМ IgG, или на более чем примерно 69% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,13 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, или более чем в примерно 1,22 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА; блокирует связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 0,325 нМ, при измерении методом проточной цитометрии; (e) блокирует связывание програнулина с сортилином на более чем примерно 88% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 27,5% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; или (f) any комбинация thereof (см., например, примеры 2-4).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению (a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 681 пМ, при измерении методом проточной цитометрии; (b) снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 40% при 1,25 нМ IgG, на более чем примерно 29% при 0,6 нМ IgG, или на более чем примерно 62% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; (c) повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,11 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, или более чем в примерно 1,75 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА; (d) блокирует связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 0,751 нМ, при измерении методом проточной цитометрии; (e) блокирует связывание програнулина с сортилином на более чем примерно 90% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 95% при 150 нМ IgG по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; или (f) обеспечивает любую их комбинацию (см., например, примеры 2-4).

Снижение уровней сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и модулируют (например, индуцируют или ингибируют) одну или несколько активностей сортилина по данному изобретению после связывания с поверхностью экспрессируемым белком сортилином.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают клеточные уровни сортилина *in vitro*. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать клеточные уровни сортилина *in vivo* (например, в головном мозге,

и/или периферических органах индивидуума). В некоторых вариантах реализации, снижение клеточных уровней сортилина включает снижение уровней сортилина клеточной поверхности. В используемом в данном документе значении, антитело против сортилина снижает уровни сортилина клеточной поверхности, если оно индуцирует снижение при насыщающей концентрации антитела (например, 0,6 нМ, 0,63 нМ, 1,25 нМ, 50 нМ или 150 нМ) и/или по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) уровней сортилина клеточной поверхности при измерении с помощью любых *in vitro* клеточных анализов или пригодной *in vivo* модели, описанных в данном документе или известных специалистам. В некоторых вариантах реализации, снижение клеточных уровней сортилина включает снижение внутриклеточных уровней сортилина. Как предусматривается в данном документе, антитело против сортилина снижает внутриклеточные уровни сортилина, если оно индуцирует снижение при насыщающей концентрации антитела и/или по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) внутриклеточных уровней сортилина при измерении с помощью любых *in vitro* клеточных анализов или пригодной *in vivo* модели, описанных в данном документе или известных специалистам. В некоторых вариантах реализации, снижение клеточных уровней сортилина включает снижение общих уровней сортилина. Как предусматривается в данном документе, антитело против сортилина снижает общие уровни сортилина, если оно индуцирует снижение при насыщающей концентрации антитела и/или по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) общих уровней сортилина при измерении с помощью любых *in vitro* клеточных анализов или пригодной *in vivo* модели, описанных в данном документе или известных специалистам.

В используемом в данном документе значении, уровни сортилина могут относиться к уровням экспрессии гена, кодирующего сортилин; к уровням экспрессии одного или нескольких транскриптов, кодирующих сортилин; к уровням экспрессии белка сортилина; и/или к количеству белка сортилина, присутствующего внутри клеток и/или на поверхности клеток. Любые известные специалистам способы измерения уровней генной экспрессии, транскрипции, трансляции, и/или относительного содержания или локализации белка могут быть использованы для определения уровней сортилина.

Клеточные уровни сортилина могут относиться, без ограничений, к уровням сортилина клеточной поверхности, внутриклеточным уровням сортилина, и общим уровням сортилина. В некоторых вариантах реализации, снижение клеточных уровней сортилина включает снижение уровней сортилина клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые снижают клеточные уровни сортилина (например, уровни сортилина клеточной поверхности) имеют одну или несколько из следующих характеристик: (1) ингибируют или снижают одну или несколько активностей сортилина; (2) способность ингибировать или снижать связывание сортилина с одним или несколькими из его лигандов; (3) способность понижать экспрессию сортилина в экспрессирующих сортилин клетках; (4) способность взаимодействовать, связывать или распознавать белок сортилин; (5) способность специфически взаимодействовать с или связываться с белком сортилином; и (6) способность исцелять, ослаблять или предотвращать любой аспект болезни или расстройства, описанных или предусматриваемых в данном документе.

В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует снижение экспрессии сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует расщепление сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует интернализацию сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует шеддинг сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует деградацию сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению индуцирует десенсибилизацию сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда, транзистентно активируя сортилин. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием снижения клеточных уровней сортилина и/или ингибированием взаимодействия (например, связывания) между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием деградации сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием расщепления сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием интернализации сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием шеддинга сортилина. В некоторых

вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием снижения экспрессии сортилина. В некоторых вариантах реализации, выделенное антитело против сортилина по данному изобретению действует как миметик лиганда и транзистентно активирует сортилин перед индуцированием десенсibilизации сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать клеточные уровни сортилина (например, уровни сортилина клеточной поверхности, внутриклеточные уровни сортилина, и/или общие уровни сортилина) путем индуцирования деградации сортилина. Соответственно, в некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению индуцируют деградацию сортилина.

Антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}) (например, при измерении *in vitro*) в пикомолярном диапазоне значений. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 680,9 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет от примерно 72,58 пМ до примерно 680,9 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет от примерно 103,6 пМ до примерно 680,9 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 600 пМ, 500 пМ, 400 пМ, 300 пМ, 200 пМ, 100 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ.

В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела имеет значение, меньшее чем примерно, или равное примерно 675 пМ, 650 пМ, 625 пМ, 600 пМ, 575 пМ, 550 пМ, 525 пМ, 500 пМ, 475 пМ, 450 пМ, 425 пМ, 400 пМ, 375 пМ, 350 пМ, 325 пМ, 300 пМ, 275 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 70 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 9 пМ, 8 пМ, 7 пМ, 6 пМ, 5 пМ, 4 пМ, 3 пМ, 2 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ.

В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 680,9 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела имеет значение, большее чем примерно, или равное примерно 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 20 пМ, 30 пМ, 40 пМ, 50 пМ, 60 пМ, 70 пМ, 80 пМ, 90 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 275 пМ, 300 пМ, 325 пМ, 350 пМ, 375 пМ, 400 пМ, 425 пМ, 450 пМ, 475 пМ, 500 пМ, 525 пМ, 550 пМ, 575 пМ, 600 пМ, 625 пМ, 650 пМ, 675 пМ. Другими словами, EC_{50} антитела может иметь любое значение в диапазоне, имеющем верхний предел, равный примерно 675 пМ, 650 нМ, 650 пМ, 625 пМ, 600 пМ, 575 пМ, 550 пМ, 525 пМ, 500 пМ, 475 пМ, 450 пМ, 425 пМ, 400 пМ, 375 пМ, 350 пМ, 325 пМ, 300 пМ, 275 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 70 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ, и независимо выбранный нижний предел, равный примерно 0,1 пМ, 0,5 пМ, 1 пМ, 10 пМ, 20 пМ, 30 пМ, 40 пМ, 50 пМ, 60 пМ, 70 пМ, 80 пМ, 90 пМ, 100 пМ, 125 пМ, 150 пМ, 175 пМ, 200 пМ, 225 пМ, 250 пМ, 275 пМ, 300 пМ, 325 пМ, 350 пМ, 375 пМ, 400 пМ, 425 пМ, 450 пМ, 475 пМ, 500 пМ, 525 пМ, 550 пМ, 575 пМ, 600 пМ, 625 пМ, 650 пМ или 675 пМ, при этом нижний предел имеет меньшее значение, чем верхний предел. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела имеет любое значение из примерно 1 пМ, 2 пМ, 3 пМ, 4 пМ, 5 пМ, 6 пМ, 7 пМ, 8 пМ, 9 пМ, 10 пМ, 15 пМ, 20 пМ, 25 пМ, 30 пМ, 35 пМ, 40 пМ, 45 пМ, 50 пМ, 55 пМ, 60 пМ, 65 пМ, 70 пМ, 75 пМ, 80 пМ, 85 пМ, 90 пМ, 95 пМ, 100 пМ, 105 пМ, 110 пМ, 115 пМ, 120 пМ, 125 пМ, 130 пМ, 135 пМ, 140 пМ, 145 пМ, 150 пМ, 155 пМ, 160 пМ, 165 пМ, 170 пМ, 175 пМ, 180 пМ, 185 пМ, 190 пМ, 195 пМ или 200 пМ.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 150 пМ, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению имеет значение, равное примерно 103,6 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению имеет значение, равное примерно 72,58 пМ.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 40% при 1,25 нМ IgG, или на более чем примерно 80% при 0,63 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению снижает уровни сортилина клеточной поверхности на примерно 60,92% при 1,25 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению снижает уровни сортилина клеточной поверхности на примерно 69,3% при 150 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению снижает уровни сортилина клеточной поверхности на примерно 70,3% при 150 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии.

Специалистам известны различные способы измерения значений EC_{50} антитела, включая, например, метод проточной цитометрии (см., например, пример 2). В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют *in vitro* с использованием клеток, модифицированных для экспрессии человеческого сортилина. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 4°C. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах

реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно $35^{\circ}C$. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно $37^{\circ}C$. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют повышенное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют пониженное связывание Fc-рецептора.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению обладают более высокой активностью снижения уровней сортилина клеточной поверхности по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина с более низким значением EC_{50} (например, путем измерения *in vitro*), чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина с EC_{50} , которая имеет значение на по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 35%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 45%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 55%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, или по меньшей мере примерно 99% ниже, чем EC_{50} контрольного антитела (например, антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают клеточные уровни (например, уровни клеточной поверхности) сортилина с EC_{50} , которая имеет значение в по меньшей мере примерно 1 раз, по меньшей мере примерно 1,1 раза, по меньшей мере примерно 1,5 раза, по меньшей мере примерно 2 раза, по меньшей мере примерно 3 раза, по меньшей мере примерно 4 раза, по меньшей мере примерно 5 раз, по меньшей мере примерно 6 раз, по меньшей мере примерно 7 раз, по меньшей мере примерно 8 раз, по меньшей мере примерно 9 раз, по меньшей мере примерно 10 раз, по меньшей мере примерно 12,5 раз, по меньшей мере примерно 15 раз, по меньшей мере примерно 17,5 раз, по меньшей мере примерно 20 раз, по меньшей мере примерно 22,5 раз, по меньшей мере примерно 25 раз, по меньшей мере примерно 27,5 раз, по меньшей мере примерно 30 раз, по меньшей мере примерно 50 раз, или по меньшей мере примерно 100 раз ниже, чем EC_{50} контрольного антитела (например, антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,5 раза ниже, чем у контрольного антитела (например, антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют EC_{50} , которая по меньшей мере в 1,1 раза ниже, чем у контрольного антитела (например, антитела против сортилина, имеющего переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению (a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 681 пМ, при измерении методом проточной цитометрии; (b) снижает уровни сортилина клеточной поверхности на более чем примерно 40% при 1,25 нМ IgG, на более чем примерно 29% при 0,6 нМ IgG, или на более чем примерно 62% при 150 нМ IgG, по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; (c) повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,11 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, или более чем в примерно 1,75 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА; (d) блокирует связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}), составляющей менее 0,751 нМ, при измерении методом проточной цитометрии; (e) блокирует связывание програнулина с сортилином на более чем примерно 90% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 95% при 150 нМ IgG, по сравнению с контролем, при измерении методом проточной цитометрии; или (f) обеспечивает любую их комбинацию (см., например, примеры 2-4).

Повышение уровней програнулина.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению увеличивают внеклеточные уровни програнулина *in vitro*. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут увеличивать клеточные уровни програнулина или *in vivo* (например, в головном мозге, крови, и/или периферических органах индивидуума). В используемом в дан-

ном документе значении, антитело против сортилина повышает внеклеточные уровни програнулина, если оно индуцирует увеличение при насыщающих концентрациях антитела (например, 0,6 нМ, 0,63 нМ, 1,25 нМ, 50 нМ или 150 нМ) и/или по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) внеклеточных уровней програнулина при измерении с помощью любых *in vitro* клеточных анализов или тканевых (таких как тканей головного мозга) анализов, описанных в данном документе или известных специалистам. Как предусматривается в данном документе, антитело против сортилина повышает клеточные уровни програнулина, если оно индуцирует увеличение, при насыщающей концентрации антитела (например, 0,6 нМ, 0,63 нМ, 1,25 нМ, 50 нМ или 150 нМ) и/или по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60) клеточных уровней програнулина при измерении с помощью любых *in vitro* клеточных анализов или тканевых (таких как тканей головного мозга) анализов, описанных в данном документе или известных специалистам.

В используемом в данном документе значении, уровни програнулина могут относиться к уровням экспрессии гена, кодирующего програнулин; к уровням экспрессии одного или нескольких транскриптов, кодирующих програнулин; к уровням экспрессии белка програнулина; и/или к количеству белка програнулина, секретируемого клетками и/или присутствующего в клетках. Любые известные специалистам способы измерения уровней генной экспрессии, транскрипции, трансляции, относительного содержания белка, секреции белка, и/или локализации белка, могут использоваться для определения уровней програнулина.

В используемом в данном документе значении, уровни програнулина могут относиться к, без ограничений, внеклеточным уровням програнулина, внутриклеточным уровням програнулина, и общим уровням програнулина. В некоторых вариантах реализации, увеличение уровней програнулина включает увеличение внеклеточных уровней програнулина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,11 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению повышает секрецию програнулина в примерно 1,42 раза по сравнению с контролем при 0,63 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению повышает секрецию програнулина более чем в примерно 1,75 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению повышает секрецию програнулина в примерно 1,97 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению повышает секрецию програнулина в примерно 2,29 раза по сравнению с контролем при 50 нМ IgG, при измерении методом стандартного ИФА.

Различные способы измерения секреции програнулина известны специалистам, включая, например, методом ИФА (см., например, примеры 2 и 4). В некоторых вариантах реализации, EC₅₀ измеряют *in vitro* с использованием клеток, экспрессирующих человеческий сортилин. В некоторых вариантах реализации, секрецию програнулина определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах реализации, секрецию програнулина определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют повышенное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах реализации, секрецию програнулина определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют пониженное связывание Fc-рецептора.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению обладают более высокой активностью повышения уровней програнулина по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни (например, внеклеточные уровни) програнулина с более низким значением EC₅₀ (например, при измерении *in vitro*), чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни (например, внеклеточные уровни) програнулина на по меньшей мере примерно 5%, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере примерно 15%, по меньшей мере примерно 20%, по меньшей мере примерно 25%, по меньшей мере примерно 30%, по меньшей мере примерно 35%, по меньшей мере примерно 40%, по меньшей мере примерно 45%, по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 55%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, или по меньшей мере примерно 99% по сравнению с (*than*) контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим переменную область тяжелой цепи и переменную

область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни (например, внеклеточные уровни) програнулина в примерно 1 раз, в по меньшей мере примерно 1,1 раза, в по меньшей мере примерно 1,5 раза, в по меньшей мере примерно 2 раза, в по меньшей мере примерно 3 раза, в по меньшей мере примерно 4 раза, в по меньшей мере примерно 5 раз, в по меньшей мере примерно 6 раз, в по меньшей мере примерно 7 раз, в по меньшей мере примерно 8 раз, в по меньшей мере примерно 9 раз, в по меньшей мере примерно 10 раз, в по меньшей мере примерно 12,5 раз, в по меньшей мере примерно 15 раз, в по меньшей мере примерно 17,5 раз, в по меньшей мере примерно 20 раз, в по меньшей мере примерно 22,5 раз, в по меньшей мере примерно 25 раз, в по меньшей мере примерно 27,5 раз, в по меньшей мере примерно 30 раз, в по меньшей мере примерно 50 раз, или в по меньшей мере примерно 100 раз сильнее, чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни програнулина в примерно 1,1 раза сильнее, чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни програнулина в примерно 1,3 раза сильнее, чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60).

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению увеличивают эффективную концентрацию програнулина. Эффективная концентрация програнулина относится к концентрации програнулина в плазме или цереброспинальной жидкости. В некоторых вариантах реализации, увеличение эффективной концентрации програнулина представляет собой увеличение в более чем 1,5 раза. В некоторых вариантах реализации, эффективная концентрация програнулина остается повышенной на протяжении 7-28 дней.

Уменьшение взаимодействия между сортилином и партнером по связыванию.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и одним или несколькими белками, выбранными из програнулина, пронеуротрофина, нейротрофина, пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, про-фактора роста нервов (про-NGF), фактора роста нервов (NGF), про-мозгового нейротрофического фактора (про-BDNF), мозгового нейротрофического фактора (BDNF), нейротензина, p75, пропептида сортилина (Sort-pro), белка-предшественника амилоида (APP), бета-амилоидного (A beta) пептида, липопротеинлипазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9, и рецептор-ассоциированного белка (RAP), и/или природных вариантов. В конкретном варианте реализации, антитела против сортилина по данному изобретению ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и програнулином.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и нейротрофином по данному изобретению, таким как пронеуротрофин, пронеуротрофин-3, пронеуротрофин-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофин-3, нейротрофин-4/5, NGF, и BDNF. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и нейротензином. В других вариантах реализации, антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и p75. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и Sort-pro. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и APP. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать продуцирование бета-амилоидного пептида. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать транспорт и секрецию PCSK9. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и LpL. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и APOA5. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и APOE. В других вариантах реализации, антитела против сортилина могут ингибировать взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по данному изобретению и RAP.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению связываются с белком сортилином по данному изобретению, экспрессируемым на поверхности клетки, и голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по

данному изобретению, которые связываются с белком сортилином по данному изобретению (of the present), ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина путем снижения эффективных уровней сортилина, доступного для взаимодействия с этими белками на поверхности клетки или внутри клетки. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению, которые связываются с белком сортилином по данному изобретению, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина путем индуцирования деградации сортилина.

А. Уменьшение взаимодействия между сортилином и програнулином.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению повышают уровни програнулина и/или снижают клеточные уровни сортилина, в то же время блокируя (например, ингибируя) взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином. Соответственно, в некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином. В используемом в данном документе значении, антитело против сортилина блокирует взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, если оно снижает связывание програнулина с сортилином по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим варируемую область тяжелой цепи и варируемую область легкой цепи, соответствующие S-60) при насыщающей концентрации антитела (например, 0,6 нМ, 0,63 нМ, 1,25 нМ, 50 нМ или 150 нМ) в любом *in vitro* анализе или анализе клеточной культуры, описанных в данном документе или известных специалистам.

Антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать связывание програнулина с сортилином с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC_{50}) (например, при измерении *in vitro*) в пиколярном диапазоне значений. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 2,2 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 1,22 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 751 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет от примерно 325 пМ до примерно 751 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет от примерно 405 пМ до примерно 751 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет от примерно 588 пМ до примерно 751 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела составляет менее примерно 2,2 нМ, 2,1 нМ, 2,0 нМ, 1,9 нМ, 1,8 нМ, 1,7 нМ, 1,6 нМ, 1,5 нМ, 1,4 нМ, 1,3 нМ, 1,2 нМ, 1,1 нМ, 1,0 нМ, 900 пМ, 800 пМ, 700 пМ, 600 пМ, 500 пМ, 400 пМ, 300 пМ, 200 пМ, 100 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ.

В некоторых вариантах реализации, величина EC_{50} антитела при снижении связывания програнулина с сортилином составляет менее примерно или равна примерно 2,2 нМ, 2,1 нМ, 2,0 нМ, 1,9 нМ, 1,8 нМ, 1,7 нМ, 1,6 нМ, 1,5 нМ, 1,4 нМ, 1,3 нМ, 1,2 нМ, 1,1 нМ, 1,0 нМ, 900 пМ, 800 пМ, 700 пМ, 600 пМ, 500 пМ, 475 пМ, 450 пМ, 425 пМ, 400 пМ, 375 пМ, 350 пМ, 325 пМ, 300 пМ, 275 пМ, 250 пМ, 225 пМ, 200 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 70 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 20 пМ, 10 пМ, 9 пМ, 8 пМ, 7 пМ, 6 пМ, 5 пМ, 4 пМ, 3 пМ, 2 пМ, 1 пМ или 0,5 пМ.

В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению составляет примерно 1,22 нМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению составляет примерно 588 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению составляет примерно 405 пМ. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} антитела против сортилина по данному изобретению составляет примерно 325 пМ.

Различные способы измерения значений EC_{50} антитела известны специалистам, включая, например, метод проточной цитометрии (см., например, пример 3). В некоторых вариантах реализации, EC_{50} при снижении связывания програнулина с сортилином (Sortlin) измеряют *in vitro* с использованием клеток, экспрессирующих человеческий сортилин. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 4°C. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 25°C. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 35°C. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} измеряют при температуре приблизительно 37°C. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} при снижении связывания програнулина с сортилином определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют повышенное связывание Fc-рецептора. В некоторых вариантах реализации, EC_{50} при снижении связывания програнулина с сортилином определяют с использованием антитела, содержащего константные области, которые демонстрируют пониженное связывание Fc-рецептора.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению обладают более высокой активностью в снижении связывания програнулина с сортилином (Sortlin) по сравнению с контрольным антителом (например, антителом против сортилина, имеющим варируемую область тяжелой цепи и варируемую область легкой цепи, соответствующие S-60). В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению снижают связывание програнулина с сортилином с более низким значением EC_{50} (например, при измерении *in vitro*), чем контрольное антитело (например, антитело против сортилина, имеющее варируемую область тяжелой цепи и варируемую об-

лиза или анализа клеточной культуры, описанных в данном документе или известных специалистам.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению блокирует связывание програнулина с сортилином (Sortlin) на более чем примерно 90% при 50 нМ IgG, или на более чем примерно 96% при 150 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению блокирует связывание програнулина с сортилином на примерно 90,74% при 50 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению блокирует связывание програнулина с сортилином на примерно 96,5% при 150 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению блокирует связывание програнулина с сортилином на примерно 96,9% при 150 нМ IgG, при измерении методом проточной цитометрии.

Снижение экспрессии провоспалительных медиаторов.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать экспрессию провоспалительных медиаторов после связывания с белком сортилином, экспрессируемым в клетке.

В используемом в данном документе значении, провоспалительные медиаторы представляют собой белки, участвующие прямо или косвенно (например, через пути провоспалительной сигнализации) в механизме, который индуцирует, активирует, усиливает или иначе снижает воспалительный ответ. Может быть использован любой известный специалистам способ идентификации и характеристики провоспалительных медиаторов.

Примеры провоспалительных медиаторов включают, без ограничений, цитокины, такие как интерфероны типа I и II, IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , IL-8, CRP, члены семейства IL-20, IL-33, LIF, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18 и CRP. Дополнительные примеры провоспалительных медиаторов включают, без ограничений, хемокины, такие как CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению могут снижать функциональную экспрессию и/или секрецию провоспалительных медиаторов, IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5. В некоторых вариантах реализации, пониженная экспрессия провоспалительных медиаторов происходит в макрофагах, дендритных клетках, моноцитах, остеокластах, клетках Лангеранса кожи, купферовых клетках, Т-клетках, и/или микроглиальных клетках. Пониженная экспрессия может включать, без ограничений, снижение генной экспрессии, снижение транскрипционной экспрессии, или снижение экспрессии белка. Может быть использован любой известный специалистам способ определения экспрессии гена, транскрипта (например, мРНК), и/или белка. Например, нозерн-блоттинг может быть использован для определения уровней генной экспрессии провоспалительного медиатора, ОТ-ПЦР может быть использована для определения уровня транскрипции провоспалительного медиатора, и вестерн-блоттинг может быть использован для определения уровня белка провоспалительного медиатора.

В используемом в данном документе значении, провоспалительный медиатор может иметь пониженную экспрессию, если его экспрессия в одной или нескольких клетках субъекта, получившего сортилиновый агент, такой как агонистическое антитело против сортилина по данному изобретению, является более высокой, чем экспрессия этого же провоспалительного медиатора, экспрессируемого в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получившего агонистическое антитело против сортилина. В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина по данному изобретению может снижать экспрессию провоспалительного медиатора в одной или нескольких клетках субъекта на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере 110%, по меньшей мере 115%, по меньшей мере 120%, по меньшей мере 125%, по меньшей мере 130%, по меньшей мере 135%, по меньшей мере 140%, по меньшей мере 145%, по меньшей мере 150%, по меньшей мере 160%, по меньшей мере 170%, по меньшей мере 180%, по меньшей мере 190%, или по меньшей мере 200%, например, по сравнению с экспрессией провоспалительного медиатора в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получившего антитело против сортилина. В других вариантах реализации, антитело против сортилина может снижать экспрессию провоспалительного медиатора в одной или нескольких клетках субъекта в по меньшей мере 1,5 раза, по меньшей мере 1,6 раза, по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 1,8 раза, по меньшей мере 1,9 раза, по меньшей мере 2,0 раза, по меньшей мере 2,1 раза, по меньшей мере 2,15 раза, по меньшей мере 2,2 раза, по меньшей мере 2,25 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,35 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 2,45 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 2,55 раза, по меньшей мере 3,0 раза, по меньшей мере 3,5 раза, по меньшей мере 4,0 раза, по меньшей мере 4,5 раза, по меньшей мере 5,0 раз, по меньшей мере 5,5 раз, по меньшей мере 6,0 раз, по меньшей мере 6,5 раз, по меньшей мере 7,0 раз, по меньшей мере 7,5 раз, по меньшей мере 8,0 раз, по мень-

шей мере 8,5 раз, по меньшей мере 9,0 раз, по меньшей мере 9,5 раз, или по меньшей мере 10 раз, например, по сравнению с экспрессией провоспалительного медиатора в одной или нескольких клетках соответствующего субъекта, не получавшего антитело против сортилина.

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов реализации может содержать любые из признаков, по отдельности или в комбинации, как описано в Разделах 1-7 ниже.

(1) Аффинность связывания антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело имеет константу диссоциации (K_d), составляющую <1 мкМ, <100 нМ, <10 нМ, <1 нМ, $<0,1$ нМ, $<0,01$ нМ, или $<0,001$ нМ (например, 10^{-8} М или меньше, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М).

Антитела против сортилина по данному изобретению могут иметь наномолярные или даже пикомолярные аффинности к антигену-мишени (например, человеческому сортилину или сортилину млекопитающих). В некоторых вариантах реализации, аффинность связывания антитела против сортилина по данному изобретению к антигену-мишени (например, человеческому сортилину или сортилину млекопитающих) измеряют по константе диссоциации, K_D . Константы диссоциации могут быть определены с помощью любой аналитической методики, включая любые биохимические или биофизические методы, такие как сортировка клеток с активацией флуоресценции (FACS), проточная цитометрия, иммуноферментный анализ (ИФА), поверхностный плазмонный резонанс (SPR), интерферометрия биослоев (см., например, Octet System фирмы ForteBio), технология мезомасштабного обнаружения (meso scale discover) (см., например, MSD-SET), калориметрия изотермического титрования (ИТС), дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), круговой дихроизм (CD), анализ методом остановленного потока, и колориметрические или флуоресцентные анализы плавления белков; или анализ связывания клеток. В некоторых вариантах реализации, K_D для сортилина определяют при температуре приблизительно 25°C . В некоторых вариантах реализации, константа диссоциации (K_D) может быть измерена при 4°C или при комнатной температуре, с использованием, например, анализа FACS или интерферометрии биослоев (BioLayer).

В некоторых вариантах реализации, K_D сортилина определяют при температуре приблизительно 4°C . В некоторых вариантах реализации, K_D определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела в моновалентной форме. В некоторых вариантах реализации, K_D определяют с использованием бивалентного антитела и мономерного рекомбинантного белка сортилина.

В некоторых вариантах реализации, K_D антитела против сортилина по данному изобретению для человеческого сортилина, сортилина млекопитающих, или обоих, измеряют с использованием FACS, как описано в данном документе (см., например, примеры 1 и 4). В некоторых вариантах реализации, K_D антитела против сортилина по данному изобретению для человеческого сортилина, сортилина млекопитающих, или обоих, измеряют с использованием интерферометрии биослоев, как описано в данном документе (см., например, пример 4).

В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение до 2,5 раз ниже, чем у антитела против сортилина, содержащего варируемую область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и варируемую область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79, при этом K_D определяют методом FACS (см., например, пример 1). В некоторых вариантах реализации, антитело против сортилина имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение в диапазоне от примерно $1,10\text{E}-8$ М до примерно $4,68\text{E}-10$ М, при этом K_D определяют методом FACS (см., например, пример 1), или от примерно 270 до примерно 2910 пМ, при этом K_D определяют методом интерферометрии биослоев (см., например, пример 4).

В некоторых вариантах реализации, K_D антитела против сортилина по данному изобретению для человеческого сортилина, сортилина млекопитающих, или обоих, может составлять менее 100 нМ, менее 90 нМ, менее 80 нМ, менее 70 нМ, менее 60 нМ, менее 50 нМ, менее 40 нМ, менее 30 нМ, менее 20 нМ, менее 10 нМ, менее 9 нМ, менее 8 нМ, менее 7 нМ, менее 6 нМ, менее 5 нМ, менее 4 нМ, менее 3 нМ, менее 2 нМ, менее 1 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,1 нМ, менее 0,09 нМ, менее 0,08 нМ, менее 0,07 нМ, менее 0,06 нМ, менее 0,05 нМ, менее 0,04 нМ, менее 0,03 нМ, менее 0,02 нМ, менее 0,01 нМ, менее 0,009 нМ, менее 0,008 нМ, менее 0,007 нМ, менее 0,006 нМ, менее 0,005 нМ, менее 0,004 нМ, менее 0,003 нМ, менее 0,002 нМ, менее 0,001 нМ, или менее 0,001 нМ.

Константы диссоциации (K_D) антител против сортилина для человеческого сортилина, сортилина млекопитающих, или обоих, могут составлять менее 10 нМ, менее 9,5 нМ, менее 9 нМ, менее 8,5 нМ, менее 8 нМ, менее 7,5 нМ, менее 7 нМ, менее 6,9 нМ, менее 6,8 нМ, менее 6,7 нМ, менее 6,6 нМ, менее 6,5 нМ, менее 6,4 нМ, менее 6,3 нМ, менее 6,2 нМ, менее 6,1 нМ, менее 6 нМ, менее 5,5 нМ, менее 5 нМ, менее 4,5 нМ, менее 4 нМ, менее 3,5 нМ, менее 3 нМ, менее 2,5 нМ, менее 2 нМ, менее 1,5 нМ, менее 1 нМ, менее 0,95 нМ, менее 0,9 нМ, менее 0,89 нМ, менее 0,88 нМ, менее 0,87 нМ, менее 0,86 нМ, менее 0,85 нМ, менее 0,84 нМ, менее 0,83 нМ, менее 0,82 нМ, менее 0,81 нМ, менее 0,8 нМ, менее 0,75 нМ, ме-

имеют K_D для человеческого сортилина, которая по меньшей мере в 50 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют K_D для человеческого сортилина, которая по меньшей мере в 10 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют K_D для человеческого сортилина, которая по меньшей мере в 5 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60. В некоторых вариантах реализации, антитела против сортилина по данному изобретению имеют K_D для человеческого сортилина, которая по меньшей мере в 2 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60.

В конкретном варианте реализации, антитело против сортилина по данному изобретению имеет K_D для человеческого сортилина, которая примерно в 2,79 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60. В другом конкретном варианте реализации, антитело против сортилина по данному изобретению имеет K_D для человеческого сортилина, которая примерно в 2,05 раз ниже, чем у антитела против сортилина, имеющего вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соответствующие S-60.

(2) Фрагменты антител.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело (antibody antibodies) представляет собой фрагмент антитела. Фрагменты антител включают, без ограничений, Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- и scFv-фрагменты, и другие фрагменты, описанные ниже. Обзор некоторых фрагментов антител приведен в Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Обзор scFv-фрагментов приведен, например, в WO 93/16185; и патентах США № 5571894 и 5587458. Обсуждение Fab- и F(ab')₂-фрагментов, содержащих остатки эпитопа связывания рецептора реутилизации и имеющих повышенный *in vivo* период полувыведения, приведено в патенте США № 5869046.

Диатела представляют собой фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, которые могут быть бивалентными или биспецифическими. См., например, EP404097; WO 1993/01161; Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Триатела (triabodies) и тетратела (tetraabodies) также описаны в Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие весь или часть вариабельного домена тяжелой цепи, или весь или часть вариабельного домена легкой цепи антитела. В некоторых вариантах реализации, однодоменное антитело представляет собой однодоменное антитело человека (см., например, патент США № 6248516).

Фрагменты антител могут быть получены различными методами, включая, без ограничений, протеолитический гидролиз интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами (например, *E. coli* или фагом), как описано в данном документе.

В некоторых вариантах реализации, фрагмент антитела используется в комбинации со вторым антителом к сортилину и/или с одним или несколькими антителами, которые специфически связывают патогенный белок, выбранный из: бета-амилоида или его фрагментов, тау-белка (Tau), IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретины, лизоцима, бета-2-микроглобулина, желсолина, кератоэпителина, цистатина, иммуноглобулина легкой цепи AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептиды с повторами глицин-аргинин (GR), пептиды с повторами пролин-аланин (PA), пептидов с повторами пролин-аргинин (PR), и любой их комбинации.

(3) Химерные и гуманизированные антитела.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело представляет собой химерное антитело. Некоторые химерные антитела описаны, например, в патенте США № 4816567. В одном примере, химерное антитело содержит не-человеческую вариабельную область (например, вариабельную область, полученную от мышей, крыс, хомячков, кроликов или не являющегося человеком примата, такого как обезьяны) и человеческую константную область. В другом примере, химерное антитело представляет собой антитело "с переключением класса", класс или подкласс которого был изменен по сравнению с исходным антителом. Химерные антитела включают их антигенсвязывающие фрагменты.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело представляет собой гуманизированное антитело. Типично, нечеловеческое антитело гуманизируют с целью снижения иммуногенности для людей, при сохранении специфичности и аффинности исходного нечеловеческого антитела. В некоторых вариантах реализации, гуманизированное антитело является существу неиммуногенным для людей. В некоторых вариантах реализации, гуманизированное антитело

имеет по существу такую же аффинность к мишени, как и антитело другого вида, из которого было получено гуманизованное антитело. См., например, патенты США № 5530101, 5693761; 5693762; и 5585089. В некоторых вариантах реализации, идентифицируют аминокислоты вариабельного домена антитела, которые могут быть модифицированы без снижения нативной аффинности антигенсвязывающего домена, при снижении его иммуногенности. См., например, патенты США № 5766886 и 5869619. Как правило, гуманизованное антитело содержит один или несколько вариабельных доменов, в которых HVR (или их части) получены из нечеловеческого антитела, и FR (или их части) получены из последовательностей человеческого антитела. Гуманизованное антитело, необязательно, будет также содержать по меньшей мере часть человеческой константной области. В некоторых вариантах реализации, некоторые остатки FR гуманизованного антитела замещают на соответствующие остатки нечеловеческого антитела (например, антитела, из которого получают остатки HVR), например, для восстановления или повышения специфичности или аффинности антитела.

Обзор гуманизованных антител и способов их получения приведен, например, в Almagro et al. *Front. Biosci.* 13:161 9-1633 (2008), и дополнительные описания приведены, например, в патентах США № 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409. Человеческие каркасные участки, которые могут быть использованы для гуманизации, включают, без ограничений: каркасные участки, выбранные с использованием метода "наилучшего соответствия" (см., например, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); каркасные участки, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител с конкретной подгруппой вариабельных областей легкой или тяжелой цепей (см., например, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); и Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993)); человеческие зрелые (соматически мутированные) каркасные участки или каркасные участки человеческой зародышевой линии (см., например, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); и каркасные участки, полученные в результате скрининга библиотек FR (см., например, Vaca et al. *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al. *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

(4) Человеческие антитела.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело представляет собой человеческое антитело. Человеческие антитела могут продуцироваться с использованием различных методов, известных специалистам. Человеческие антитела описаны в общем в van Dijk et al. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001) и Lonberg *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

Человеческие антитела могут быть получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для продуцирования интактных человеческих антител или интактных антител с человеческими вариабельными областями в ответ на антигенный стимул. Можно сконструировать мышинные штаммы, дефицитные по продуцированию мышинных антител, с большими фрагментами локусов человеческого Ig, в расчете на то, что такие мыши будут продуцировать человеческие антитела в отсутствие мышинных антител. Большие фрагменты человеческого Ig могут сохранять большое разнообразие изменчивого гена, а также надлежащую регуляцию продуцирования и экспрессии антитела. Используя мышинные механизмы диверсификации и селекции антител и отсутствие иммунологической толерантности к человеческим белкам, репертуар человеческих антител, воспроизводимый такими мышинными штаммами, может содержать высокоаффинные полностью человеческие антитела против любого антигена, представляющего интерес, включая человеческие антигены. Используя гибридные технологии, можно продуцировать и селектировать антигенспецифические человеческие MAb с желательной специфичностью. Некоторые типичные примеры способов описаны в патенте США № 5545807, EP 546073, и EP 546073. См. также, например, патенты США № 6075181 и 6150584, описывающие технологию XENOMOUSE™; патент США № 5770429, описывающий технологию HUMAB®; патент США № 7041870, описывающий технологию K-M MOUSE®, и публикацию патентной заявки США № US 2007/0061900, описывающую технологию VELOCIMOUSE®. Человеческие вариабельные области из интактных антител, генерируемых такими животными, могут быть дополнительно модифицированы, например, путем комбинирования с другой человеческой константной областью.

Человеческие антитела также могут быть получены методами на основе гибридом. Были описаны человеческие миеломные и мышино-человеческие гетеромиеломные клеточные линии для продуцирования человеческих моноклональных антител (см., например, Kozbor *J. Immunol.* 133:3001 (1984), и Voetner et al. *J. Immunol.* 147:86 (1991)). Человеческие антитела, сгенерированные по технологии человеческой В-клеточной гибридомы, также описаны в Li et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1 03:3557-3562 (2006). Дополнительные способы включают описанные, например, в патенте США № 7189826 (описывающем продуцирование моноклональных человеческих антител IgM из гибридных клеточных линий). Технология человеческих гибридом (технология Trioma) также описана в Vollmers et al. *Histology and Histopathology* 20(3):927-937 (2005), и Vollmers et al. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 27(3):185-91 (2005). Человеческие антитела могут быть также получены путем выделения последовательностей вариабельного домена клона Fv, выбранных из человеческих библиотек фагового дисплея. Такие последовательности вариабельного домена могут быть затем объединены с желательным человеческим константным доменом. Методы селекции человеческих антител из библиотек антител опи-

саны ниже.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело представляет собой человеческое антитело, выделенное *in vitro* методами и/или скринингом комбинаторных библиотек антител с желательной активностью или активностями. Пригодные примеры включают, без ограничений, фаговый дисплей (CAT, Morphosys, Duax, Biosite/Medarex, Xoma, Symphogen, Alexion (ранее Proliferon), Affimed) рибосомный дисплей (CAT), платформы на основе дрожжей (Adimab) и т.п. В определенных методах фагового дисплея, репертуары генов VH и VL раздельно клонируют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рекомбинируют случайным образом в фаговые библиотеки, которые могут быть затем подвергнуты скринингу на антиген-связывающий фаг, как описано Winter et al. *Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455 (1994). Например, специалистам известны различные способы получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек на антитела, обладающие желательными характеристиками связывания. См. также Sidhu et al. *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310, 2004; Lee et al. *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093, 2004; Fellouse *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); и Lee et al. *J. Immunol. Methods* 284(-2):1 19-132 (2004). Фаг типично отображает фрагменты антител, в виде одноцепочечных Fv- (scFc-)фрагментов или в виде Fab-фрагментов. Библиотеки от иммунизированных источников дают высокоаффинные антитела к иммуногену без необходимости конструирования гибридом. Альтернативно, может быть клонирован наивный репертуар (например, человека) для обеспечения единого источника антител к широкому спектру чужеродных, а также собственных антигенов, без какой-либо иммунизации, как описано Griffiths et al. *EMBO J.* 12: 725-734 (1993). Наконец, наивные библиотеки также могут быть получены искусственно путем клонирования ререаранжированных сегментов V-гена из стволовых клеток, и использования праймеров для ПЦР, содержащих случайные последовательности для кодирования высоковариабельных областей HVR3 и для проведения реаранжировки *in vitro*, как описано Hoogenboom et al. *J. Mol. Biol.*, 227:381-388, 1992. Патентные публикации, описывающие фаговые библиотеки человеческого антитела, включают, например: патент США № 5750373, и патентные публикации США № 2007/0292936 и 2009/0002360. Антитела, выделенные из библиотек человеческих антител, считаются в данном документе человеческими антителами или фрагментами человеческих антител.

(5) Константные области, содержащие Fc-области.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело содержит Fc. В некоторых вариантах реализации, Fc имеет изотип человеческого IgG1, IgG2, IgG3 и/или IgG4. В некоторых вариантах реализации, антитело принадлежит к классу IgG, классу IgM, или классу IgA.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах реализации, антитело содержит константную область человеческого IgG2. В некоторых вариантах реализации, константная область человеческого IgG2 содержит Fc-область. В некоторых вариантах реализации, антитело индуцирует одну или несколько активностей сортилина или (or) независимо от связывания с Fc-рецептором. В некоторых вариантах реализации, антитело связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах реализации, ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ).

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах реализации, антитело содержит константную область мышинового IgG1. В некоторых вариантах реализации, антитело содержит константную область человеческого IgG1. В некоторых вариантах реализации, константная область человеческого IgG1 содержит Fc-область. В некоторых вариантах реализации, антитело связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах реализации, ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ).

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах реализации, антитело содержит константную область человеческого IgG4. В некоторых вариантах реализации, константная область человеческого IgG4 содержит Fc-область. В некоторых вариантах реализации, антитело связывает ингибирующий Fc-рецептор. В некоторых вариантах реализации, ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий Fc-гамма-рецептор IIВ (FcγIIВ).

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусмотряваемых в данном документе, антитело имеет гибридный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах реализации, антитело содержит аминокислотную последовательность, содержащую аминокислоты 118-260 человеческого IgG2 в соответствии с нумерацией EU и аминокислоты 261-447 человеческого IgG4 в соответствии с нумерацией EU (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

В некоторых вариантах реализации, Fc-область повышает кластеризацию без активации компонента по сравнению с соответствующим антителом, содержащим Fc-область, не содержащую аминокислотных замен. В некоторых вариантах реализации, антитело индуцирует одну или несколько активностей мишени, специфически связываемой антителом. В некоторых вариантах реализации, антитело связывается с сортилином.

Также может быть желательной модификация антитела против сортилина по данному изобретению с целью модификации эффекторной функции и/или для увеличения периода полувыведения антитела из сыворотки. Например, связывающий сайт рецептора Fc в константной области может быть модифицирован или мутирован для устранения или уменьшения аффинности связывания с определенными рецепторами Fc, такими как FcγRI, FcγRII, и/или FcγRIII для снижения антителозависимой клеточно-медируемой цитотоксичности. В некоторых вариантах реализации, эффекторную функцию нарушают путем удаления N-гликозилирования Fc-участка (например, в домене CH2 IgG) антитела. В некоторых вариантах реализации, эффекторную функцию нарушают путем модификации таких участков, как 233-236, 297 и/или 327-331 человеческого IgG, как описано в WO 99/58572 и Armour et al. *Molecular Immunology* 40:585-593 (2003); Reddy et al. *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000). В других вариантах реализации, также может быть желательной модификация антитела против сортилина по данному изобретению с целью модификации эффекторной функции для увеличения селективности обнаружения по отношению к ITIM-содержащему FcγRIIb (CD32b) для повышения кластеризации антител сортилина на прилегающих клетках без активации гуморальных ответов, включая антителозависимую клеточно-медируемую цитотоксичность и антителозависимый клеточный фагоцитоз.

Для увеличения периода полувыведения антител сыворотки, можно включить в антитело эпитоп связывания рецептора реутилизации (особенно фрагмент антитела), как описано, например, в патенте США № 5739277. В используемом в данном документе значении, термин "эпитоп связывания рецептора реутилизации" относится к эпитопу Fc-участка молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, или IgG₄), ответственному за увеличение *in vivo* периода полувыведения молекулы IgG из сыворотки. Другие модификации аминокислотной последовательности.

(6) Мультиспецифические антитела.

Мультиспецифическими являются антитела, которые обладают специфичностью связывания по отношению к по меньшей мере двум разным эпитопам, включая расположенные на одном или на разных полипептидах (например, одном или нескольких полипептидах сортилина по данному изобретению). В некоторых вариантах реализации, мультиспецифическое антитело может быть биспецифическим антителом. В некоторых вариантах реализации, мультиспецифическое антитело может быть триспецифическим антителом. В некоторых вариантах реализации, мультиспецифическое антитело может быть тетраспецифическим антителом. Такие антитела могут быть получены из полноразмерного антитела или фрагментов антител (например, F(ab')₂ биспецифических антител). В некоторых вариантах реализации, мультиспецифическое антитело содержит первый антигенсвязывающий участок, который связывается с первым сайтом сортилина, и содержит второй антигенсвязывающий участок, который связывается со вторым сайтом сортилина. В некоторых вариантах реализации, мультиспецифические антитела содержат первый антигенсвязывающий участок, который связывается с сортилином, и второй антигенсвязывающий участок, который связывается со вторым полипептидом.

В данном документе предусматриваются мультиспецифические антитела, содержащие первый антигенсвязывающий участок, при этом первый антигенсвязывающий участок содержит шесть HVR антитела, описанного в данном документе, которое связывается с сортилином, и второй антигенсвязывающий участок, который связывается со вторым полипептидом. В некоторых вариантах реализации, первый антигенсвязывающий участок содержит V_H или V_L антитела, описанного в данном документе.

В некоторых вариантах реализации любого из мультиспецифических антител, второй полипептид представляет собой (a) антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер; (b) антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер, выбранный из рецептора трансферрина (TR), рецептора инсулина (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2, родственных рецептору липопротеина низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TМЕМ 30(A), домена белковой трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида ангиопер и ANG1005; (c) патогенный белок, выбранный из бета-амилоида, олигомерного бета-амилоида, бета-амилоидных бляшек, белка-предшественника амилоида или его фрагментов, тау-белка (Tau), IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, C9orf72 (открытая рамка считывания 72 хромосомы 9), белка с9RAN, прионного белка, PrPSc, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, атаксина 1, атаксина 2, атаксина 3, атаксина 7, атаксина 8, атаксина 10, телец Леви, предсердного натриуретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медиана, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гелсолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, связанных с не-ATG повторами (RAN) продуктов трансляции, пептидов с дипептидными повторами (DPR), пептидов с повторами глицин-аланин (GA), пептидов с повторами глицин-пролин (GP), пептидов с повторами глицин-аргинин (GR), пептидов с повторами пролин-аланин (PA), убиквитина, и пептидов с повторами пролин-аргинин (PR); (d) лиганды и/или белки, экспрессируемые на иммунных клетках, при этом лиганды и/или белки выбирают из CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137/4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA-4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, BTLA, KIR, GAL9, TIM3, A2AR, LAG-3, и фосфатидилсерина; и/или (e) белок, липид, полисахарид или гликолипид, экспрессируемый на одной или нескольких опухолевых клетках, и любую их комбинацию.

Специалистам известны многочисленные антигены, которые облегчают транспорт через гематоэнцефалический барьер (см., например, Gabathuler R. *Neurobiol. Dis.* 37:48-57 (2010)). Такие вторые антигены включают, без ограничений, рецептор трансферрина (TR), рецептор инсулина (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2, родственные рецептору липопротеина низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, включая CRM197 (нетоксичный мутант дифтерийного токсина), однодоменные антитела ламы, такие как TМЕМ 30(A) (флиппаза), домены белковой трансдукции, такие как TAT, Syn-B, или пенетратин, полиаргинин или вообще положительно заряженные пептиды, пептиды ангиореп, такие как ANG1005 (см., например, Gabathuler, 2010), и другие белки клеточной поверхности, присутствующие в повышенном количестве на эндотелиальных клетках гематоэнцефалического барьера (см., например, Daneman et al. *PLoS One* 5(10):e13741 (2010)).

Поливалентные антитела могут распознавать антиген сортилина, а также, без ограничений, дополнительные антигены - антиген A β пептида, или антиген белка α -синуклеина, или антиген тау-белка, или антиген белка TDP-43, или антиген прионного белка, или антиген белка хантингтина, или антиген продуктов трансляции RAN, включая дипептидные повторы (пептиды DPR), состоящие из глицина-аланина (GA), глицина-пролина (GP), глицина-аргинина (GR), пролина-аланина (PA) или пролина-аргинина (PR), рецептор инсулина, рецептор инсулиноподобного фактора роста. Рецептор трансферрина или любой другой антиген, облегчающий перемещение антитела через гематоэнцефалический барьер. В некоторых вариантах реализации, второй полипептид представляет собой трансферрин. В некоторых вариантах реализации, второй полипептид представляет собой тау-белок (Тау). В некоторых вариантах реализации, второй полипептид представляет собой A β (бета-амилоидный пептид). В некоторых вариантах реализации, второй полипептид представляет собой TREM2. В некоторых вариантах реализации, второй полипептид представляет собой α -синуклеин.

Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (предпочтительно - две полипептидные цепи), при этом полипептидная цепь или цепи содержат два или больше переменных доменов. Например, полипептидная цепь или цепи могут содержать VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc, где VD1 представляет собой первый переменный домен, VD2 представляет собой второй переменный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь Fc-участка, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид, и n равен 0 или 1. Аналогично, полипептидная цепь или цепи могут содержать цепь V_H-C_{H1}-гибкий линкер-V_H-C_{H1}-Fc-область; или цепь V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}-Fc-область. Поливалентное антитело по данному документу предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (и предпочтительно - четыре) полипептида переменных доменов легкой цепи. Поливалентное антитело по данному документу может, например, содержать от примерно двух до примерно восьми полипептидов переменных доменов легкой цепи. Полипептиды переменных доменов легкой цепи, предусмотриваемые в данном документе, содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно, дополнительно содержат CL-домен.

Методы получения мультиспецифических антител включают, без ограничений, рекомбинантную коэкспрессию двух пар тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулина, имеющих разные специфичности (см. Milstein and Cuello *Nature* 305:537 (1983), WO 93/08829, и Traunecker et al. *EMBO J.* 10:3655 (1991)), и технологию "knob-in-hole" (выступ-во-впадину) (см., например, патент США № 5731168). См. также WO 2013/026833 (CrossMab). Мультиспецифические антитела могут также быть получены по технологии направляющего эффекта электростатических взаимодействий для получения Fc-гетеродимерных молекул антитела (WO 2009/089004A1); путем перекрестного связывания двух или больше антител (см., например, патент США № 4676980); с использованием лейцина; с использованием технологии "диатела" для получения биспецифических фрагментов антител (см., например, Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)); и путем использования димеров одноцепочечных Fv (scFv) (см., например, Gruber et al. *J. Immunol.* 152:5368 (1994)); и путем получения триспецифических антител, как описано, например, в Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Рекомбинантные антитела с тремя или больше функциональными антигенсвязывающими сайтами, включая антитела "Octopus" (антитела-"осьминоги" с тремя или более антигенсвязывающими сайтами и двумя или более переменными областями), также включены в данный документ (см., например, US 2006/0025576). Антитело в данном документе включает также "FAB двойного действия" или DAF (Dual Acting FAb), содержащие антигенсвязывающий сайт, который связывается с множеством сортилинов (см., например, US 2008/0069820).

(7) Антитела с улучшенной стабильностью.

Также предусматриваются модификации аминокислотной последовательности антител против сортилина по данному изобретению, или фрагменты таких антител, для улучшения стабильности при производстве, хранении, и *in vivo* введении. Например, может быть желательным снизить деградацию антител или фрагментов антител по данному изобретению различными путями, включая, без ограничений, окисление и деамидирование. Варианты аминокислотных последовательностей антител или фрагменты антител получают путем введения соответствующих нуклеотидных изменений в нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включа-

ют, например, делеции, и/или инсерции, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Может быть проведена любая комбинация делеций, инсерций и замен для получения готового конструкта, при условии, что готовый конструкт обладает желательными характеристиками (т.е. пониженной чувствительностью к деградации).

В некоторых вариантах реализации, сайт аспарагина (N33) в области HVR-L1 антитела против сортилина по данному изобретению может быть восприимчивым к деградации посредством деамидирования. В некоторых вариантах реализации, сайт аспарагина (N33) в области HVR-L1 S-60-15 (SEQ ID NO: 8) может быть восприимчивым к деамидированию. После деамидирования, сайт аспарагина (N33) в области HVR-L1 S-60-15 приводит к замене Asn на Asp/изо-Asp (IsoAsp). В некоторых вариантах реализации, сайт аспарагина (N33) в области HVR-L1 S-60-15 может быть замещен для предотвращения или уменьшения деамидирования. Неограничительные примеры вариантов аминокислотных последовательностей S-60-15, имеющих аминокислотные замены в сайте аспарагина (N33) области HVR-L1 включают S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M] или S-60-15.17 [N33L].

(8) Варианты антител.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предложенных в данном документе, предусматриваются варианты аминокислотных последовательностей антител. Например, может быть желательным улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антитела.

(i) Варианты замен, инсерций и делеций.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предложенных в данном документе, предусматриваются варианты антитела, имеющие одну или несколько аминокислотных замен. Варианты аминокислотных последовательностей антитела могут быть получены путем введения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеций и/или инсерций и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела.

Таблица 37
Аминокислотные замены

Исходный остаток	Типичные примеры замен	Предпочтительные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Значительные модификации биологических свойств антитела осуществляются путем выбора замен, значительно отличающихся по своему влиянию на поддержание (а) структуры полипептидного скелета

на участке замены, например, с конформацией листа или спирали, (b) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени, или (c) объема боковой цепи. Природные остатки делятся на группы по общим свойствам боковых цепей:

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

Например, неконсервативные замены могут включать обмен какого-либо члена одного из этих классов на член из другого класса. Такие замещенные остатки могут быть введены, например, в области человеческого антитела, являющиеся гомологичными с не-человеческими антителами, или в негомологичные области молекулы.

При введении изменений в полипептид или антитело, описанные в данном документе, в соответствии с определенными вариантами реализации, может приниматься во внимание индекс гидропатичности аминокислот. Каждой аминокислоте был присвоен индекс гидропатичности на основе ее характеристик гидрофобности и заряда. Они имеют следующие значения: изолейцин (+4,5); валин (+4,2); лейцин (+3,8); фенилаланин (+2,8); цистеин/цистин (+2,5); метионин (+1,9); аланин (+1,8); глицин (-0,4); треонин (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тирозин (-1,3); пролин (-1,6); гистидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамин (-3,5); аспарат (-3,5); аспарагин (-3,5); лизин (-3,9); и аргинин (-4,5).

Специалистам понятна важность индекса гидропатичности аминокислот в придании белку биологической функции взаимодействия. Kyte et al. *J. Mol. Biol.*, 157:105-131 (1982). Известно, что определенные аминокислоты могут быть замещены на другие аминокислоты, имеющие схожий индекс или количественную оценку гидропатичности, и сохранять при этом схожую биологическую активность. При внесении изменений на основе индекса гидропатичности, некоторые варианты реализации включают замену аминокислот, имеющих индексы гидропатичности, отличающиеся не более чем на ± 2 . Некоторые варианты реализации включают отличие не более чем на ± 1 , и некоторые варианты реализации включают отличие не более чем на $\pm 0,5$.

Специалистам также понятно, что замена схожих аминокислот может быть эффективно проведена на основе гидрофильности, в частности, когда образующийся при этом биологически функциональный белок или пептид предназначен для использования в иммунологических вариантах реализации, как в данном случае. В некоторых вариантах реализации, наибольшая локальная средняя гидрофильность белка, определяемая гидрофильностью его смежных аминокислот, коррелирует с его иммуногенностью и антигенностью, т.е. с биологическими свойствами белка.

Аминокислотным остаткам были присвоены следующие значения гидрофильности: аргинин (+3,0); лизин (+3,0 \pm 1); аспарат (+3,0 \pm 1); глутамат (+3,0 \pm 1); серин (+0,3); аспарагин (+0,2); глутамин (+0,2); глицин (0); треонин (-0,4); пролин (-0,5 \pm 1); аланин (-0,5); гистидин (-0,5); цистеин (-1,0); метионин (-1,3); валин (-1,5); лейцин (-1,8); изолейцин (-1,8); тирозин (-2,3); фенилаланин (-2,5) и триптофан (-3,4). При внесении изменений на основе схожих значений гидрофильности, некоторые варианты реализации включают замену аминокислот, имеющих значения гидрофильности, отличающиеся не более чем на ± 2 , некоторые варианты реализации включают значения, отличающиеся не более чем на ± 1 , и некоторые варианты реализации включают значения, отличающиеся не более чем на $\pm 0,5$. На основе гидрофильности можно также идентифицировать эпитопы первичных аминокислотных последовательностей. Такие участки также называются "эпитопные коровые области".

В некоторых вариантах реализации, замены, инсерции или делеции могут быть расположены в одном или нескольких HVR, при условии, что такие изменения не снижают существенно способность антитела связывать антиген. Например, консервативные изменения (например, консервативные замены, как предусматривается в данном документе), которые не снижают существенно аффинность связывания, могут быть выполнены в HVR. Такие изменения могут, например, быть расположены за пределами контактирующих с антигеном остатков в HVR. В некоторых вариантах реализации вариантов последовательностей VH и VL, указанных выше, каждый HVR является неизменным, или содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

Инсерции аминокислотных последовательностей включают amino- и/или карбокси-терминальные слияния, имеющие длину от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или больше остатков, а также внутривцепочечные инсерции одного или множества аминокислотных остатков. Примеры терминальных инсерций включают антитело с N-концевым остатком метионила. Другие инсерционные варианты молекул антитела включают слияние антитела на N- или C-конце с ферментом (например, для ADEPT (антитело-опосредованная терапия с использованием ферментов и пролекарств)) или полипептидом, который увеличивает период полувыведения антител сыворотки.

Любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела, также может быть замещен, как правило, на серин, для повышения окислительной стабильности молеку-

лы и предотвращения aberrантного сшивания. Наоборот, цистеиновая связь (связи) могут быть добавлены в антитело для повышения его стабильности (в частности, в тех случаях, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fv-фрагмент).

(ii) Варианты гликозилирования.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело изменяют с целью увеличения или снижения степени гликозилирования антитела. Добавление или делецию сайтов гликозилирования в антителе можно удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы создать или удалить один или несколько сайтов гликозилирования.

Гликозилирование антител обычно является N-связанным или O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина, являются распознающими последовательностями для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из Сахаров N-ацетилгалактозамина (aceylgalactosamine), галактозы или ксилозы к оксиаминокислоте, чаще всего серину или треонину, хотя также могут быть использованы 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

Добавление сайтов гликозилирования в антитело удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или несколько вышеописанных трипептидных последовательностей (для N-связанных сайтов гликозилирования). Изменения могут также быть выполнены путем добавления или замены одного или нескольких остатков серина или треонина к последовательности исходного антитела (для O-связанных сайтов гликозилирования).

В тех случаях, когда антитело содержит Fc-область, может быть изменен присоединенный к нему углевод. Нативные антитела, продуцируемые клетками млекопитающих, типично содержат разветвленный биантенный олигосахарид, как правило, присоединенный с помощью N-связи к Asn²⁹⁷ в соответствии с нумерацией по Кабату домена CH₂ Fc-участка. Олигосахарид может включать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу, и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в "стебле" биантенной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах реализации, модификации олигосахаридов в антителе по изобретению могут быть проведены с целью создания вариантов антитела с определенными улучшенными свойствами.

В одном варианте реализации, предусматриваются варианты антитела, имеющие углеводную структуру с отсутствием фукозы, присоединенной (прямо или опосредованно) к Fc-участку. См., например, патентные публикации США № 2003/0157108 и 2004/0093621. Примеры публикаций, касающихся "дефукозилированных" или "фукоза-дефицитных" вариантов антитела, включают: US 2003/0157108; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004). Примеры клеточных линий, способных продуцировать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Led 3, дефицитные по фукозилрованию белка (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US 2003/0157108), и нокаутные клеточные линии, такие как нокаутные по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, клетки CHO (см., например, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004) и Kanda et al. *Biotechnol. Bioeng.* 94(4):680-688 (2006)).

(iii) Модифицированные константные области.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, Fc антитела представляет собой изотипы и/или модификации Fc антитела. В некоторых вариантах реализации, изотип и/или модификация Fc антитела способны связываться с Fc-гамма-рецептором.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, модифицированная Fc антитела представляет собой модифицированную Fc IgG1 (IgG1 modified Fc). В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит одну или несколько аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах реализации, одну или несколько аминокислотных замен выбирают из N297A (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields et al. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591-6604), L234A, L235A (Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Alegre et al. (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al. (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P331S (Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, и/или T256E, где положения аминокислот соответствуют схеме нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, антитело относится к изотипу IgG1 и Fc-область содержит аминокислотные замены в положениях L234A, L235A и P331S, при этом нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутацию N297A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации D265A и N297A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутацию D270A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит мутации L234A и L235A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации L234A и G237A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации L234A, L235A и G237A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит одну или несколько (включая все) из мутаций P238D, L328E, E233, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит одну или несколько из мутаций S267E/L328F в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации P238D, L328E, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации P238D, S267E, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации C226S, C229S, E233P, L234V и L235A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации L234F, L235E, и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутации S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит мутацию S267E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит замену константной области тяжелой цепи 1 (CH1) и шарнирной области IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2 (аминокислоты 118-230 IgG2 в соответствии с системой нумерации EU) с каппа-легкой цепью.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, Fc содержит две или больше аминокислотных замен, которые увеличивают кластеризацию антитела без активации комплемента по сравнению с соответствующим антителом, имеющим Fc-область, не содержащую двух или больше аминокислотных замен. Соответственно, в некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 представляет собой антитело, содержащее Fc-область, при этом антитело содержит аминокислотную замену в положении E430G и одну или несколько аминокислотных замен в Fc-области в положении остатка, выбранном из: L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, и любой их комбинации, в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G и K322A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G, A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A, A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A и A330S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A и P331S в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержать и сочетаться с мутацией A330L (Lazar et al. Proc Natl Acad Sci USA, 103:4005-4010 (2006)), или одной или несколькими мутациями L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al. Proc Natl Acad Sci USA, 105:20167-20172 (2008)), в соответствии с системой нумерации EU, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержать одну или несколько из A330L, A330S, L234F, L235E, и/или P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержать одну или несколько мутаций для увеличения периода полувыведения антитела сыворотки человека (например, одну или несколько (включая все) из мутаций M252Y, S254T, и T256E в соответствии с системой нумерации EU). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1, модифи-

цированная Fc IgG1 может дополнительно содержать одну или несколько из E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, и/или S440W в соответствии с системой нумерации EU.

Другие аспекты данного изобретения относятся к антителам, имеющим модифицированные константные области (т.е. Fc-области). Антитело, зависимое от связывания с рецептором FcγR для активации рецепторов-мишеней, может терять свою агонистическую активность в результате модификации для устранения связывания FcγR (см., например, Wilson et al. *Cancer Cell* 19:101-113 (2011); Armour et al. *Immunology* 40:585-593 (2003); и White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015)). По существу, считается, что антитело против сортилина по данному изобретению с соответствующей специфичностью эпитопа может активировать антиген-мишень с минимальными нежелательными эффектами, когда антитело имеет домен Fc человеческого изоформа IgG2 (CH1 и шарнирная область) или другой тип домена Fc, способный предпочтительно связывать ингибирующие рецепторы FcγRIIB, или его вариант.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, модифицированная Fc антитела представляет собой модифицированную Fc IgG2. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG2 содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG2 содержит одну или несколько аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изоформа). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, одну или несколько аминокислотных замен выбирают из V234A (Alegre et al. *Transplantation* 57:1537-1543 (1994); Xu et al. *Cell Immunol*, 200:16-26 (2000)); G237A (Cole et al. *Transplantation*, 68:563-571 (1999)); H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour et al. *Eur J Immunol* 29: 2613-2624 (1999); Armour et al. *The Haematology Journal* 1 (Suppl.1):27 (2000); Armour et al. *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27 (2000)), C219S, и/или C220S (White et al. *Cancer Cell* 27, 138-148 (2015)); S267E, L328F (Chu et al. *Mol Immunol*, 45:3926-3933 (2008)); и M252Y, S254T, и/или T256E, в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях V234A и G237A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях C219S или C220S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотную замену C127S в соответствии с системой нумерации EU (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al. *Protein Sci.* 19:753-762 (2010); и WO 2008/079246). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изоформ IgG2 с константным доменом каппа-легкой цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации EU (White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015); Lightle et al. *Protein Sci.* 19:753-762 (2010); и WO 2008/079246).

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изоформ IgG2 с константным доменом каппа-легкой цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит аминокислотную замену C219S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изоформ IgG2 с константным доменом каппа-легкой цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит константный домен 1 тяжелой цепи изоформа IgG2 (CH1) и шарнирную область (White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015)). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, CH1 изоформа IgG2 и шарнирная область содержат аминокислотную последовательность 118-230 в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc-область антитела содержит аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F, или обе, и/или аминокислотную замену N297A или N297Q в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc дополнительно содержит одну или несколько аминокислотных замен в положениях E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, и S440W в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc может дополнительно содержать одну или несколько мутаций для увеличения периода полувыведения антитела сыворотки человека (например, одну или несколько (включая все) из мутаций M252Y, S254T, и T256E в соответствии с системой нумерации EU). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc может дополнительно содержать A330S и P331S.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc представляет собой гибридную Fc IgG2/4. В некоторых вариантах реализации, гибридная Fc IgG2/4 содержит аминокислоты

(aa) 118-260 IgG2 и аминокислоты 261-447 IgG4. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG2, Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен в положениях H268Q, V309L, A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит одну или несколько дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F; L235E или P331S, в соответствии с системой нумерации EU; и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен в положении остатка, выбранном из C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y, и любой их комбинации, в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G и K322A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A, A330S и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A и A330S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, K322A и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E345R, E430G и S440Y в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любых антител, предусматриваемых в данном документе, модифицированная Fc антитела представляет собой модифицированную Fc IgG4. В некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG4 содержит одну или несколько модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации, модифицированная Fc IgG4 содержит одну или несколько аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-областью дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, одну или несколько аминокислотных замен выбирают из L235A, G237A, S229P, L236E (Reddy et al. *J Immunol* 164:1925-1933(2000)), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, и/или T256E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc может дополнительно содержать L235A, G237A, и E318A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc может дополнительно содержать S228P и L235E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, модифицированная Fc IgG4 может дополнительно содержать S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, модифицированная Fc IgG4 содержит и может сочетаться с мутацией S228P в соответствии с системой нумерации EU (Angal et al. *Mol Immunol.* 30:105-108 (1993)) и/или одной или несколькими мутациями, описанными в (Peters et al. *J Biol Chem.* 287(29):24525-33 (2012)) для повышения стабилизации антитела.

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, модифицированная Fc IgG4 может дополнительно содержать одну или несколько мутаций для увеличения периода полувыведения антитела сыворотки человека (например, одну или несколько (включая все) из мутаций M252Y, S254T, и T256E в соответствии с системой нумерации EU).

В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит L235E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит одну или несколько аминокислотных замен в положении остатка, выбранном из C127S, F234A, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, E345R, E430G, S440Y, и любой их комбинации, в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G и P331S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E430G и K322A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотную за-

мену в положении E430 в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc-область содержит аминокислотные замены в положениях E430G и K322A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах реализации любой из модифицированных Fc IgG4, Fc содержит аминокислотные замены в положениях E345R, E430G и S440Y в соответствии с системой нумерации EU.

(9) Другие модификации антитела.

В некоторых вариантах реализации любых из антител, антитело представляет собой производное. Термин "производное" относится к молекуле, которая содержит химическую модификацию, отличную от инсерции, делеции, или замены аминокислот (или нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах реализации, производное содержит ковалентные модификации, включая, без ограничений, химическую связь с полимерами, липидами, или другими органическими или неорганическими фрагментами. В некоторых вариантах реализации, химически модифицированный антигенсвязывающий белок может иметь больший период полувыведения из циркуляции, чем антигенсвязывающий белок, который не был химически модифицирован. В некоторых вариантах реализации, химически модифицированный антигенсвязывающий белок может иметь улучшенную способность к нацеливанию на желательные клетки, ткани, и/или органы. В некоторых вариантах реализации, дериватизированный антигенсвязывающий белок ковалентно модифицируют для включения одного или нескольких присоединенных фрагментов водорастворимых полимеров, включая, без ограничений, полиэтиленгликоль, полиоксиэтиленгликоль, или полипропиленгликоль. См., например, патенты США № 4640835, 4496689, 4301144, 4670417, 4791192 и 4179337. В некоторых вариантах реализации, дериватизированный антигенсвязывающий белок содержит один или несколько полимеров, включая, без ограничений, монометоксиполиэтиленгликоль, декстран, целлюлозу, сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или статистические сополимеры), поли-(N-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропиленгликоля, сополимер полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин) и поливиниловый спирт, а также смеси таких полимеров.

В некоторых вариантах реализации, производное ковалентно модифицируют субъединицами полиэтиленгликоля (ПЭГ). В некоторых вариантах реализации, один или несколько водорастворимых полимеров присоединяют в одном или нескольких определенных положениях, например, на аминоконце производного. В некоторых вариантах реализации, один или несколько водорастворимых полимеров присоединяют случайным образом к одной или нескольким боковым цепям производного. В некоторых вариантах реализации, ПЭГ используют для улучшения терапевтических свойств антигенсвязывающего белка. В некоторых вариантах реализации, ПЭГ используют для улучшения терапевтических свойств гуманизованного антитела. Некоторые такие способы описаны, например, в патенте США № 6133426, который настоящим включен посредством ссылки для любых целей.

Пептидные аналоги широко применяются в фармацевтической промышленности в качестве непептидных лекарственных средств со свойствами, аналогичными служащему матрицей пептиду. Эти типы непептидных соединений называются "миметиками пептидов" или "пептидомиметиками". Fauchere, J. Adv. Drug Res., 15:29 (1986); и Evans et al. J. Med. Chem., 30:1229 (1987), которые включены в данный документ посредством ссылки для любых целей. Такие соединения часто разрабатывают с помощью компьютерного молекулярного моделирования. Пептидомиметики, структурно схожие с терапевтически полезными пептидами, могут быть использованы для создания схожего терапевтического или профилактического эффекта. Как правило, пептидомиметики структурно похожи на взятый за образец полипептид (т.е. полипептид, обладающий биохимическими свойствами или фармакологической активностью), такой как человеческое антитело, но необязательно имеют замену одной или нескольких пептидных связей на связь, выбранную из: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (цис- и транс-), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$, и $-\text{CH}_2\text{SO}-$, с использованием способов, хорошо известных специалистам. Систематическая замена одной или нескольких аминокислот консенсусной последовательности на D-аминокислоту такого же типа (например, D-лизин вместо L-лизина) может быть использована в некоторых вариантах реализации для получения более стабильных пептидов. Кроме того, конформационно затрудненные (constrained) пептиды, содержащие консенсусную последовательность или по существу идентичный вариант консенсусной последовательности, могут быть получены способами, известными специалистам (Rizo and Gierasch Ann. Rev. Biochem., 61:387 (1992), включена в данный документ посредством ссылки для любых целей); например, путем добавления внутренних остатков цистеина, способных образовывать внутримолекулярные дисульфидные мостики, которые циклизуют пептид.

Конъюгация с лекарственным средством включает сочетание биологически активной цитотоксической (противораковой) полезной нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевый маркер (например, полипептид, который, идеально, присутствует только в или на опухолевых клетках). Антитела находят эти белки в организме и присоединяются

к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и белком-мишенью (антигеном) инициирует сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализирует антитело вместе с цитотоксином. После интернализации конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC), цитотоксическое лекарственное средство высвобождается и уничтожает рак. Благодаря такому нацеливанию лекарственное средство, идеально, имеет более низкие побочные эффекты и создает более широкое терапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические агенты. Технические основы конъюгации антител раскрыты и известны специалистам (см., например, Jane de Lartigue, *OncLive* July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; и Ducry et al. *Bioconjugate Chemistry* 21 (1):5-13 (2010).

Анализы связывания и другие анализы.

Антитела против сортилина по данному изобретению могут быть протестированы на антигенсвязывающую активность, например, известными способами, такими как ИФА, поверхностный плазмонный резонанс (SPR), вестерн-блоттинг, проточная цитометрия, FACS, интерферометрия биослоев и т.д.

В некоторых вариантах реализации, конкурентные анализы могут быть использованы для идентификации антитела, которое конкурирует с любым антителом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах реализации, конкурентные анализы могут быть использованы для идентификации антитела, которое конкурирует с любым из антител, перечисленных в табл. 1-30, или содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи антитела, выбранного из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, S-60-8, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16, S-60-18, S-60-19, и S-60-24, за связывание с сортилином. В некоторых вариантах реализации, такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), что и связывающийся с любым из антител, которые перечислены в табл. 1-30, или содержат вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи антитела, выбранного из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, S-60-8, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16, S-60-18, S-60-19, и S-60-24. Подробное описание типичных методов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, приведено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", в *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

В типичном примере конкурентного анализа, иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин на клеточной поверхности, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, которое связывается с сортилином, (например, человеческое или принадлежащее не являющемуся человеком примату), и второе немеченое антитело, которое тестируют на его способность конкурировать с первым антителом за связывание с сортилином. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля, иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не второе немеченое антитело. После инкубации в условиях, перmissive для связывания первого антитела с сортилином, избыток несвязанного антитела удаляют, и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или клетками, экспрессирующими сортилин. Если количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или клетками, экспрессирующими сортилин, существенно снижено в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с сортилином. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Анализы связывания лигандов.

В данном документе дополнительно предусматриваются способы скрининга для антител против сортилина, которые связывают His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 человеческого сортилина (SEQ ID NO: 81); или аминокислотные остатки сортилина млекопитающих, которые соответствуют одному или нескольким аминокислотным остаткам из His131, Val132, Pro133, Leu 134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 SEQ ID NO: 81, тем самым блокируя взаимодействия между сортилином и лигандом сортилина (например, програнулином, пронеиротрофином, про-NGF, про-BDNF, про-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE). В некоторых вариантах реализации, может быть синтезирована библиотека пептидов, в которой белок сортилин расщепляют на последовательные 15-мерные и 25-мерные пептиды, разделенные одним аминокислотным остатком, и затем наносят точно на фильтры. Затем может проводиться тестирование связывания лиганда сортили-

на для определения его способности взаимодействовать с рецепторным пептидом или с пептидами библиотеки человеческого сортилина, которые были мутированы, например, в положениях His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700, в присутствии или отсутствии антител против сортилина путем спот-анализа связывания (SPOT) (например, Frank, R and Overwin, H (1996) *Methods. Mol. Biol.* 66, 149-169; Reineke, U et al., (2002) *J. Immunol. Methods* 267, 13-26; и Andersen, OS et al., (2010) *J. Biological Chemistry* 285, 12210-12222).

В данном документе дополнительно предусматриваются способы скрининга для антител против сортилина, которые блокируют взаимодействия (например, связывание) сортилина и лиганда сортилина (например, програнулина, пронеиротрофина, про-NGF, про-BDNF, про-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE). В некоторых вариантах реализации, взаимодействие между сортилином и лигандами сортилина (например, програнулином, пронеиротрофином, про-NGF, про-BDNF, про-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) могут быть охарактеризованы с использованием анализа методом поверхностного плазмонного резонанса (например, Skeldal, S et al., (2012) *J Biol Chem.*, 287:43798; и Andersen, OS et al., (2010) *The Journal Of Biological Chemistry*, 285,12210-12222, pull-down-анализа (например, Andersen, OS et al., (2010) *The Journal Of Biological Chemistry*, 285,12210-12222, целлюлоза-связанных белков (например, Andersen, OS et al., (2010) *The Journal Of Biological Chemistry*, 285,12210-12222), анализа близкого лигирования (proximity ligation) (например, Gustafsen, C et al., (2013) *The Journal of Neuroscience*, 33:64-71), и/или лигандов, меченых щелочной фосфатазой, в клеточных анализах связывания (например, Hu, F et al., (2010) *Neuron* 68, 654-667).

Клеточные анализы.

В данном документе дополнительно предусматриваются способы скрининга для антагониста связывания сортилина, такого как антитело против сортилина, которые включают введение в контакт агента (например, антитела против сортилина) с клеткой, экспрессирующей белок сортилин на клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, агент и клетку дополнительно вводят в контакт с лигандом сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, клетка сама экспрессирует лиганд сортилина по данному изобретению. Клеточные методы, в частности, пригодны для скрининга и валидации антагонистов связывания сортилина (например, антитела против сортилина) путем оценки влияния на взаимодействие между сортилином и лигандом сортилина в контексте клетки.

Соответственно, определенные аспекты данного изобретения относятся к клетке, экспрессирующей белок сортилин по данному изобретению на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, клетка эндогенно экспрессирует белок сортилин по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, клетка является рекомбинантно модифицированной для экспрессии белка сортилина по данному изобретению. В любом из этих вариантов реализации, белок сортилин по данному изобретению (эндогенный или рекомбинантный), кодируемый полинуклеотидом, будет предпочтительно содержать по меньшей мере белковые домены, необходимые для посттрансляционного процессинга, мембранной транслокации, и нацеливания на поверхность клетки, включая, без ограничений, сигнальный пептид и трансмембранный домен. В некоторых вариантах реализации, сигнальный пептид и/или трансмембранный домен могут относиться к сигнальному пептиду и/или трансмембранному домену эндогенного сортилина. В других вариантах реализации, сигнальный пептид и/или трансмембранный домен могут относиться к экзогенному сигнальному пептиду и/или трансмембранному домену, про которые известно, что они усиливают экспрессию на клеточной поверхности в желательной клетке-хозяине. В предпочтительных вариантах реализации, белок сортилин будет также содержать домен, достаточный для связывания лиганда сортилина по данному изобретению.

В таких вариантах реализации может быть использована любая клетка, которая экспрессирует белок сортилин по данному изобретению на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, клетка эндогенно экспрессирует белок сортилин по данному изобретению на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, клетка является рекомбинантно модифицированной для экспрессии белка сортилина по данному изобретению на своей клеточной поверхности. Любой пригодный лиганд сортилина по данному изобретению может быть использован таким образом, чтобы он сохранял способность связываться с белком сортилином, экспрессируемым на поверхности клетки. Лиганд сортилина не должен обязательно быть флуоресцентно меченым. Уровни лиганда сортилина могут детектироваться с помощью любого анализа, известного специалистам, включая, без ограничений, ИФА, SPR (поверхностный плазмонный резонанс), вестерн-блоттинг, масс-спектрометрию, иммунопреципитацию, пептидные микрочипы и т.д.

В некоторых вариантах реализации, способы, раскрытые в данном документе, включают культивирование клетки, которая экспрессирует как белок сортилин на своей клеточной поверхности, так и лиганд сортилина в среде, в условиях, при которых белок сортилин и лиганд сортилина экспрессируются и лиганд сортилина высвобождается в среду; введение в контакт клетки с агентом (например, антителом против сортилина) в условиях, при которых белок сортилин способен связываться с лигандом сортилина;

и детектирование увеличения уровня лиганда сортилина в среде, по сравнению с уровнем лиганда сортилина в среде в отсутствие указанного агента. Увеличение уровня лиганда сортилина указывает на то, что агент является антагонистом связывания сортилина. Не желая ограничиваться теорией, укажем, что, как считается, взаимодействие между белком сортилином, экспрессируемым на поверхности клетки, и секретлируемым лигандом сортилина будет приводить к эндоцитозу и лизосомальной деградации лиганда сортилина. Поэтому, считается, что уменьшение этого взаимодействия (например, путем добавления антагониста связывания сортилина по данному изобретению) приводит со временем к увеличению уровня лиганда сортилина в среде.

В таких вариантах реализации может быть использована любая клетка, которая экспрессирует белок сортилин по данному изобретению на своей клеточной поверхности и экспрессирует и секретирует лиганд сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, клетка может эндогенно экспрессировать белок сортилин по данному изобретению на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, клетка может эндогенно экспрессировать и секретировать лиганд сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, клетка представляет собой клетку U-251, и лиганд сортилина представляет собой белок програнулина. В некоторых вариантах реализации, клетка может быть рекомбинантно модифицирована для экспрессии белка сортилина по данному изобретению на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации, клетка может быть рекомбинантно модифицирована для экспрессии и секретирования лиганда сортилина по данному изобретению.

В любом из клеточных анализов, описанных в данном документе, может быть использован лиганд сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, лиганд сортилина представляет собой белок програнулина. Лиганд сортилина может быть полноразмерным белком, или может быть его сортилинсвязывающим пептидным фрагментом.

Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева.

Антитела против сортилина по данному изобретению могут быть получены с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах реализации предусматриваются выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из антител против сортилина по данному изобретению. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела против сортилина (например, легкие и/или тяжелые цепи антитела). В некоторых вариантах реализации предусматриваются один или несколько векторов (например, экспрессионных векторов), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах реализации, также предусматривается клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах реализации, клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислоты последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах реализации, клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомячка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой YO, NSO, Sp20). Клетки-хозяева по данному изобретению также включают, без ограничений, выделенные клетки, *in vitro* культивируемые клетки, и *ex vivo* культивируемые клетки.

Предусматриваются способы получения антитела против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, способ включает культивирование клетки-хозяина по данному изобретению, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против сортилина, в условиях, пригодных для экспрессии антитела. В некоторых вариантах реализации, антитело затем выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

Для рекомбинантного продуцирования антитела против сортилина по данному изобретению, нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против сортилина, выделяют и вставляют в один или несколько векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такая нуклеиновая кислота может быть легко выделена и секвенирована с использованием обычных процедур (например, путем использования олигонуклеотидных зондов, способных к специфическому связыванию с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

Пригодные векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любые полипептиды антител против сортилина по данному изобретению, или их экспрессируемые на клеточной поверхности фрагменты или полипептиды (включая антитела), описанные в данном документе, включают, без ограничений, клонирующие векторы и экспрессионные векторы. Пригодные клонирующие векторы могут быть сконструированы в соответствии со стандартными методиками, или могут быть выбраны из большого числа доступных клонирующих векторов. Хотя выбранный клонирующий вектор может меняться в зависимости от клетки-хозяина, которая должна использоваться, пригодные клонирующие векторы, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут иметь единственную мишень для конкретной эндонуклеазы рестрикции, и/или могут нести гены для маркера, который может быть

использован при селекции клонов, содержащих вектор. Пригодные примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, фаговые ДНК, и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие клонирующие векторы доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Strategene, и Invitrogen.

Пригодные клетки-хозяева для клонирования или экспрессии кодирующих антитела векторов включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела против сортилина по данному изобретению могут продуцироваться в бактериях, в частности, если не требуются гликозилирование и Fc-эффекторная функция. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (например, патенты США № 5648237, 5789199 и 5840523). После экспрессии, антитело может быть выделено из бактериальной клеточной пасты в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, также являются пригодными хозяевами для клонирования или экспрессии кодирующих антител векторов, включая грибковые и дрожжевые штаммы, пути гликозилирования которых были "гуманизированы" для обеспечения продуцирования антитела с частично или полностью человеческим характером гликозилирования (например, *Gerngross Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); и *Li et al. Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

Пригодные клетки-хозяева для экспрессии гликозилированного антитела также могут быть получены из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые могут быть использованы в сочетании с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda* (кукурузная листовая совка). Растительные клеточные культуры также могут быть использованы в качестве хозяев (например, патенты США № 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, описывающие технологию продуцирования антител PLANTIBODIES™ в трансгенных растениях).

Клетки позвоночных также могут быть использованы в качестве хозяев. Например, могут быть использованы клеточные линии млекопитающих, адаптированные для выращивания в суспензии. Другими примерами пригодных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьян CV1, трансформированная с помощью SV40 (COS-7); линия почки человеческого эмбриона (293 или клетки 293, как описано, например, в *Graham et al. J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почки детеныша хомячка (ВНК); мышинные клетки Сертоли (клетки ТМ4, как описано, например, в *Mather, Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьян (CV1); клетки почки африканских зеленых марышек (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени серой крысы (buffalo rat) (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); мышинная опухоль молочной железы (MMT 060562); клетки TRI, как описано, например, в *Mather et al. Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие пригодные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO (*Ur-laub et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и клеточные линии миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Обзор некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, пригодных для продуцирования антител, приведен, например, в *Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

Фармацевтические композиции.

В данном документе предусматриваются фармацевтические композиции и/или фармацевтические составы, содержащие антитела против сортилина по данному изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах реализации, фармацевтически приемлемый носитель предпочтительно является нетоксичным для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях. Антитела, описанные в данном документе, могут быть приготовлены в виде препаратов твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формы. Примеры таких составов включают, без ограничений, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, инъекции, лекарственные формы для ингаляции, гели, микро-сферы и аэрозоли. Фармацевтически приемлемые носители могут включать, в зависимости от желательного состава, фармацевтически приемлемые нетоксичные носители или (of) разбавители, которые представляют собой вещества, широко применяемые для составления фармацевтических композиций для введения животным или человеку. В некоторых вариантах реализации, фармацевтическая композиция может включать вспомогательные материалы для модификации, поддержания или сохранения, например, значения pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, окраски, изотонности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проницаемости композиции.

В некоторых вариантах реализации, фармацевтически приемлемые носители включают, без ограничений, аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин); антимикробные средства; антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как борат, бикарбонат, Tris-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты); инертные наполнители (такие как маннит или глицин); хелатирующие агенты (такие как этилендиаминтетра-

уксусная кислота (ЭДТА)); комплексообразующие агенты (такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин); наполнители; моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); красящие, вкусовые вещества и разбавители; эмульгаторы; гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); низкомолекулярные полипептиды; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты (такие как бензалкония хлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенол, фенолформалин, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода); растворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахароспирты (такие как маннит или сорбит); суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты (такие как плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат 80, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапол (tyloxapal)); средства, повышающие стабильность (такие как сахароза или сорбит); средства, повышающие тоничность (такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно, хлорид натрия или калия, маннит, сорбит); средства доставки; разбавители; эксципиенты и/или фармацевтические адъюванты. Дополнительные примеры композиций, пригодных для различных типов введения, приведены в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Pharmaceutical Press 22nd ed. (2013). Краткий обзор способов доставки лекарственных средств приведен в Langer, Science 249:1527-1533 (1990).

Композиции, пригодные для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, делающие состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

Сосотвы могут быть оптимизированы для удерживания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. В тех случаях, когда агент вводят в краниальный компартмент, желательно, чтобы агент сохранялся в компартменте, и не диффундировал или иначе проходил через гематоэнцефалический барьер. Методики стабилизации включают перекрестное связывание, мультимеризацию, или связывание с такими группами, как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители и т.д., для увеличения молекулярного веса.

Другие стратегии увеличения удерживания включают включение антитела, такого как антитело против сортилина по данному изобретению, в биodeградируемый или биоэродированный имплантат. Скорость высвобождения терапевтически активного агента контролируется скоростью транспорта через полимерную матрицу, и биodeградацией имплантата. Имплантаты могут быть частицами, листами, пластырями (patches), накладками (plaques), волокнами, микрокапсулами и т.п., и могут иметь любой размер или форму, совместимые с выбранным местом введения. Биodeградируемые полимерные композиции, пригодные для использования, могут быть органическими сложными эфирами или простыми эфирами, которые при деградации дают физиологически приемлемые продукты деградации, включая мономеры. Могут находить применение ангидриды, амиды, сложные ортоэфиры и т.п., отдельно взятые или в комбинации с другими мономерами. Полимеры будут конденсационными полимерами. Полимеры могут быть сшитыми или несшитыми. Особый интерес представляют полимеры оксиалифатических карбоновых кислот, будь то гомо- или сополимеры, и полисахариды. Сложные полиэфиры, представляющие интерес, включают полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактон, и их комбинации. Полисахаридами, представляющими интерес, являются альгинат кальция и функционализированные целлюлозы, в частности, сложные эфиры карбоксиметилцеллюлозы, характеризующиеся нерастворимостью в воде, с молекулярным весом от примерно 5 кДа до 500 кДа, и т.д. Биodeградируемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах по данному изобретению. Гидрогели типично представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью поглощать жидкость.

Фармацевтические дозировки.

Антитело, предусматриваемое в данном документе (и любой дополнительный терапевтический агент), может быть введено любыми пригодными средствами, включая парентеральное, внутрилегочное, интраназальное, внутриочаговое введение, интрацереброспинальное, интракраниальное, интраспинальное, интрасиновиальное, интратекальное, пероральное, местное пути, или ингаляцию. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии на протяжении некоторого периода времени, интраартериальное, внутрисуставное, интраперитонеальное или подкожное введение. В некоторых вариантах реализации, введение представляет собой внутривенное введение. В некоторых вариантах реализации, введение является подкожным. Введение доз может осуществляться любым пригодным путем, например, инъекциями, такими как внутривенные или подкожные инъекции, в зависимости, частично, от того, является введение кратковременным или хроническим. В данном документе предусматриваются различные схемы приема, включая, без ограничений, разовое или многократное введения в различные моменты времени, болюсное введение, и импульсная инфузия.

Композиции антител, предусматриваемых в данном документе, будут составляться, дозироваться и

вводиться в соответствии с принципами надлежащей медицинской практики. Факторы, требующие учета в этом контексте, включают конкретное расстройство, лечение которого проводится, конкретное млекопитающее, лечение которого проводится, клиническое состояние индивидуального пациента, причину расстройства, место доставки агента, способ введения, график введения, и другие факторы, известные практикующим врачам. Композиция антитела не должна обязательно, но необязательно составляется с одним или несколькими агентами, используемыми в настоящее время для предотвращения или лечения рассматриваемого расстройства. Эффективное количество таких других агентов зависит от количества присутствующего в композиции антитела, типа расстройства или лечения, и других факторов, указанных выше. Они, как правило, используются в таких же дозировках и с путями введения, описанными в данном документе, или в количествах примерно от 1 до 99% от дозировок, описанных в данном документе, или в любой дозе и с любым путем введения, которые эмпирически/клинически будут определены как подходящие.

Дозировки для конкретного антитела против сортилина могут быть определены эмпирически для индивидуумов, которым осуществляют одно или несколько введений антитела против сортилина. Индивидуумам вводят возрастающие дозы антитела против сортилина. Для оценки эффективности антитела против сортилина может контролироваться клинический симптом любых болезней, расстройств или состояний по данному изобретению (например, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических болезней сосудов, и нежелательных симптомов нормального старения).

Для предотвращения или лечения болезни, пригодная дозировка антитела по данному изобретению (при использовании отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими дополнительными терапевтическими агентами) будет зависеть от типа болезни, требующей лечения, типа антитела, тяжести и течения болезни, от того, вводится антитело в профилактических или в терапевтических целях, предшествующей терапии, истории болезни пациента и ответа на антитело, и мнения лечащего врача. Антитело может быть введено пациенту за раз или на протяжении ряда сеансов лечения.

В зависимости от типа и тяжести болезни, примерно от 1 мкг/кг до 15 мг/кг (например, 0,1 мг/кг-10 мг/кг) антитела может быть начальной пробной дозировкой для введения пациенту, например, посредством одного или нескольких отдельных сеансов введения, или путем непрерывной инфузии. Одна типичная суточная доза может составлять от примерно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или больше, в зависимости от указанных выше факторов. Для повторного введения на протяжении нескольких дней или более длительного периода времени, в зависимости от состояния, лечение будет, как правило, будет продолжаться до достижения желательного подавления симптомов болезни. Одна типичная доза антитела будет иметь значение в диапазоне от примерно 0,05 мг/кг до примерно 10 мг/кг. Таким образом, пациенту может быть введена одна или несколько доз, равных примерно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг или 10 мг/кг (или любая их комбинация). Такие дозы могут вводиться периодически, например, раз в неделю или раз в три недели (например, таким образом, чтобы пациент получил от примерно двух до примерно двадцати или, например, примерно шесть доз антитела). В некоторых вариантах реализации, частота введения доз составляет три раза в день, два раза в день, раз в день, раз в два дня, раз в неделю, раз в две недели, раз в четыре недели, раз в пять недель, раз в шесть недель, раз в семь недель, раз в восемь недель, раз в девять недель, раз в десять недель, или раз в месяц, раз в два месяца, раз в три месяца, или реже. Может быть введена высокая начальная ударная доза, с последующими одной или несколькими более низкими дозами. Однако, могут быть полезны другие схемы введения. Прогресс такой терапии легко контролируется обычными методами и анализами.

Терапевтическое применение.

В определенных аспектах, антитела против сортилина по данному изобретению могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением. Антитела против сортилина по данному изобретению могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения гибели клеток (например, гибели нейронных клеток), лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических болезней сосудов, нежелательных симптомов нормального старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительной болезни кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, дегенерации межпозвоночных дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных расстройств, артрита, рассеянного склероза, метаболического на-

рушения, ожирения, инсулинорезистентности, диабета типа 2, повреждения ткани или сосудов, травмы, и/или одного или нескольких нежелательных симптомов нормального старения.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением, включающий введение индивидууму, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, болезнь, расстройство или поражение выбирают из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего надъядерного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита.

Определенные аспекты данного изобретения предусматривают способы повышения уровней програнулина у нуждающегося в этом индивидуума, таких как в головном мозге, крови, и/или периферических органах индивидуума, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества одного или нескольких антител против сортилина по данному изобретению. Другие аспекты данного изобретения предусматривают способы повышения внеклеточных уровней програнулина, путем введения в контакт одной или нескольких клеток с одним или несколькими антителами против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, уровни програнулина повышают без снижения клеточных уровней сортилина. Другие аспекты данного изобретения предусматривают способы снижения клеточных уровней сортилина у нуждающегося в этом индивидуума, таких как в головном мозге и/или периферических органах индивидуума, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества одного или нескольких антител против сортилина по данному изобретению. Другие аспекты данного изобретения предусматривают способы снижения клеточных уровней сортилина одной или нескольких клеток, включающие введение в контакт одной или нескольких клеток с одним или несколькими антителами против сортилина по данному изобретению.

Дополнительные аспекты данного изобретения предусматривают способы повышения эффективных концентраций програнулина и/или снижения эффективных концентраций нейротрофина по данному изобретению (например, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, пронеуротрофинов, про-NGF, про-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензина, p75, пропептида сортилина (Sort-pro), белка-предшественника амилоида (APP), бета-амилоидного (A beta) пептида, липопротеинлипазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9, и рецептор-ассоциированного белка (RAP) у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP).

Данное изобретение также предусматривает способы ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), PCSK9, и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); а также одной или нескольких активностей сортилина, програнулина, нейротрофина по данному изобретению (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензина, p75, пропептида сортилина (Sort-pro), белка-предшественника амилоида (APP), бета-амилоидного (A beta) пептида, липопротеинлипазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), и/или рецептор-ассоциированного белка (RAP) у индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

Как раскрыто в данном документе, антитела против сортилина по данному изобретению могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических болезней сосудов, нежелательных симптомов нормального старения, деменции, смешанной демен-

ции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Гентингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительной болезни кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, дегенерации межпозвоночных дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных расстройств, артрита, рассеянного склероза, метаболического нарушения, ожирения, инсулинорезистентности, диабета типа 2, повреждения ткани или сосудов, травмы, и одного или нескольких нежелательных симптомов нормального старения.

В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает способы предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением головного мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими болезнями сосудов, нежелательными симптомами нормального старения, деменцией, смешанной деменцией, болезнью Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалией, боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Гентингтона, таупатией, инсультом, острой травмой, хронической травмой, волчанкой, острым и хроническим колитом, болезнью Крона, воспалительной болезнью кишечника, неспецифическим язвенным колитом, малярией, эссенциальным тремором, волчанкой центральной нервной системы, болезнью Бехчета, болезнью Паркинсона, деменцией с тельцами Леви, мультисистемной атрофией, дегенерацией межпозвоночных дисков, синдромом Шая-Дрейджера, прогрессирующим надъядерным параличом, кортикобазальной ганглионарной дегенерацией, острым рассеянным энцефаломиелитом, гранулематозными расстройствами, саркоидозом, болезнями старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомой, пигментным ретинитом, дегенерацией сетчатки, инфекцией дыхательных путей, сепсисом, глазной инфекцией, системной инфекцией, воспалительными расстройствами, артритом, рассеянным склерозом, метаболическим нарушением, ожирением, инсулинорезистентностью, диабетом типа 2, повреждением ткани или сосудов, травмой, и одним или несколькими нежелательными симптомами нормального старения, у нуждающегося в этом индивидуума, путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению с целью: (i) ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); и/или (ii) ингибирования одной или нескольких активностей сортилина, програнулина, нейротрофина по данному изобретению (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензина, p75, пропептида сортилина (Sort-pro), белка-предшественника амилоида (APP), бета-амилоидного (A beta) пептида, липопротеинлипазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), и/или рецептор-ассоциированного белка (RAP). В некоторых вариантах реализации, данное изобретение предусматривает способы индуцирования заживления ран у нуждающегося в этом индивидуума путем введения индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

Данное изобретение также предусматривает способы стимулирования выживания клеток, такого как выживание нейронных клеток, путем введения антитела против сортилина по данному изобретению для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, белком-предшественником амилоида (APP), и бета-амилоидным (A beta) пептидом. Антитело против сортилина может быть введено в клетки *in vitro* для стимулирования выживания клеток. Альтернативно, антитело против сортилина может быть введено *in vivo* (например, путем введения антитела индивидууму) для стимулирования выживания клеток.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ ингибирования чего-то одного или нескольких из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным разрастанием и aberrантным ветвлением, микроглиальной активации, и воспалительного ответа, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

Данное изобретение предусматривает способы ингибирования нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным разрастанием и aberrантным ветвлением, микроглиальной активации, и воспалительного ответа, и усиления заживления ран, аутофагии и клиренса агрегированных

белков путем введения антитела против сортилина по данному изобретению для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, р75, белком-предшественником амилоида (APP), и бета-амилоидным (A beta) пептидом. Антитело против сортилина может быть введено в клетки *in vitro*. Альтернативно, антитело против сортилина может быть введено *in vivo* (например, путем введения антитела индивидууму).

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ усиления чего-то одного или нескольких из заживления ран, аутофагии, и клиренса агрегированных белков, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

В определенных аспектах, данный документ предусматривает способ предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с артритом, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по данному изобретению.

Данное изобретение также предусматривает способы снижения экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов путем введения индивидууму, нуждающемуся в этом, антитела против сортилина по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, один или несколько провоспалительных медиаторов выбирают из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4, и CCL5.

В некоторых вариантах реализации, способ по данному изобретению включает антитело против сортилина, содержащее два или больше антител против сортилина.

Деменция.

Деменция представляет собой неспецифический синдром (т.е. набор признаков и симптомов) проявляющийся у ранее незатронутой особы в виде серьезной потери общей познавательной способности, выходящей за пределы ожидаемого при нормальном старении. Деменция может быть статической, в результате уникальной глобальной травмы мозга. Альтернативно, деменция может быть прогрессирующей, приводящей к длительному ухудшению вследствие соматического поражения или болезни. Хотя деменция значительно более распространена в гериатрической популяции, она может также возникать у людей в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, поражаемые при деменции, включают, без ограничений, память, объем внимания, речь и решение задач. Как правило, симптомы должны проявляться на протяжении по меньшей мере шести месяцев до постановки индивидууму диагноза деменции.

Типичные примеры форм деменции включают, без ограничений, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с тельцами Леви.

Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить деменцию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с деменцией (например, нейротрофическую и/или активность выживания нейронов, и противовоспалительную активность).

Лобно-височная деменция.

Лобно-височная деменция (ЛВД) представляет собой состояние, возникающее в результате прогрессирующей дегенерации лобной доли головного мозга. Со временем, дегенерация может захватывать височную долю. На долю ЛВД, уступающей по распространенности только болезни Альцгеймера (AD), приходится 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки ЛВД включают дефициты памяти, поведенческие аномалии, изменения личности и языковые нарушения (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., *Trends Genet.* 24:186-194 (2008); Neary, D., et al., *Neurology* 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., *Neurology* 58:1615-1621 (2002)).

Значительная часть случаев ЛВД наследуется аутосомно-доминантным образом, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от ЛВД с поведенческими расстройствами до первичной прогрессирующей афазии, и до кортикобазальной ганглионарной дегенерации. ЛВД, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием специфических белковых агрегатов в пораженном болезнью мозге. Исторически, в первых описаниях ЛВД отмечалось присутствие внутринейронных скоплений гиперфосфорилированного тау-белка в нейрофибриллярных клубках или тельцах Пика. Причинная роль ассоциированного с микротрубочками тау-белка была подтверждена путем идентификации мутаций в гене, кодирующем тау-белок в нескольких семействах (Hutton, M., et al., *Nature* 393:702-705 (1998)). Однако, в мозге большинства людей, пораженных ЛВД, не было выявлено накопления гиперфосфорилированного тау-белка, продемонстрирована иммунореактивность к убиквитину (Ub) и ДНК-связывающему белку TAR (TDP43) (Neumann, M., et al., *Arch. Neurol.* 64:1388-1394 (2007)). Было показано, что большинство таких случаев ЛВД с включениями Ub (ЛВД-U) несут мутации в гене програнулина.

Мутации програнулина приводят к гаплонедостаточности и, как известно, присутствуют в почти 50% случаев семейной ЛВД, что делает мутацию програнулина важным генетическим фактором, благоприятствующим ЛВД. Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, гетерозиготный

характер с потерей функции мутаций програнулина свидетельствует о том, что у здоровых индивидуумов, экспрессия програнулина играет дозозависимую критическую роль в защите здоровых индивидуумов от развития ЛВД. Соответственно, повышение уровней програнулина путем ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином может предотвращать, снижать риск, и/или лечить ЛВД.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить ЛВД. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с ЛВД.

Болезнь Альцгеймера.

Болезнь Альцгеймера (AD) является наиболее распространенной формой деменции. Не существует способа лечения заболевания, которое ухудшается по мере прогрессирования, и постепенно приводит к смерти. Чаще всего AD диагностируется у людей в возрасте старше 65 лет. Однако, менее распространенная форма болезни Альцгеймера с ранними проявлениями может возникать значительно раньше.

Обычные симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудность запоминания недавних событий; когнитивные симптомы, спутанность сознания, раздражительность и агрессию, эмоциональную лабильность, проблемы с языком, и потерю долговременной памяти. По мере прогрессирования болезни утрачиваются телесные функции, что в конечном счете приводит к смерти. Болезнь Альцгеймера развивается на протяжении неизвестного и непостоянного периода времени до полного ее проявления, и может прогрессировать, годами оставаясь недиагностированной.

Было показано, что сортилин связывается с белком-предшественником амилоида (APP) и ферментом процессинга APP BACE1. Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, эти взаимодействия вовлечены в болезнь Альцгеймера. Соответственно, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению могут быть использованы для ингибирования таких взаимодействий, и предотвращают, снижают риск или лечат болезнь Альцгеймера у нуждающихся в этом индивидуумов.

В некоторых вариантах реализации, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), p75, белком-предшественником амилоида (APP), и/или бета-амилоидным (A beta) пептидом, или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения болезни Альцгеймера у нуждающихся в этом индивидуумов.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Альцгеймера. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с болезнью Альцгеймера.

Сосудистая деменция.

Сосудистая деменция (VaD) представляет собой малозаметно прогрессирующее ухудшение памяти и других когнитивных функций, которое считается вызываемым цереброваскулярным заболеванием (сосудистым заболеванием в головном мозге). Цереброваскулярное заболевание представляет собой прогрессирующее изменение наших кровеносных сосудов (сосудистой сети) в головном мозге (большом мозге). Наиболее распространенным сосудистым изменением, связанным с возрастом, является накопление холестерина и других веществ в стенках кровеносных сосудов. Это приводит к утолщению и склерозированию стенок, а также к сужению сосудов, что может приводить к уменьшению или даже полному прекращению кровотока в области мозга, снабжаемые пораженной артерией. Пациенты с сосудистой деменцией часто демонстрируют симптомы, похожие на наблюдающиеся у пациентов с болезнью Альцгеймера (AD). Однако, связанные с ней изменения в головном мозге вызваны не патологией болезни Альцгеймера, а хронически сниженным кровотоком в головном мозге, постепенно приводящим к деменции. Сосудистая деменция считается одним из наиболее распространенных типов деменции у пожилых людей. Симптомы сосудистой деменции включают затруднения с памятью, затруднения с организацией и решением сложных задач, замедленное мышление, distraction или отсутствие сосредоточенности, затруднения с воспоминанием слов, изменения настроения или поведения, такие как депрессия, раздражительность или апатия, и галлюцинации или бред.

Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, одна или несколько активностей сортилина, или одно или несколько взаимодействий между сортилином и програнулином, нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, липопротеинлипазой, аполипопротеином AV, и/или рецептор-ассоциированным белком вовлечены в сосудистую деменцию. Соответственно, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.),

нейротензином, р75, пропептидом сортилина (Sort-pro), белком-предшественником амилоида (APP), бета-амилоидным (A beta) пептидом, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения сосудистой деменции у нуждающихся в этом индивидуумов.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить сосудистую деменцию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с сосудистой деменцией.

Припадки, дистрофия сетчатки, травматические повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга и длительная депрессия.

В используемом в данном документе значении, дистрофия сетчатки относится к любому заболеванию или состоянию, которое связано с дегенерацией сетчатки. Такие заболевания или состояния могут приводить к потере зрения или полной слепоте.

В используемом в данном документе значении, припадки также включают эпилептические припадки, и относятся к транзистентному симптому аномально избыточной или синхронной нейронной активности в головном мозге. Внешние проявления могут быть драматичными, такими как нанесение резких ударов, или слабыми, такими как кратковременная потеря восприятия действительности. Припадки могут проявляться в изменении психического состояния, тонических или клонических движениях, судорогах, и различных других психических симптомах.

Травматические повреждения головного мозга (ТВИ), могут также называться внутречерепными травмами. Травматические повреждения головного мозга происходят при травматическом повреждении головного мозга под действием внешней силы. Травматические повреждения головного мозга могут классифицироваться по тяжести, механизму (закрытая или проникающая травма головы), или по другим признакам (например, происходящие в определенном месте или в обширной области).

Повреждения спинного мозга (SCI) включают любые повреждения спинного мозга, вызванные травмой, а не болезнью. В зависимости от места повреждения спинного мозга и нервных корешков, симптомы могут изменяться в широких пределах, от боли до паралича и недержания. Повреждения спинного мозга описываются как имеющие разные степени, и могут варьироваться от "неполных", с отсутствием влияния на пациента, до "полного" повреждения, означающего полную потерю функции.

Длительная депрессия (LTD) представляет собой зависимое от активности снижение эффективности нейронных синапсов, продолжающееся в течение нескольких часов или дольше, после низкочастотной (long patterned) стимуляции. Длительная депрессия может возникать во многих областях центральной нервной системы с различными механизмами, в зависимости от области головного мозга и процесса развития. Длительная депрессия может возникать в гиппокампе, мозжечке, и в разных типах нейронов, которые высвобождают различные нейротрансмиттеры. Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, длительная депрессия может быть связана с нейродегенерацией, деменцией и болезнью Альцгеймера.

Было показано, что пронейротрофины (например, пронейротрофин-4/5, нейротрофин-4/5, про-NGF, про-BDNF и т.д.) играют определенную роль в припадках, дистрофии сетчатки, травматическом повреждении головного мозга, повреждении спинного мозга и длительной депрессии.

Соответственно, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по данному изобретению (например, пронейротрофинами, пронейротрофином-3, пронейротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения припадков, дистрофии сетчатки, травматических повреждений головного мозга, повреждений спинного мозга, и/или длительной депрессии у нуждающихся в этом индивидуумов.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить припадки, дистрофию сетчатки, травматические повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, и/или длительную депрессию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с припадками, дистрофией сетчатки, травматическими повреждениями головного мозга, повреждениями спинного мозга, и/или длительной депрессией.

Атеросклеротические болезни сосудов.

В используемом в данном документе значении, "атеросклеротическая болезнь сосудов", "ASVD", и "атеросклероз" используются взаимозаменяемо и относятся к любому состоянию, в котором стенка артерии утолщается в результате накопления жировых материалов, таких как холестерин, липиды и триглицерид. Атеросклеротические болезни сосудов включают, без ограничений, любое связанное с атеросклеротической болезнью состояние сосудов, расстройство или болезнь, включая, без ограничений, тромбоз, эмболию, инсульт, ишемию, инфаркты, коронарный тромбоз, инфаркт миокарда (например, сердечный приступ), и перемежающуюся хромоту.

Как раскрыто в данном документе, белки сортилина по данному изобретению участвуют в регуляции липидов путем связывания липид-ассоциированных белков, таких как рецептор-ассоциированный белок, липопротеинлипаза и аполипопротеины APOA5 и APOE.

Соответственно, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения одной или нескольких атеросклеротических болезней сосудов у нуждающихся в этом индивидуумов.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить атеросклеротическую болезнь сосудов. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с атеросклеротической болезнью сосудов.

Нежелательные симптомы старения.

В используемом в данном документе значении, нежелательные симптомы старения включают, без ограничений, потерю памяти, поведенческие изменения, деменцию, болезнь Альцгеймера, дегенерацию сетчатки, атеросклеротические болезни сосудов, потерю слуха, и разрушение клеток.

В некоторых вариантах реализации, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения, снижения риска или лечения одного или нескольких нежелательных симптомов старения.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить один или несколько нежелательных симптомов старения. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с одним или несколькими нежелательными симптомами старения.

Боковой амиотрофический склероз (БАС).

В используемом в данном документе значении, боковой амиотрофический склероз (БАС), или болезнь моторных нейронов, или болезнь Лу Герига используются взаимозаменяемо и относятся к истощающему заболеванию различной этиологии, характеризующемуся быстро прогрессирующей слабостью, атрофией мышц и фасцикулярным дрожанием, спастичностью мышц, трудностями при разговоре (дизартрия), трудностями при глотании (дисфагия), и трудностями при дыхании (одышка).

Галлопедостаточность PGRN (програнулина) вследствие гетерозиготных мутаций с потерей функции в гене GRN приводит к снижению уровня PGRN в ЦСЖ и является причиной развития лобно-височной деменции (ЛВД) с патологией TDP-43 (Slegers et al., (2009) *Ann Neurol* 65:603; Smith et al., (2012) *Am J Hum Genet* 90:1102). TDP-43 был также идентифицирован как важный патологический белок при БАС, что позволяет предположить сходство между БАС и ЛВД.

Например, более двадцати доминантных мутаций TDP-43 было идентифицировано у пациентов со спорадическим и семейным БАС (Lagier-Tourenne et al., (2009) *Cell* 136:1001) и TDP-43-положительные агрегаты находят в приблизительно 95% случаев БАС (Prasad et al., (2019) *Front Mol Neurosci* 12:25). Кроме того, гены риска БАС, такие как MOB1, C9ORF72, MOBKL2B, NSF и FUS, могут также вызывать ЛВД (Karch et al., (2018) *JAMA Neurol* 75:860). Кроме того, мутации как PGRN, так и C9ORF72 связаны с аномальной микроглиальной активацией, которая, по-видимому, является еще одной общей патологией ЛВД и БАС (Haukedal et al., (2019) *J Mol Biol* 431:1818). Другие данные также позволяют предположить, что БАС и ЛВД представляют собой тесно связанные состояния с перекрывающимися генетическими, нейрпатологическими и клиническими признаками (Weishaupt et al., (2016) *Trends Mol Med* 22:769; McCauley et al., (2018) *Acta Neuropathol* 137:715). Все вместе, эти результаты позволяют предположить, что для обеих болезней полезный эффект может быть достигнут при совместном лечении, и что генетическая изменчивость PGRN выступает в роли модификатора течения БАС.

В некоторых вариантах реализации, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения или лечения одного или нескольких нежелательных симптомов БАС.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению

может предотвращать, снижать риск, и/или лечить БАС. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с БАС.

Депрессия.

В используемом в данном документе значении, депрессия или большое депрессивное расстройство (БДР), клиническая депрессия, большая депрессия, униполярная депрессия, униполярное расстройство, рецидивирующая депрессия или дистимия, используются взаимозаменяемо и относятся к психическому расстройству, характеризующемуся эпизодами всеохватывающего подавленного настроения, сопровождающимися низкой самооценкой и потерей интереса к, или удовольствия от, нормально доставляющей удовольствие деятельности.

Соответственно, и без желания ограничиваться теорией, считается, что антитела против сортилина по данному изобретению, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по данному изобретению (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, про-NGF, про-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, р75, липопротеинлипазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или рецептор-ассоциированным белком (RAP); или которые ингибируют одну или несколько активностей сортилина, могут быть использованы для предотвращения или лечения одного или нескольких нежелательных симптомов депрессии.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить депрессию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с депрессией.

Болезнь Паркинсона.

Болезнь Паркинсона, которая может называться идиопатическим или первичным паркинсонизмом, гипокинетически-ригидным синдромом (FIRS), или дрожательным параличом, представляет собой нейродегенеративное расстройство головного мозга, которое поражает контроль за моторной системой. Прогрессирующая гибель продуцирующих допамин клеток головного мозга приводит к значительным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего, болезнь Паркинсона диагностируется у людей старше 50 лет. Болезнь Паркинсона является идиопатической (не имеет известной причины) у большинства людей. Однако, генетические факторы также играют определенную роль в заболевании.

Симптомы болезни Паркинсона включают, без ограничений, тремор кистей рук, предплечий, ног, нижней челюсти и лица, ригидность мышц конечностей и туловища, замедленные движения (брадикинезия), постуральную неустойчивость, трудности при ходьбе, психоневрологические проблемы, изменения речи или поведения, депрессию, беспокойство, боль, психоз, деменцию, галлюцинации и проблемы со сном.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с болезнью Паркинсона. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с болезнью Паркинсона.

Болезнь Гентингтона.

Болезнь Гентингтона (HD) представляет собой наследственное нейродегенеративное заболевание, вызываемое аутосомно-доминантной мутацией гена хантингтина (HTT). Экспансия триплетного повтора цитоксин-аденин-гуанин (CAG) в гене хантингтина приводит к продуцированию мутантной формы белка хантингтина (Htt), кодируемого геном. Этот мутантный белок хантингтина (mHtt) является токсичным и участвует в гибели нейронов. Симптомы болезни Гентингтона чаще всего появляются в возрасте от 35 до 44 лет, хотя они могут возникать в любом возрасте.

Симптомы болезни Гентингтона, включают, без ограничений, проблемы моторного контроля, прерывистые, хаотичные движения (хорея), аномальные движения глаз, нарушения равновесия, эпилептические припадки, трудности при жевании, трудности при глотании, когнитивные проблемы, измененную речь, дефициты памяти, затруднения при мышлении, бессонницу, усталость, деменцию, изменения личности, депрессию, беспокойство, и компульсивное поведение.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить болезнь Гентингтона. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с болезнью Гентингтона. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с болезнью Гентингтона.

Таупатия.

Таупатии (taupathy diseases или tauopathies), представляют собой класс нейродегенеративных заболеваний, вызываемых агрегацией ассоциированного с микротрубочками тау-белка в головном мозге. Бо-

лезнь Альцгеймера (AD) является самым известным заболеванием из группы таупатий и включает накопление тау-белка в нейронах в форме нерастворимых нейрофибриллярных клубков (NFT). Другие таупатии и расстройства включают прогрессирующий надъядерный паралич, боксерскую деменцию (хроническую травматическую энцефалопатию), лобно-височную деменцию и паркинсонизм, связанные с хромосомой 17, болезнь литико-бодиг (Lytico-Bodig) (комплекс паркинсонизм-деменция на Гуаме), деменцию с преобладанием клубков, ганглиоглиому и ганглиоцитому, менингоангиоматоз, подострый склерозирующий панэнцефалит, свинцовую энцефалопатию, туберозный склероз, болезнь Галлервордена-Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, кортикобазальную дегенерацию, болезнь аргирофильных зерен (AGD), болезнь Гентингтона, и фронтотемпоральную лобарную дегенерацию.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить таупатию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с таупатией. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с таупатией.

Рассеянный склероз.

Рассеянный склероз (РС) также может называться диссеминированным склерозом или диссеминированным энцефаломиелитом. РС представляет собой воспалительное заболевание, при котором повреждаются жирные миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также широкому спектру признаков и симптомов.

Симптомы РС включают, без ограничений, изменения ощущений, такие как потеря чувствительности или покалывание; колющую боль или онемение, такие как гипестезия и парестезия; мышечную слабость; клонус; мышечные спазмы; трудности при движении; осложнения с координацией и равновесием, такие как атаксия; проблемы с речью, такие как дизартрия, или с глотанием, такие как дисфагия; проблемы зрения, такие как нистагм, ретробульбарный неврит, включая фосфен (phosphenes), и диплопия; усталость; острую или хроническую боль; и проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения разной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильное настроение; феномен Утхоффа, который представляет собой обострение наблюдающихся симптомов под воздействием температур, превышающих обычную температуру окружающей среды; и симптом Лермитта, который представляет собой электрическое ощущение, пробегающее по спине при сгибании шеи.

В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить рассеянный склероз. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с рассеянным склерозом. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с рассеянным склерозом.

Глаукома и макулярная дегенерация.

Глаукома описывает, без ограничений, группу заболеваний, которые характеризуются повреждением зрительного нерва, приводящим к потере зрения и слепоте. Глаукома обычно вызывается повышенным давлением жидкости (= внутриглазное давление) в передней камере глаза под роговицей. Глаукома приводит к последовательной потере ганглиозных клеток сетчатки, которые являются важными для зрения. Возрастная макулярная дегенерация обычно поражает людей старшего возраста и в основном вызывает потерю зрения в желтом пятне, центральном поле зрения. Макулярная дегенерация вызывает, без ограничений, друзы, изменения пигментации, искажения зрения, глазные кровотечения, атрофию, снижение остроты зрения, затуманенное зрение, центральные скотомы, сниженное цветовое зрение и пониженную контрастную чувствительность.

Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить глаукому и макулярную дегенерацию. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с глаукомой или макулярной дегенерацией. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с глаукомой или макулярной дегенерацией.

Дегенеративное заболевание межпозвонковых дисков (DDD).

Дегенеративное заболевание межпозвонковых дисков (DDD) описывает, без ограничений, группу заболеваний, при которых межпозвонковый диск (IVD) подвергается значительным морфологическим, а также биомеханическим изменениям, и обычно проявляется клинически у пациентов с болью в пояснице. Дегенеративные диски типично демонстрируют дегенеративную волокнистую хрящевую ткань и кластеры хондроцитов, предполагающие репарацию. Воспаление может присутствовать или нет. Патологические данные при DDD включают протрузию, спондилолиз, и/или подвывих позвонков (спондилолистез (spondylolisthesis)) и спинальный стеноз.

Без желания ограничиваться теорией укажем, что, как считается, введение антитела против сортилина по данному изобретению может предотвращать, снижать риск, и/или лечить дегенеративное забо-

ление межпозвоночных дисков. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может индуцировать одну или несколько активностей програнулина у индивидуума с дегенеративным заболеванием межпозвоночных дисков. В некоторых вариантах реализации, введение антитела против сортилина может модулировать одну или несколько активностей сортилина у индивидуума с дегенеративным заболеванием межпозвоночных дисков.

Боль.

Боль описывает, без ограничений, нейропатическую боль, возникающую вследствие повреждения нерва, например, вследствие травмы или болезни. Такие повреждения могут включать повреждения периферических нервов и/или спинного мозга. Было показано, что антагонисты сортилина облегчают нейропатическую боль. (Richner M et al. (2019) Sci. Adv. 5: eaav9946.)

Наборы/изделия.

В данном документе предусматриваются изделия (например, наборы), содержащие антитело против сортилина, описанное в данном документе. Изделие может включать один или несколько контейнеров, содержащих антитело, описанное в данном документе. Контейнеры могут быть любой пригодной упаковкой, включая, без ограничений, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, запечатанные лавсановые (Mylar) или пластиковые пакеты) и т.п. Контейнеры могут быть унифицированными дозами, многодозовыми (bulk packages) (например, многодозовыми (multi-dose) упаковками) или содержать дозы меньше разовых (sub-unit).

В некоторых вариантах реализации, наборы могут дополнительно содержать второй агент. В некоторых вариантах реализации, второй агент представляет собой фармацевтически приемлемый буфер или разбавитель, включая, без ограничений, бактериостатическую воду для инъекций (BWI), забуференный фосфатом физиологический раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. В некоторых вариантах реализации, второй агент представляет собой фармацевтически активный агент.

В некоторых вариантах реализации любых изделий, изделия дополнительно включают инструкции по использованию в соответствии со способами по данному изобретению. Инструкции, как правило, включают информацию, касающуюся дозировки, схемы приема и пути введения предполагаемого лечения. В некоторых вариантах реализации, такие инструкции включают описание введения выделенного антитела по данному изобретению (например, антитела против сортилина, описанного в данном документе) для предотвращения, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением, выбранным из деменции, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, болезни Гоше, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, атеросклеротических болезней сосудов, нежелательных симптомов нормального старения, бокового амиотрофического склероза (БАС), длительной депрессии, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона, таупатии, рассеянного склероза, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, дегенеративного заболевания межпозвоночных дисков (DDD), болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительной болезни кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, смешанной деменции, деменции с тельцами Леви, мультисистемной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего надъядерного паралича, кортикобазальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, гранулематозных расстройств, саркоидоза, болезней старения, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита и заживления ран, в соответствии с любыми способами по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, болезнь, расстройство или поражение представляет собой лобно-височную деменцию. В некоторых вариантах реализации, инструкции включают инструкции по использованию антитела против сортилина и второго агента (например, второго фармацевтически активного агента).

Диагностические применения.

Выделенные антитела по данному изобретению (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) также пригодны для использования в диагностике. Данное описание, таким образом, предусматривает способы использования антитела по данному изобретению, или его функциональных фрагментов, в целях диагностики, таких как детектирование белка сортилина у индивидуума, или в образцах тканей, полученных от индивидуума.

В некоторых вариантах реализации, индивидуум представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации, индивидуум представляет собой пациента, страдающего от, или с риском развития, болезни, расстройства или поражения по данному изобретению. В некоторых вариантах реализации, диагностические методы предусматривают детектирование белка сортилина в биологическом образце, таком как образец биопсии, ткани, или клеток. Антитело против сортилина, описанное в данном документе, вводят в контакт с биологическим образцом и детектируют связанное антигеном антитело. Например, образец биопсии может быть окрашен антителом против сортилина, описанным в данном документе, для того, чтобы детектировать и/или провести количественное определение связанных с заболеванием клеток. Способ детектирования может включать количественное определение связанного с антигеном анти-

тела. Детектирование антитела в биологических образцах может проводиться любым способом, известным специалистам, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ИФА, анализ FACS (сортировка клеток с активацией флуоресценции), иммунопреципитацию, или микро-позитронно-эмиссионную томографию. В некоторых вариантах реализации, антитело метят радиоактивным изотопом, например, ^{18}F , и затем детектируют с использованием анализа методом микро-позитронно-эмиссионной томографии. Связывание антитела можно также количественно определять у пациента неинвазивными методами, такими как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ), и аксиальная компьютерная томография (АКТ).

В других вариантах реализации, выделенное антитело по данному изобретению (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) может быть использовано для детектирования и/или количественного определения, например, микроглии в образце головного мозга, взятом в модели доклинической болезни (например, не-человеческой модели болезни). По существу, выделенное антитело по данному изобретению (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) может быть полезным для оценки терапевтического ответа после лечения в модели заболевания или поражения нервной системы, такого как лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, атеросклеротические болезни сосудов, болезнь Насу-Хакола, или рассеянный склероз, по сравнению с контролем.

Данное изобретение будет более понятным со ссылками на следующие Примеры. Однако, они не должны рассматриваться как ограничивающие объем данного изобретения. Все документы, упоминаемые в данном описании, настоящим прямо включены в данный документ посредством ссылок.

Примеры

Примеры 1-3 описывают получение вариантов антитела против человеческого сортилина, S-60, с созревшей аффинностью, и характеризацию этих вариантов не только по их аффинности связывания SORT1, но также по их биологической активности в снижении экспрессии SORT1, повышении секреции PGRN, и блокировании связывания PGRN-SORT1. Неожиданно было обнаружено, что повышенная биологическая активность не обязательно коррелирует с повышенной аффинностью.

Пример 1. Получение вариантов S-60 и измерение аффинности связывания SORT1.

Целью следующего Примера было получение вариантов антитела против человеческого сортилина, S-60, с созревшей аффинностью, и характеризация связывания антител с созревшей аффинностью с человеческим сортилином (SORT1).

Варианты S-60 с созревшей аффинностью.

Были получены антитела против человеческого сортилина (SORT1) с созревшей аффинностью и измерено их связывание с SORT1. Антитело против SORT1, S-60, а также S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9 были описаны в WO2016164637. Последовательности V_H и V_L S-60-9 и S60 в WO2016164637 являются идентичными, и S-60 будет использоваться в данном документе по отношению к антителу. Последовательности V_H и V_L S-60-5, S-60-6 и S-60-7 в WO2016164637 идентичны, и S-60-7 будет использоваться в данном документе по отношению к антителу. Было обнаружено, что S-60 является как сильным регулятором, понижающим уровни SORT1, так и сильным блокаторм связывания между SORT1 и PGRN (см., например, табл. 8-10 и фиг. 6A и 10D в WO2016164637). Поэтому S-60 был выбран для дальнейшего созревания аффинности.

Направленные против SORT1 варианты S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13, S-60-14, S-60-15, S-60-16, S-60-18, S-60-19, и S-60-24 были получены, как описано ниже.

Продуцирование вариантов S-60 с созревшей аффинностью.

Антитело S-60 против SORT1 имело созревшую аффинность. Вкратце, были созданы диверсифицированные библиотеки антитела в дрожжах для каждого первичного исходного антитела. Многообразие в первом раунде созревания аффинности создавали путем использования стандартных методик молекулярного клонирования для объединения исходной тяжелой цепи HVR-H3 и легкой цепи (LC) с заданным генетическим разнообразием в областях HVR-H1 и HVR-H2 тяжелой цепи (HC) (названных оптимизацией "H1/H2"). Для второго раунда созревания аффинности, оптимизировали последовательности как вариабельной области тяжелой цепи (V_H), так и вариабельной области легкой цепи (V_L), с особым фокусом на HVR-H3.

Селекционное давление, используемое для скрининга библиотеки, включало равновесное титрование антигена человеческого SORT1, конкурентную кинетику Fab исходного антитела, и использование деселекции реагента полиспецифичности. Затем использовали метод FACS-проточной цитометрии для визуализации и выбора антител, с использованием стандартных методик (см., например, Chao et al. Nature Protocols, 2006). Желательную популяцию затем отбирали для проведения дополнительных раундов селекции.

Анти-SORT1 антитела с созревшей аффинностью очищали следующим образом: клоны выращивали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 ч при 30°C со встряхиванием. После индукции, дрожжевые клетки осаждали центрифугированием и супернатанты собирали для очистки. Иммуноглобулины очищали с использованием колонки с белком A и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Fab-

фрагменты были получены путем гидролиза папаином и очищены на аффинной матрице CaptureSelect IgG-CH1 (LifeTechnologies).

Измерение аффинности связывания с SORT1.

Антитело против SORT1 S-60 и его варианты с созревшей аффинностью тестировали и сравнивали с помощью анализа связывания SORT1. Для анализа связывания, стабильные клетки НЕК293Т, экспрессирующие человеческий SORT1, собирали путем трипсинизации, промывали PBS (фосфатно-солевым буфером), подсчитывали и высевали на 96-луночные планшеты с U-образным дном по 1×10^5 клеток/луночку. Планшеты центрифугировали при 1400 об/мин в течение 3 минут и добавляли первичные анти-SORT1 или контрольные антитела в буфере для FACS (PBS+2 FBS (сыворотка плода коровы)) и инкубировали на льду в течение одного часа. Клетки затем центрифугировали, как описано ранее, и промывали трижды буфером для FACS. Клетки затем инкубировали с конъюгированным вторичным антителом против человеческого APC (BD Biosciences) в буфере для FACS в течение 30 минут на льду. Клетки снова промывали три раза буфером для FACS и анализировали с помощью BD FACS Canto или проточного цитометра Intellicyt. Связывание измеряли как медианную флуоресцентную интенсивность (MFI) в канале PE популяции GFP-положительных клеток.

Результаты.

Аффинности связывания анти-SORT1 антитела с SORT1 приведены ниже в табл. 1. Все антитела тестировали на каркасе huIgG1.

Таблица 1
Аффинность связывания с SORT1

Обозначение антитела	K_D (M)	Кратность изменений по сравнению с S-60
S-60	1.15E-09*	
S-60-1	7.221E-09	0,16
S-60-2	1.101E-08	0,10
S-60-3	8.56E-10*	1,34
S-60-4	6.34E-10	1,81
S-60-7	7.87E-10	1,46
S-60-8	4.68E-10	2,46
S-60-10	6.5E-10	1,77
S-60-11	6.5E-10	1,77
S-60-12	8.9E-10	1,29
S-60-13	7.5E-10	1,53
S-60-14	1.05E-09	1,10
S-60-15	5.60E-10	2,05
S-60-16	7.80E-10	1,47
S-60-18	1.63E-09	0,71
S-60-19	8.00E-10	1,44
S-60-24	7.55E-10*	1,52

* Примечание: значения K_D представляют собой среднее для двух экспериментов.

Анти-SORT1 антитела S-60-3, S-60-4, S-60-7, S-60-8, S-60-10, S-60-11, S-60-13, S-60-15, S-60-16, S-60-19, и S-60-24 продемонстрировали значимо повышенную аффинность связывания с SORT1 по сравнению с S-60. В частности, S-60-8 и S-60-15 продемонстрировали наивысшие аффинности связывания с SORT1 из протестированных вариантов, с 2,46- и 2,05-кратно повышенными значениями, соответственно, по сравнению с аффинностью связывания исходного антитела, S-60.

Пример 2. Влияние вариантов S-60 на экспрессию SORT1 и секрецию PGRN.

Целью следующего Примера было охарактеризовать влияние вариантов антитела S-60 человека против SORT1 с созревшей аффинностью на экспрессию SORT1 и внеклеточные уровни програнулина (PGRN).

Анализ экспрессии SORT1 и секреции PGRN.

Варианты S-60 со зрелой аффинностью были получены, как описано в примере 1, и затем подвергнуты скринингу методом FACS на их способность снижать экспрессию SORT1 и повышать внеклеточные уровни PGRN. Для оценки эффекта анти-SORT1 антител на экспрессию SORT1 и секрецию PGRN, клетки U251, которые эндогенно экспрессируют SORT1 и секретируют PGRN, инкубировали с антителом S-60 против SORT1 и вариантами с созревшей аффинностью. Уровни клеточной поверхности SORT1 при разных концентрациях антитела измеряли методом FACS следующим образом: антитело S-60 против

SORT1 и варианты с созревшей аффинностью добавляли к клеткам U251, посеянным при 3×10^3 клеток/лунку в 96-луночные планшеты, с серийными разбавлениями от 0,023 нМ до 150 нМ. Через 72 ч, клетки собирали с трипсином, промывали PBS и метили конъюгированным с Dylight-650 анти-SORT1 антителом S-2-11 (описанным в WO2016164637) для количественного определения уровней остаточного белка SORT1. После инкубации клеток с 5 мкг/мл S-2-11, конъюгированного с DyLight-650 (Invitrogen) в течение одного часа на льду, клетки промывали три раза в PBS+ 2 FBS и связывание определяли количественно с использованием FACSCanto™ или проточного цитометра Intellicyt как медианную интенсивность флуоресценции (MFI) APC.

Количество PGRN, секретируемого в клеточный супернатант на протяжении 72 ч, измеряют методом стандартного ИФА следующим образом: собирали клетки и собирали среду; концентрацию PGRN в образцах среды измеряли с использованием набора Duoset для ИФА человеческого PGRN фирмы R&D Systems, в соответствии с инструкциями производителя. Данные анализировали в программах Microsoft Excel и GraphPad Prism.

Результаты.

Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) понижающей регуляции (DR) уровней SORT1 клеточной поверхности для каждого из протестированных вариантов S-60 приведена в табл. 2. Снижение экспрессии (DR) SORT1 определяли количественно для каждого протестированного варианта S-60 и выражали в процентах от контроля (необработанные клетки) (табл. 2-4). Дополнительно, определяли количественно уровень внеклеточной секреции PGRN и выражали в виде кратности изменений по сравнению с необработанным контролем, как указано в табл. 2-4. Результаты независимых экспериментов приведены в отдельных табл. (табл. 2-4). Все антитела тестировали на каркасе huIgG1 WT (дикого типа).

Таблица 2

Процент снижения экспрессии (DR) SORT1 и секреция PGRN для S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7 и S-60-8

Обозначение антитела	EC_{50} снижения экспрессии (М)	Снижение экспрессии при 0,6 нМ антитела (IgG)	Секреция PGRN (кратность по сравнению с контролем) 0,62 или 0,63 нМ антитела (IgG)
S-60	6.81E-10	29,3	1,38
S-60-1	2.73E-10	50,4	1,60
S-60-2	4.20E-10	40,3	1,75
S-60-3	2.69E-10	43,0	1,77
S-60-4	4.18E-10	39,6	1,61
S-60-7	4.47E-10	32,6	1,40
S-60-8	5.76E-10	32,0	1,54

Таблица 3

Процент снижения экспрессии (DR) SORT1 и секреция PGRN для S-60, S-60-3, S-60-24, S-60-15, S-60-16, S-60-18 и S-60-19

Обозначение антитела	Снижение экспрессии при 1,25 нМ антитела (IgG)	Секреция PGRN (кратность по сравнению с контролем), 0,63 нМ антитела (IgG)
S-60	40,17	1,11
S-60-3	61,50	1,32
S-60-24	65,20	1,35
S-60-15	60,92	1,42
S-60-16	70,14	1,42
S-60-18	51,33	1,13
S-60-19	55,46	1,35

Таблица 4
Процент снижения экспрессии (DR) SORT1 и секреция PGRN
для S-60-24, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13 и S-60-14

Обозначение антитела	Снижение экспрессии при 0,63 нМ антитела (IgG)	Секреция PGRN (кратность по сравнению с контролем), 0,63 нМ антитела (IgG)
S-60-24	81,48	1,62
S-60-10	85,41	1,85
S-60-11	88,76	1,89
S-60-12	87,38	1,89
S-60-13	82,33	1,77
S-60-14	80,47	1,81

В первом эксперименте с анализом EC_{50} снижения экспрессии SORT1, процента снижения экспрессии SORT1 при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 0,6 нМ IgG, и секреции PGRN при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 0,62 или 0,63 нМ IgG, были протестированы следующие варианты: S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, и S-60-8. Как указано в табл. 2, S-60-3 продемонстрировал наименьшее EC_{50} снижения экспрессии (0,269 нМ) и наивысшую секрецию PGRN, в 1,77 раза больше по сравнению с контролем, и лучше, чем у S-60, который продемонстрировал увеличение в 1,38 раза по сравнению с контролем. При использовании 0,6 нМ IgG, S-60-1 продемонстрировал наиболее значительный эффект на экспрессию SORT1 протестированных вариантов, снижая экспрессию SORT1 на 50,4% по сравнению с контролем, в то время как S-60 снижал экспрессию SORT1 на 29,3%.

В следующем эксперименте, процент снижения экспрессии при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 1,25 нМ IgG, и секрецию PGRN при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 0,63 нМ IgG, проанализировали для следующих вариантов: S-60, S-60-3, S-60-24, S-60-15, S-60-16, S-60-18, и S-60-19. Как указано в табл. 3, как S-60-15, так и S-60-16 продемонстрировали наивысшие уровни внеклеточной секреции PGRN с 1,42-кратным увеличением по сравнению с контролем, что превышало показатели S-60, который продемонстрировал 1,11-кратное увеличение по сравнению с контролем. Действительно, эти два варианта также значительно снижали экспрессию SORT1 по сравнению с S-60, понижая экспрессию SORT1 на 60,92% и 70,14%, соответственно, по сравнению с контролем, в то время как S-60 снижал экспрессию SORT1 всего на 40,17%.

В третьем эксперименте, анализировали процент снижения экспрессии при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 0,63 нМ IgG, и секрецию PGRN при использовании насыщающей концентрации антитела, равной 0,63 нМ IgG, для следующих вариантов: S-60-24, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13 и S-60-14. Как указано в табл. 4, S-60-11 и S-60-12 продемонстрировали наивысшую величину внеклеточной секреции PGRN с 1,89-кратным увеличением по сравнению с контролем. S-60-11 также продемонстрировал наивысшее снижение экспрессии SORT1 при 0,63 нМ IgG, уменьшая экспрессию SORT1 на 88,76% по сравнению с контролем.

Выводы.

Как указано в табл. 1 в примере 1, S-60-8 и S-60-15 продемонстрировали наивысшие аффинности связывания с SORT1 по сравнению с S-60 и другими S-60 протестированными вариантами, с наименьшими значениями K_D , равными 4,68E-10M и 5,60E-10, соответственно. Однако, при сравнении с конкретным вариантом, S-60-3, имеющим более высокое значение K_D , равное 8,56E-10M (табл. 1), S-60-8 продемонстрировал меньшее увеличение секреции PGRN (табл. 2), в то время как S-60-15 продемонстрировал большую кратность увеличения секреции PGRN, чем S-60-3 (табл. 3). Дополнительно, S-60-8 (при насыщающей концентрации, равной 0,6 нМ IgG) продемонстрировал меньший процент снижения экспрессии SORT1 (табл. 2) по сравнению с S-60-3 и S-60-15 (при насыщающей концентрации, равной 1,25 нМ IgG), которые уменьшали экспрессию SORT1 на 61,50% и 60,92%, соответственно (табл. 3). Таким образом, S-60-15 продемонстрировал лучшие результаты, чем S-60-3, по отношению к повышению секреции PGRN, и показал схожий с S-60-3 эффект снижения уровней клеточной поверхности SORT1, в то время как результаты для S-60-8 были хуже, чем для S-60-3, по показателям увеличения секреции PGRN и снижения уровней клеточной поверхности SORT1.

Результаты этого исследования показывают, что относительную эффективность вариантов анти-SORT1 антитела S-60 по показателям снижения экспрессии SORT1 или увеличения секреции PGRN нельзя спрогнозировать по их относительной аффинности связывания с сортилином.

Кроме того, S-60-15 продемонстрировал наибольшее увеличение секреции PGRN по сравнению с S-60 и определенными вариантами S-60 (табл. 3, последняя колонка), включая S-60-3. S-60-3, в свою очередь, продемонстрировал повышенную секрецию PGRN по сравнению с S-60-1, -2, -4, -7, и -8 (табл. 2, последняя колонка). Таким образом, S-60-15 представляет собой эффективное антитело для увеличения

секреция PGRN по сравнению с этими вариантами S-60. Способность увеличивать секрецию PGRN является важным свойством при выборе терапевтического антитела для лечения болезней, таких как ЛВД и другие патологии, в которых дефицит PGRN играет роль непосредственной причины. Такое антитело будет полезно для восстановления уровней PGRN до, или близко к, уровням дикого типа, тем самым излечивая болезнь. Кроме того, это свойство является важным фармакодинамическим параметром при оценке активности антитела *in vivo* (см. ниже, пример 5).

Пример 3. Варианты S-60 блокируют связывание PGRN с SORT1.

Целью следующего Примера было охарактеризовать влияние вариантов антитела S-60 против SORT1 человека с созревшей аффинностью на связывающее взаимодействие между SORT1 и природным лигандом PGRN.

Анализ блокирования SORT1-PGRN.

Была также протестирована способность вариантов S-60 блокировать связывание PGRN с SORT1. Рекомбинантный человеческий PGRN (PGRN) (Adipogen) биотинилировали с помощью набора EZ-Link Micro NHS-PEG4 фирмы ThermoScientific/Pierce в соответствии с инструкциями производителя. Стабильная клеточная линия, экспрессирующая полноразмерный немеченый человеческий SORT1 (SORT1) была получена путем вирусной инфекции клеток HEK293T и положительной селекции гигромицином (специальный проект Genscript). В качестве контрольных клеток использовали исходные клетки HEK293T.

Экспрессирующие SORT1 клетки или контрольные клетки собирали и промывали PBS. Добавляли биотинилированный человеческий PGRN в PBS+2% FBS с титрованными анти-SORT1 антителами или контрольными человеческими антителами изотипа IgG1 или без них и инкубировали на льду в течение 2 ч. После промывки клеток 3 раза в PBS+2% FBS, клетки инкубировали в стрептавидине-APC (BD Biosciences, 1:100) на льду в течение 30 мин. Затем клетки снова промывали, ресуспендировали в PBS+2% FBS и анализировали на проточном цитометре FACSCanto™ (BD Biosciences, Mississauga, ON). Связывание PGRN измеряли как медианную интенсивность флуоресценции (MFI) APC в популяции клеток, экспрессирующих SORT1. Связывание биотинилированного PGRN с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, измеряют методом FACS в отсутствие или в присутствии антитела S-60 и его вариантов.

Результаты.

Полумаксимальная эффективная концентрация (EC_{50}) для блокирования связывания PGRN с SORT1 для каждого из протестированных вариантов S-60 приведена в табл. 5-7. Дополнительно, максимальный уровень блокирования PGRN с SORT1 определяли количественно и выражали в процентах от максимального блокирования, достигнутого при использовании насыщающей концентрации, равной 50 нМ IgG или 150 нМ IgG (табл. 5-7). Независимые эксперименты приведены в отдельных таблицах ниже.

Таблица 5

Блокирование связывания програнулина (PGRN) с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, для S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, S-60-8 и S-60

Обозначение антитела	EC_{50} блокирования связывания PGRN (нМ)	Блокирование связывания PGRN (% от максимального при 150 нМ антитела (IgG))
S-60-1	5,986	95,2
S-60-2	7,509	94,5
S-60-3	0,733	95,5
S-60-4	0,584	95,7
S-60-7	0,944	96,5
S-60-8	0,985	95,6
S-60	0,751	95,9

Таблица 6
Блокирование связывания програнулина (PGRN) с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, для S-60, S-60-3, S-60-24, S-60-15, S-60-16, S-60-18 и S-60-19

Обозначение антитела	EC ₅₀ блокирования связывания PGRN (M)	Блокирование связывания PGRN (% от максимального при 50 нМ антитела (IgG))
S-60	2.20E-09	90,13
S-60-3	1.76E-09	90,44
S-60-24	1.11E-09	88,94
S-60-15	1.22E-09	90,74
S-60-16	1.20E-09	90,44
S-60-18	2.27E-09	89,33
S-60-19	1.53E-09	90,15

Таблица 7
Блокирование связывания програнулина (PGRN) с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, для S-60-24, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13 и S-60-14

Обозначение антитела	EC ₅₀ блокирования связывания PGRN (M)	Блокирование связывания PGRN (% от максимального при 50 нМ антитела (IgG))
S-60-24	4.70E-10	95,64
S-60-10	4.60E-10	93,84
S-60-11	4.10E-10	94,97
S-60-12	6.10E-10	93,26
S-60-13	5.60E-10	93,83
S-60-14	6.00E-10	93,67

В первом эксперименте, анализирующем EC₅₀ блокирования связывания PGRN и процент блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1 при насыщающей концентрации 150 нМ IgG, были протестированы следующие варианты: S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7, S-60-8, и S-60. Как указано в табл. 5, S-60-4 продемонстрировал наименьшее значение EC₅₀ (0,584 нМ), достигая 95,7% блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1. Из проанализированных вариантов, S-60-7 продемонстрировал наибольшее снижение связывания PGRN, блокируя 96,5% связывания програнулина (PGRN) с SORT1, хотя и продемонстрировал более низкую эффективность блокирования связывания PGRN (более высокое значение EC₅₀), чем S-60 и варианты S-60-3 и S-60-4.

В следующем эксперименте, анализирующем блокирование связывания PGRN EC₅₀ и процент блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1 при насыщающей концентрации 50 нМ IgG, были протестированы следующие варианты: S-60, S-60-3, S-60-24, S-60-15, S-60-16, S-60-18, и S-60-19. Как указано в табл. 6, S-60-24, S-60-15 и S-60-16 продемонстрировали наименьшие EC₅₀ по сравнению с S-60, со значениями в диапазоне от 1,11 нМ до 1,22 нМ. Кроме того, вариант S-60-15 продемонстрировал наибольшую активность по сравнению с S-60, достигая 90,74% блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1.

В третьем эксперименте, были протестированы следующие варианты: S-60-24, S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-13 и S-60-14. Как указано в табл. 7, S-60-11 продемонстрировал наименьшее EC₅₀ (0,410 нМ), достигая 94,97% блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1. Из проанализированных вариантов, S-60-24 продемонстрировал наибольшее снижение связывания PGRN, блокируя 95,64% связывания програнулина (PGRN) с SORT1.

Выводы.

Как указано в табл. 1 в примере 1, как S-60-8, так и S-60-15 продемонстрировали наивысшие аффинности связывания с SORT1 по сравнению с S-60 и другими тестируемыми вариантами S-60, причем S-60-8 имел наивысшую аффинность к SORT1. Однако, при сравнении с S-60, S-60-8 продемонстрировал более низкую эффективность блокирования связывания с PGRN (более высокое значение EC₅₀ по сравнению с S-60) (табл. 5), в то время как S-60-15 продемонстрировал более высокую эффективность блокирования связывания с PGRN (пониженное значение EC₅₀ по сравнению с S-60) (табл. 6). Кроме того, S-

60-8 продемонстрировал меньший процент максимального блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1 по сравнению с S-60 (табл. 5), в то время как S-60-15 продемонстрировал более высокий процент максимального блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1 по сравнению с S-60 (табл. 6). Таким образом, S-60-15 продемонстрировал лучшие результаты, чем S-60-8, по сравнению с S-60 по показателям значения EC₅₀ при блокировании связывания PGRN с SORT1 и максимальному проценту блокирования связывания PGRN с SORT1, несмотря на то, что S-60-8 показал более высокую аффинность связывания с SORT1 по сравнению с S-60-15.

Таким образом, результаты этих исследований неожиданно показали, что относительную эффективность вариантов анти-SORT1 антитела S-60 по показателю блокирования степени связывания програнулина (PGRN) с SORT1 нельзя предсказать по их относительной аффинности связывания с SORT1.

Пример 4. Стабильность S-60-15 и анализ методом стресс-тестов.

Целью следующего Примера было определение стабильности S-60-15, представляющего собой вариант S-60 с созревшей аффинностью, описанный в предыдущих Примерах, в разных условиях стресс-тестов.

Стабильность терапевтического антитела важна для клинической эффективности. В процессе производства, хранения и *in vivo* введения, терапевтические антитела подвержены риску деградации различными путями. Факторы, ответственные за такую деградацию, остаются малоизученными. Учитывая, что S-60-15 продемонстрировал высокую аффинность связывания с SORT1 (см. Пример 1), эффективно снижал уровни SORT1 клеточной поверхности и повышал внеклеточную секрецию PGRN (см. Пример 2), а также существенно блокировал связывание PGRN с SORT1 (см. Пример 3), и неожиданно прошел эти функциональные тесты с лучшими результатами, чем S-60-8, который продемонстрировал более высокую аффинность к SORT1, S-60-15 был дополнительно проанализирован на стабильность.

pH- и температурное стресс-тестирование.

Для измерения стабильности аминокислотных остатков в S-60-15, образцы S-60-15 подвергали воздействию стрессовых условий pH и температуры для имитации стрессовых условий, которые могут возникать при производстве, хранении, и *in vivo* введении. Вкратце, индивидуальные образцы S-60-15 подвергали стресс-тестированию при pH 3,5 или pH 5,0 и при 40°C или 50°C. Образцы тестировали в разные моменты времени - 0, 1, 3 и 5 дней для двух условий pH, и 0, 7, 14 и 30 дней для условий высокотемпературного стресса - путем обработки DTT (дитиотреитол) и IAA (индолилуксусная кислота) с последующим гидролизом трипсином. Гидролизованые образцы анализировали методом жидкостной хроматографии с масс-спектроскопическим детектированием с помощью Waters ACQUITY UPLC, сопряженного с масс-спектрометром Xevo G2-XS QTOF с использованием колонки ВЕН C18. Результаты приведены в табл. 8.

Таблица 8

Таблица стехиометрического процентного содержания (% каждого пептида с модификацией). Deamid (деамидирование); Oxid (окисление); CAM (карбамидометил)

S-60-15 Пептид	Модификация	Без стресса	pH5 d0	pH5 d1	pH5 d3	pH5 d5	pH3,5 d0	pH3,5 d1	pH3,5 d3	pH3,5 d5	T40 d7	T40 d14	T40 d30	T50 d7	T50 d14	T50 d30
NQFSLK (SEQ ID NO:87)	Deamid	1,3	1,5	1,5	1,5	0,9	1,5	1,4	1,5	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4
QGYYGMDVWVGQGTTVTVSSASTK (SEQ ID NO:88)	Oxid M(1)	6,2	6,8	6,2	6,6	8,8	6,2	6,8	6,6	6,4	5,7	5,1	5,6	5,1	5,4	1,3
QGYYGMDVWVGQGTTVTVSSASTK (SEQ ID NO:88)	Deamid Q(1)	0,5	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	1,0	1,0	1,4	2,3	3,6
DYFPEPVTVSWNSGALTSKV HIFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTK (SEQ ID NO:89)	Deamid N(1) Oxid W(1)	3,3	3,3	3,3	3,3	3,8	3,4	3,4	3,4	3,2	3,2	3,1	0,0	3,2	3,1	3,2
DYFPEPVTVSWNSGALTSKV HIFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTK (SEQ ID NO:89)	Deamid N(1)	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,4	0,5	0,8	0,7	1,0	1,5
DTLMISR (SEQ ID NO:90)	Oxid M(1)	3,1	3,6	3,4	3,5	3,5	3,6	3,1	3,4	3,3	4,0	4,4	5,8	5,2	7,2	12,2
TPVETCVVVDVVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAK (SEQ ID NO:91)	Deamid N(1)	1,4	1,1	1,2	1,3	1,7	1,5	1,2	1,4	1,3	0,2	0,3	1,3	1,1	0,2	5,2
VVSVLTVLHQDWLNGK (SEQ ID NO:92)	Deamid N(1)	7,8	7,2	6,7	6,9	6,5	7,0	6,9	7,0	6,8	8,1	8,4	9,2	9,3	12,6	12,0
EPQVYTLPPSQEEMTK (SEQ ID NO:93)	Oxid M(1)	0,3	0,3	0,0	0,0	1,5	0,2	0,4	0,4	0,5	0,8	0,0	0,0	0,8	1,3	1,1

NQVSLTCLVK (SEQ ID NO:94)	Deamid N(1) CAM C(1)	1,9	2,1	2,0	2,0	1,7	2,0	2,0	2,0	1,9	1,9	2,1	1,9	2,1	2,5	2,0
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK (SEQ ID NO:95)	Deamid N(1)	5,2	4,9	5,1	5,0	6,4	5,0	5,0	5,2	4,9	7,0	8,9	9,6	11,1	19,0	45,9
WQEGNVFSCSVMHEALH NHHTQK (SEQ ID NO:96)	Deamid N(1) CAM C(1)	3,8	4,0	4,0	4,0	4,4	3,9	3,0	4,0	3,9	3,7	3,7	3,9	3,9	4,4	6,7
WQEGNVFSCSVMHEALH NHHTQK (SEQ ID NO:96)	CAM C(1), Oxid. M(1)	1,6	1,8	1,8	1,8	1,9	1,8	1,8	1,9	1,8	1,8	1,9	2,6	2,2	2,6	5,1
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR (SEQ ID NO:97)	CAM C(1), Oxid. M(1)	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	1,1	0,8	0,8	2,0
SSQSLLR (SEQ ID NO:98)	Deamid Q(1)	6,8	6,1	5,2	5,4	6,5	6,0	5,4	6,7	5,8	7,3	6,9	7,0	6,8	7,2	6,6
SNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLIYLGSR (SEQ ID NO:99)	Deamid N(1)	11,2	9,3	9,4	9,3	12,4	9,8	9,7	9,8	9,6	15,7	20,3	21,9	30,7	45,4	65,6
AEAEDVGVVYCMQQEAP LTFGGGTK (SEQ ID NO:100)	CAM C(1), Oxid. M(1)	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,6	1,1	0,8	1,1	2,1
SGTASVVCLLNNFYPR (SEQ ID NO:101)	Deamid N(1)	2,6	2,8	2,9	2,8	3,1	2,8	2,7	2,8	2,7	2,6	2,7	2,5	2,6	3,0	3,4
VDNALQSGNSQESVTEQDSK (SEQ ID NO:102)	Deamid N(1)	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,6	0,8	1,3

Были идентифицированы аминокислоты, потенциально подверженные посттрансляционным модификациям (PTM) при стрессе, и соответствующие пептидные фрагменты, полученные из подвергнутых стрессу образцов, отслеживали кинетически. Результаты подтвердили, что два сайта аспарагин-глицин, один в Fc-области тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11) и один в Fab-области легкой цепи (SEQ ID NO: 15) S-60-15, были наиболее восприимчивыми к PTM, демонстрируя 45,9% и 65,6% деамидирования, соответственно, после хранения при 50°C в течение 30 дней. Ни одна другая посттрансляционная модификация или сайт расщепления не демонстрировали значительных посттрансляционных модификаций или деградации при стресс-тестах.

Деамидирование сайта аспарагина (N33).

Никакое деамидирование в Fc-области тяжелой цепи S-60-15 не должно влиять на аффинность связывания S-60-15 с SORT1, поскольку этот участок не взаимодействует непосредственно с SORT1. Однако, сайт аспарагина (N33) в Fab-области S-60-15 расположен в HVR-L1 (SEQ ID NO: 8), участке, определяющем комплементарность легкой цепи, который участвует в связывании антигена. Таким образом, деамидирование сайта аспарагина (N33) в Fab-области S-60-15 может влиять на аффинность связывания S-60-15 с SORT1. При деамидировании, сайт аспарагина (N33) в Fab-области S-60-15 подвергается замене Asn на Asp/изо-Asp.

Сайт-направленный мутагенез был использован для тестирования эффектов деамидирования сайта аспарагина (N33) в Fab-области S-60-15 и потенциальной аминокислотной замены на снижение вероятности деградации и деамидирования и вызываемых этим производственных последствий. Было получено семнадцать разных точковых мутаций в положении N33 HVR-L1 S-60-15 huIgG1 и подвергнуто селекционированию с использованием стандартных процедур. Аллотип Gln3 или Gln(f) с мутациями L234A/L235A/P331S (мотив "LALAPS") использовали в качестве фонового уровня (Jefferis R and Lefranc M-P, Mabs, 2009 Jul-Aug; 1(4): 332-338). Точковые мутации LALAPS предназначены для повышения общей безопасности путем минимизации эффекторных функций, таких как связывание Fc-гамма-рецептора, активация комплемента, и опосредованная антителами клеточная цитотоксичность (ADCC). Уменьшение связывания Fc-гамма-рецептора, активация комплемента и ADCC в результате мутаций LALAPS наблюдались в различных экспериментах (данные не приведены). Данные интерферометрии биослоев (BLI) собирали при частоте 5 Гц при 25°C на инструменте Pall ForteBio Octet RED96. Анализ данных проводили с использованием прикладной программы анализа данных ForteBio Data Analysis Software, version 9.0. Стандартный кинетический буфер (PBS, 0,1 BSA, 0,02 Tween-20, pH 7,2) использовали для анализа и для приготовления реагентов. Для всех анализов, кончики датчиков уравнивали в буфере перед проведением анализа.

Для первичного скрининга по скорости диссоциации, мутанты S-60-15 LALAPS N33 и N33X (1

мкг/мл, время загрузки 300 с) захватывали на биодатчиках Anti-Human IgG Fc Capture Dip and Read Biosensors (Pall ForteBio, Menlo Park, CA). Затем связывали с захваченным на поверхности анти-SORT1 20 нМ меченого гистидином человеческого SORT1 (R&D Systems, Minneapolis, MN) (время связывания 200 с, время диссоциации 1200 с). Результирующий сигнал BLI получали в виде разности с ответом эталонного датчика (1 мкг/мл S60-15+0 нМ SORT1). Контроль без лиганда (0 мкг/мл IgG+20 нМ SORT1) продемонстрировал отсутствие измеримого неспецифического связывания антигена с поверхностью кончика датчика. Применяли полную и локальную аппроксимацию с использованием модели взаимодействия 1:1 для получения констант скорости ассоциации и диссоциации (k_a и k_d , соответственно) для каждого мутанта N33. Константы аффинности (K_D) рассчитывали как соотношение k_d/k_a . Были выполнены разные аминокислотные замены в положении N33 и протестированы на связывание с SORT1 путем скрининга по константе диссоциации (в условиях отсутствия стресса), как указано в табл. 9.

Таблица 9

Расчетные k_a , k_d и K_D для связывания мутантов S-60-15 N33X с SORT1

Варианты S-60-15	k_a (M c) ⁻¹	k_d (c ⁻¹)	K_D (нМ)
S-60-15 [N33 (дикого типа (wt))]	5.12E+0 5	1.41E-04	270
S-60-15.1 [N33T]	4.7E+05	1.67E-04	344
S-60-15.2 [N33S]	5.63E+0 5	2.47E-04	440
S-60-15.3 [N33G]	4.98E+0 5	4.11E-04	825
S-60-15.4 [N33R]	5.24E+0 5	4.60E-04	880
S-60-15.5 [N33D]	5.90E+0 5	6.10E-04	1000
S-60-15.6 [N33H]	5.48E+0 5	4.60E-04	823
S-60-15.7 [N33K]	5.63E+0 5	5.47E-04	965
S-60-15.8 [N33Q]	6.09E+0 5	6.53E-04	905
S-60-15.9 [N33Y]	5.11E+0 5	6.75E-04	1285
S-60-15.10 [N33E]	6.76E+0 5	4.30E-03	2007
S-60-15.11 [N33W]	6.01E+0 5	5.79E-04	960
S-60-15.12 [N33F]	2.80E+0	8.16E-04	2910
	5		
S-60-15.13 [N33I]	4.91E+0 5	2.28E-04	460
S-60-15.14 [N33V]	4.45E+0 5	3.06E-04	690
S-60-15.15 [N33A]	4.93E+0 5	3.15E-04	625
S-60-15.16 [N33M]	4.95E+0 5	4.23E-04	850
S-60-15.17 [N33L]	4.12E+0 5	4.25E-04	1030

Примечание: k_a , k_d , и K_D представляют собой средние значения для множества экспериментов.

Скрининг этой панели N33X-мутантов показал, что антитело S-60-15.5 (N33D), которое имитирует деамидирование N33, приводило к значительному снижению связывания, с K_D , равным 1000 пМ, по сравнению с 270 пМ для N33 дикого типа (wt) (табл. 9). В отличие от него, антитело S-60-15.1 (N33T) имело наилучшую аффинность удерживания S-60-15 с SORT1, демонстрируя наименьшую разницу K_D с

диким типом в панели (табл. 9).

Кроме того, был проведен полный кинетический анализ с использованием множества концентраций SORT1 для S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 и huIgG1 LALAPS в независимом эксперименте. Кинетические данные представлены в табл. 10. Кинетические данные демонстрируют, что S60-15,1 [N33T] представляет собой высокоаффинное антитело в формате как huIgG1, так и huIgG1 LALAPS.

Таблица 10

Кинетические данные связывания SORT1 для S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 и huIgG1 LALAPS

Обозначение антитела	k_a (M c ⁻¹)	k_d (c ⁻¹)	K_D (нМ)
S-60-15.1 [N33T]	5.99E+05	1.79E-04	298
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	4.79E+05	1.27E-04	260

Клеточное связывание и функциональность.

После этого тестировали S-60-15.1 [N33T], в формате как huIgG1, так и huIgG1 LALAPS, и S-60-15.5 [N33D] на связывание с клетками и функциональность, как описано ниже.

Антитела S-60, S-60-15.1 [N33T] и S-60-15.5 [N33D] со зрелой аффинностью тестировали параллельно на связывание с человеческим SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, как описано выше. Результаты представлены в табл. 11. S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 или huIgG1 LALAPS продемонстрировал более высокую аффинность, чем S-60 (табл. 11), с более низким K_d и более высоким V_{max} . Фс-вариант, по-видимому, не влиял на аффинность, имея лишь незначительные различия в K_D и V_{max} между S-60-15.1 [N33T] huIgG1 и huIgG1 LALAPS. Полностью деамидированный вариант S-60-15.5 [N33D] не продемонстрировал сколько-либо значимого связывания (табл. 11, N.B. (нет связывания)) с клетками, экспрессирующими человеческий SORT1, что позволяет предположить, что амидирование остатка N33 является существенным для связывания мишени.

Таблица 11

Значения аффинности связывания клеток, измеренные методом FACS

Обозначение антитела	K_d (нМ)	V_{max} (MFI)
S60	1.02	758381
S-60-15.5 [N33D]	N.B.	N.B.
S-60-15.1 [N33T]	0.3651	791996
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	0.4231	792791

Клетки U251, которые эндогенно экспрессируют SORT1 и секретируют PGRN, инкубировали с антителом S-60 против SORT1, S-60-15.1 [N33T] или S-60-15.5 [N33D] в разных концентрациях, и уровни SORT1 клеточной поверхности измеряли методом FACS, как описано в примере 2. Контролем были неопработанные клетки. Для количественного определения процента снижения экспрессии сортилина использовали насыщающую концентрацию IgG антитела 150 нМ. Для количественного определения секреции PGRN использовали насыщающую концентрацию IgG антитела 50 нМ. Результаты приведены в табл. 12. S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 или huIgG1 LALAPS приводил к значительному снижению экспрессии SORT1 и увеличению секреции PGRN. Как уровень снижения экспрессии SORT1, так и уровень увеличения секреции PGRN значительно улучшались для S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 или huIgG1 LALAPS по сравнению с S-60. S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 продемонстрировал только незначительное снижение EC_{50} и процент снижения экспрессии SORT1, имея незначительную кратность увеличения секреции PGRN по сравнению с S-60-15.1 [N33T] в формате huIgG1 LALAPS. В отличие от этого, полностью деамидированный вариант S-60-15.5 [N33D] имел более низкие характеристики, чем S-60, в каждом из этих функциональных анализов; он не продемонстрировал значимого снижения экспрессии SORT1 и имел лишь минимальные изменения уровней секретируемого PGRN.

Таблица 12

Снижение экспрессии (DR) SORT1 клеточной поверхности вариантами антитела S60

Обозначение антитела	EC ₅₀ (нМ)	% DR при 150 нМ антитела (IgG)	Секреция PGRN, кратность по сравнению с контролем при 50 нМ антитела (IgG)
S-60	680,9	62,5	1,75
S-60-15.5 [N33D]	n.d. (не определено)	3,4	1,22
S-60-15.1 [N33T]	72,58	69,3	2,29
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	103,6	70,3	1,97

Связывание биотинилированного PGRN с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T, измеряют методом FACS в отсутствие или в присутствии антитела S-60 против SORT1, S-60-15.1 [N33T] и S-60-15.5 [N33D], как описано в примере 3. Результаты приведены в табл. 13. Насыщающую концентрацию антитела, равную 150 нМ IgG, использовали для количественного определения процента блокирования связывания програнулина (PGRN) с SORT1.

Таблица 13

Блокирование связывания PGRN с SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T

Обозначение антитела	EC ₅₀ (нМ)	Процент блокирования при 150 нМ антитела (IgG)
S60	0,751	95,9
S-60-15.5 [N33D]	0,588	27,5
S-60-15.1 [N33T]	0,325	96,5
S-60-15.1 [N33T] LALAPS	0,405	96,9

Варианты S-60-15.1 [N33T], как с LALAPS, так и без него, продемонстрировали наименьшие значения EC₅₀ и наивысший уровень блокировки связывания PGRN с SORT1 по сравнению с S-60-15.5, а также по сравнению с S-60. Таким образом, S-60-15.1 [N33T] имел лучшие результаты, чем S-60 и S-60-15.5, в блокировании связывания PGRN с SORT1.

В общем, было обнаружено, что S-60-15 подвергается значительному деамидированию в положении N33 в условиях стресса при хранении (см. табл. 8), что увеличивает вероятность деградации и приводит к последствиям для производства. Ранее описанное антитело S-60 против SORT1 и варианты S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-7 и S-60-8 также содержат аспарагин в положении 33 в V_L. В частности, положение сайта деамидирования N33 в сайте HVR-L1, вероятно, будет влиять на связывание S-60-15 с SORT1. S-60-15.1 [N33T], один из нескольких протестированных вариантов S-60-15, сохранял значительную аффинность связывания с SORT1 по сравнению с S-60-15 (см. табл. 9) и демонстрировал значительно повышенную аффинность связывания с SORT1 по сравнению с S-60 (см. табл. 11; сравните с S-60-15 WT в табл. 1). Такое сохранение высокой аффинности связывания было неожиданным для антитела, имеющего не являющуюся предпочтительной замену в HVR-L1, потому что остатки HVR-L1 могут контактировать с антигеном. Также, неожиданно, вариант S-60-15.1 [N33T] сохранял повышенную степень снижения экспрессии SORT1, повышенную секрецию PGRN, и повышенное блокирование связывания програнулина (PGRN) с SORT1 по сравнению с S-60 (см. табл. 12 и 13). Эти результаты также были неожиданными, потому что не-предпочтительная замена в последовательности HVR будет, аналогично, негативно влиять на функциональные характеристики антитела. Вместо этого, S-60-15.1 [N33T] сохраняет желательные свойства снижения экспрессии SORT1 клеточной поверхности, увеличения секреции PGRN, и блокирования связывания PGRN с SORT1, в дополнение к тому, что он более стабилен, чем ранее описанные антитела, вследствие удаления чувствительного к производственным условиям остатка (manufacturing liability) в положении 33 V_L.

Пример 5. Фармакокинетика и фармакодинамика антитела против сортилина у не являющихся человеком приматов.

В этом примере определяли фармакокинетику (PK) и фармакодинамику (PD) внутривенно (IV) вводимого антитела против сортилина S-60-15.1 [N33T] LALAPS у не являющихся человеком приматов.

Материалы и методы.

Фармакокинетические и фармакодинамические исследования разовой дозы.

Для фармакокинетических исследований разовой дозы, яванским макакам вводили антитело против сортилина в виде разовой внутривенной (IV) дозы 5 мг/кг, 20 мг/кг, 60 мг/кг, или 200 мг/кг в День 0 (n=3

животных на дозу). После этого у животных брали в разные моменты времени кровь и ЦСЖ для определения концентраций антитела против сортилина в плазме и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), необходимых для фармакокинетических измерений антитела против сортилина. Также определяли концентрацию програнулина (PGRN) и уровни сортилина (SORT1) на лейкоцитах (WBC), необходимые для фармакодинамических измерений.

Концентрации антитела против сортилина оценивали с использованием анализа ИФА со специфическими к антителу против сортилина антиидиотипическими антителами. Концентрации PGRN оценивали с помощью коммерчески доступного набора для ИФА. Уровни SORT1 на лейкоцитах анализировали с использованием ИФА, и нормировали к концентрации белка.

Результаты.

В табл. 14 приведены средние C_{\max} плазмы, средние ППК (площадь под кривой, AUC), и $t_{1/2}$ для каждой из протестированных доз антитела против сортилина.

Таблица 14

C_{\max} , средние ППК и $t_{1/2}$ для указанных доз антитела против сортилина (n=3 для каждой дозы)

Доза антитела	Средние C_{\max} (мкг/мл)	Средние ППК (AUC) (мкг х ч/мл)	$t_{1/2}$, часов
5 мг/кг	156	2,870	4,7
20 мг/кг	697	26,500	13,3
60 мг/кг	2,570	118,000	42
200 мг/кг	7,910	366,000	73,6

Как продемонстрировано на фиг. 1А, уровни экспрессии SORT1 в лейкоцитах периферической крови снижались после введения не являющимся человеком приматам любых тестируемых доз антитела против сортилина. Более высокие дозы антитела против сортилина (60 мг/кг, 200 мг/кг) приводили к как более раннему, так и более длительному снижению уровней SORT1 в лейкоцитах периферической крови по сравнению с более низкими дозами антитела против сортилина (5 мг/кг, 20 мг/кг).

Уровни PGRN в плазме повышались у не являющихся человеком приматов, получивших разовую внутривенную инъекцию антитела против сортилина время- и дозозависимым образом (фиг. 1В). В частности, уровни PGRN плазмы повышались в 3-4 раза при C_{\max} , по сравнению с уровнями базовой линии, для всех тестируемых доз антитела против сортилина. Уровни PGRN плазмы оставались повышенными на протяжении более длительных периодов времени при более высоких дозах антитела. Дополнительно, повышенные уровни PGRN плазмы коррелировали с пониженными уровнями экспрессии SORT1 в лейкоцитах периферической крови.

Уровни PGRN в ЦСЖ также повышались у не являющихся человеком приматов, получивших разовую внутривенную инъекцию антитела против сортилина. Как показано на фиг. 1С, уровни PGRN ЦСЖ повышались в 2-3 раза выше базовой линии у животных, получивших 20 мг/кг, 60 мг/кг или 200 мг/кг. Как и для уровней PGRN плазмы, уровни PGRN ЦСЖ оставались повышенными на протяжении определенного времени в группах более высоких доз антитела.

В табл. 15 приведены средние C_{\max} ЦСЖ, средние ППК, и $t_{1/2}$ для каждой из протестированных доз антитела против сортилина у не являющихся человеком приматов. Концентрации антитела против сортилина в ЦСЖ составляли в среднем около 0,1% от количества, наблюдавшегося в плазме.

Таблица 15

Фармакокинетические параметры антитела против сортилина в ЦСЖ и расчетный период полувыведения у не являющихся человеком приматов

[1] Уровень дозы	C_{\max} (мкг/мл)	AUC _{all} (ч*мкг/мл)	CL (мл/ч/кг)	$t_{1/2}$, часов (суток)
5 мг/кг	20	184	20692	32,3 (1,34)
20 мг/кг	2243	35717	745	23,8 (1)
60 мг/кг	6842	113573	623	38,3 (1,6)
200 мг/кг	4595	349187	1037	72,4 (3,02)

Фармакокинетические и фармакодинамические исследования с повторными дозами.

Дополнительные фармакокинетические и фармакодинамические исследования были проведены у не являющихся человеком приматов, получавших антитело против сортилина по схеме с введением повторных доз. В этих исследованиях, животным (2 самцам и 2 самкам) вводили антитело против сортилина в дозе 60 мг/кг раз в неделю в течение четырех недель. После этого определяли в различные моменты времени уровни экспрессии SORT1 в лейкоцитах периферической крови. Кроме того, определяли также

уровни антитела против сортилина плазмы и ЦСЖ.

Как показано на фиг. 2А, уровни SORT1 в лейкоцитах периферической крови оставались пониженными на протяжении исследований. Уровни PGRN плазмы повышались при пиковых значениях в 5-6 раз выше уровней базовой линии (фиг. 2В). Снижение PGRN плазмы наблюдали после четвертого и последнего введения антитела против сортилина; однако, уровни PGRN плазмы оставались повышенными в 2 раза по сравнению с базовой линией. Дополнительно, уровни PGRN ЦСЖ были повышены в 3-4 раза от базовой линии (фиг. 2С).

Системная экспозиция антитела против сортилина, при оценке по средним C_{max} и AUC₀₋₁₆₈, составляла 2100 мкг/мл и 114000 мкг/мл×ч в День 1, и 3020 мкг/мл и 174000 мкг/мл×ч в День 22. Эти результаты показывают, что экспозиция в День 22 была выше, чем в День 1, указывая на некоторое накопление антитела.

Концентрация антитела против сортилина в ЦСЖ у этих животных находилась в диапазоне значений от 0,03% до 0,12% от наблюдаемых в плазме, что согласуется с распределением других антител в ЦСЖ (Pestalozzi et al., (2000) J Clin Oncol 18(11):2349-51; Petereit et al., (2009) Mult Scler 15(2):189-92).

Взятые вместе, эти результаты показывают, что вариант S-60-15.1 [N33T], несмотря на относительно короткий период полувыведения, проявляет продолжительную активность in vivo, снижая уровни SORT1 в лейкоцитах периферической крови и повышая уровни PGRN плазмы и ЦСЖ.

Кроме того, внутривенное (IV) введение S-60-15.1 [N33T] яванским макакам в ходе токсикологических исследований повторных доз продолжительностью как 4 недели, так и 26 недель, хорошо переносилось при дозах до 200 мг/кг еженедельно, и не наблюдалось нежелательных результатов, которые исключали бы возможность проведения клинических исследований у людей на основании этих и других токсикологических исследований, которые включали оценку высвобождения цитокина, смертности, веса тела, частоты и глубины дыхания, и локальной переносимости в месте инъекции. Поэтому, S-60-15.1 [N33T] является пригодным для тестирования в клинических исследованиях у людей с ЛВД и другими показаниями, как указано в данном документе.

Отсутствие неблагоприятных результатов, касающихся токсичности при введении антитела против сортилина, было неожиданным с учетом того, что сортилин выступает в роли рецептора нескольких лигандов и выполняет многочисленные функции в клеточном транспорте и сигнализации (Nykjaer, A et al., (2012) Trends Neurosci 35:261-270). Ожидалось, что из-за разнообразия лигандов и функциональных ролей сортилина, введение антитела против сортилина может вызывать нежелательные эффекты; однако антитело S-60-15.1 [N33T] хорошо переносилось во введенных дозах.

Последовательности V_H-областей вариантов антитела S-60, выравнивание с S-60, и положения HVR.

S-60	(SEQ	ID	NO:	56)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST				
YY 60				
S-60-1	(SEQ	ID	NO:	107)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSVRYWGWRQPPGKGLEWIGSIYHSGSTY				
Y 60				
S-60-2	(SEQ	ID	NO:	108)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSVRYWGWRQPPGKGLEWIGAIYPSGST				
YY 60				
S-60-3	(SEQ	ID	NO:	109)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST				
YY 60				
S-60-4	(SEQ	ID	NO:	110)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST				
YY 60				
S-60-7	(SEQ	ID	NO:	111)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST				
YY 60				
S-60-8	(SEQ	ID	NO:	112)
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST				
YY 60				

S-60-10 (SEQ ID NO: 54)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-11 (SEQ ID NO: 54)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-12 (SEQ ID NO: 54)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-13 (SEQ ID NO: 55)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-14 (SEQ ID NO: 55)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-15 (SEQ ID NO: 56)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-15.1 (SEQ ID NO: 56)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-16 (SEQ ID NO: 56)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-18 (SEQ ID NO: 56)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-19 (SEQ ID NO: 54)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60-24 (SEQ ID NO: 56)
 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWRQPPGKGLEWIGTIYHSGST
 YY 60

S-60 Выравнивание *****
 S-60 HVR H1 (SEQ ID NO: 1)-----YSISGYYWG-----
 S-60 HVR H2 (SEQ ID NO: 2)-----TIYHSGSTYY

S-60 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYGMDVWGQGT
 VTVSS 122

S-60-1 (SEQ ID NO: 107 продолж.)
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYGMDVWGQGT
 VTVSS 122

S-60-2 (SEQ ID NO: 108 продолж.)
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYGMDVWGQGT
 VTVSS 122

S-60-3 (SEQ ID NO: 109 продолж.)
 NPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYGMDVWGQGT

VTVSS 122
 S-60-4 (SEQ ID NO: 110 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-7 (SEQ ID NO: 111 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-8 (SEQ ID NO: 112 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-10 (SEQ ID NO: 54 продолж.)
 NPSLKS QVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-11 (SEQ ID NO: 54 продолж.)
 NPSLKS QVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-12 (SEQ ID NO: 54 продолж.)
 NPSLKS QVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-13 (SEQ ID NO: 55 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-14 (SEQ ID NO: 55 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-15 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-15.1 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-16 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-18 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-19 (SEQ ID NO: 54 продолж.)
 NPSLKS QVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122
 S-60-24 (SEQ ID NO: 56 продолж.)
 NPSLKS RVTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYYGMDVWGQGT
 VTVSS 122

S-60 Выравнивание ****: *.*****: *****

S-60 HVR H2 (SEQ ID NO: 2 продолж.) NPSLKS-----

S-60 HVR H3 (SEQ ID NO: 6) -----ARQGSIKQGYYGMDV-----

Последовательности V_L-областей вариантов антитела S-60, выравнивание с S-60, и положения HVR.

S-60	(SEQ	ID	NO:	79)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR				
A 60				
S-60-1	(SEQ	ID	NO:	113)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR				
A 60				
S-60-2	(SEQ	ID	NO:	114)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR				
A 60				
S-60-3	(SEQ	ID	NO:	115)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLRSNGYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSR				
V 60				
S-60-4	(SEQ	ID	NO:	116)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQGLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR				
A 60				
S-60-7	(SEQ	ID	NO:	117)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASISCRSSQSLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR				
A 60				
S-60-8	(SEQ	ID	NO:	118)

DIVMTQSPLSLPVTGGPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-10 (SEQ ID NO: 57)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-11 (SEQ ID NO: 58)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-12 (SEQ ID NO: 59)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSR
V 60
S-60-13 (SEQ ID NO: 57)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-14 (SEQ ID NO: 58)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-15 (SEQ ID NO: 57)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-15.1 (SEQ ID NO: 60)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSTGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-16 (SEQ ID NO: 77)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-18 (SEQ ID NO: 78)
DIVMTQSPLSLPVTGGPASICRSSQSLLRSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-19 (SEQ ID NO: 79)
DIVMTQSPLSLPVTGEPASICRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60
S-60-24 (SEQ ID NO: 80)
DIVMTQSPLSLPVTGESASICRSSQGLLRSGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR
A 60

S-60 Выравнивание *****

S-60 HVR L1 (SEQ ID NO: 27)-----RSSQSLHNSGYNLYD-----

S-60 HVR L2 (SEQ ID NO: 29)-----LGSNRA

S-60	(SEQ	ID	NO:		продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG			79		продолж.)
S-60-1	(SEQ	ID	NO:	113	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-2	(SEQ	ID	NO:	114	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-3	(SEQ	ID	NO:	115	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-4	(SEQ	ID	NO:	116	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-7	(SEQ	ID	NO:	117	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-8	(SEQ	ID	NO:	118	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-10	(SEQ	ID	NO:	57	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-11	(SEQ	ID	NO:	58	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-12	(SEQ	ID	NO:	59	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-13	(SEQ	ID	NO:	57	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-14	(SEQ	ID	NO:	58	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-15	(SEQ	ID	NO:	57	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-15.1	(SEQ	ID	NO:	60	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-16	(SEQ	ID	NO:	77	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-18	(SEQ	ID	NO:	78	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-19	(SEQ	ID	NO:	79	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)
S-60-24	(SEQ	ID	NO:	80	продолж.)
SGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQQQETPLTFGGG					продолж.)

S-60 Выравнивание *****

S-60 HVR L2 (SEQ ID NO: 29 продолж.)S-----

S-60 HVR L3 (SEQ ID NO: 33) -----MQQQETPLT-----

Таблица 16
Последовательности H1 HVR тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR H1	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	YSISSGYYWG	1

Таблица 17
Последовательности H2 HVR тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR H2	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	TIYHSGSTYYN PSLKS	2
S-60-13; S-60-14	TIYHSGSTYYN PSLES	3
Формула I	TIYHSGSTYYN PSLX ₁ S X ₁ представляет собой К или Е	4

Таблица 18
Последовательности H3 HVR тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR H3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-19	ARQGSIQGYGMD V	5
S-60; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-24	ARQGSIKGYGMD V	6
Формула II	ARQGSIX ₁ QGYGMD DV X ₁ представляет собой Q или K	7

Таблица 19
Последовательности L1 HVR легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR L1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-16; S-60-18	RSSQSLLRNNGYNYLD	8
S-60-15.1 [N33T]	RSSQSLLRSTGYNYLD	9
S-60-15.2 [N33S]	RSSQSLLRSSGYNYLD	10
S-60-15.3 [N33G]	RSSQSLLRSGGYNYLD	11
S-60-15.4 [N33R]	RSSQSLLRSRGYNYLD	12
S-60-15.5 [N33D]	RSSQSLLRSDGYNYLD	13
S-60-15.6 [N33H]	RSSQSLLRSHGYNYLD	14
S-60-15.7 [N33K]	RSSQSLLRSKGYNYLD	15
S-60-15.8 [N33Q]	RSSQSLLRSQGYNYLD	16
S-60-15.9 [N33Y]	RSSQSLLRSYGYNYLD	17
S-60-15.10 [N33E]	RSSQSLLRSEGYNYLD	18
S-60-15.11 [N33W]	RSSQSLLRSWGNYNYLD	19
S-60-15.12 [N33F]	RSSQSLLRSEGYNYLD	20
S-60-15.13 [N33I]	RSSQSLLRSIGYNYLD	21
S-60-15.14 [N33V]	RSSQSLLRSVGNYNYLD	22
S-60-15.15 [N33A]	RSSQSLLRSEGYNYLD	23
S-60-15.16 [N33M]	RSSQSLLRSEGYNYLD	24
S-60-15.17 [N33L]	RSSQSLLRSEGYNYLD	25
S-60; S-60-19	RSSQSLLRSEGYNYLD	26
S-60-24	RSSQSLLRSEGYNYLD	27
Формула III	RSSQX ₁ LLX ₂ SX ₃ GYNYLD X ₁ представляет собой S или G X ₂ представляет собой R или H X ₃ представляет собой N, T, S, G, R, D, H, K, Q, Y, E, W, F, I, V, A, M, или L	28

Таблица 20
Последовательности L2 HVR легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR L2	SEQ ID NO:
S-60; S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	LGSNRAS	29
S-60-12	LGSNRVS	30
Формула IV	LGSNRX ₁ S X ₁ представляет собой A или V	31

Таблица 21
Последовательности L3 HVR легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HVR L3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-24	MQQQEAPLT	32
S-60; S-60-12; S-60-18; S-60-19	MQQQETPLT	33
Формула V	MQQQEX ₁ PL T X ₁ представляет собой A или T	34

Таблица 22
Последовательности каркасного участка 1 тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VH FR1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	QVQLQESGPGLVKPSSETLS LTCAVSG	35

Таблица 23
Последовательности каркасного участка 2 тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VH FR2	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	WIRQPPGK GLEWIG	36

Таблица 24

Последовательности каркасного участка 3 тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VH FR3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-19	QVTISVDTSKNQFSLELSSVTA ADTAVYYC	37
S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-24	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTA ADTAVYYC	38
Формула VI	X ₁ V ₁ TISVDTSKNQFSLX ₂ LSSVT AADTAVYYC X ₁ представляет собой Q или R X ₂ представляет собой E или K	39

Таблица 25

Последовательности каркасного участка 4 тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VH FR4	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	WGQGTTV TVSS	40

Таблица 26
Последовательности каркасного участка 1 легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VL FR1	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-19	DIVMTQSPLSLPVT EPASISC	41
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVT GPASISC	42
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVT ESASISC	43
Формула VII	DIVMTQSPLSLPVT X ₁ X ₂ ASISC X ₁ представляет собой E или G X ₂ представляет собой P или S	44

Таблица 27
Последовательности каркасного участка 2 легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VL FR2	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	WYLQKPGQSPQLLIY	45
S-60-12	WYLQKPGQPPQLLIY	46
Формула VIII	WYLQKPGQX ₁ PQLLIY X ₁ представляет собой S или P	47

Таблица 28

Последовательности каркасного участка 3 легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VL FR3	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]	GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYC	48
S-60-11; S-60-12; S-60-14; S-60-19; S-60-24	GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYC	49
S-60-16	GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GAYYC	50
S-60-18	GVPDRLSGSGGTDFTLKISRVEAEDV GVYYC	51
Формула IX	GVPDRX ₁ SGSGGTDFTLKISRX ₂ EAED VGX ₃ YYC X ₁ представляет собой F или L X ₂ представляет собой A или V X ₃ представляет собой V или A	52

Таблица 29

Последовательности каркасного участка 4 легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	VL FR4	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-11; S-60-12; S-60-13; S-60-14; S-60-15 [N33 (wt)]; S-60-15.1 [N33T]; S-60-15.2 [N33S]; S-60-15.3 [N33G]; S-60-15.4 [N33R]; S-60-15.5 [N33D]; S-60-15.6 [N33H]; S-60-15.7 [N33K]; S-60-15.8 [N33Q]; S-60-15.9 [N33Y]; S-60-15.10 [N33E]; S-60-15.11 [N33W]; S-60-15.12 [N33F]; S-60-15.13 [N33I]; S-60-15.14 [N33V]; S-60-15.15 [N33A]; S-60-15.16 [N33M]; S-60-15.17 [N33L]; S-60-16; S-60-18; S-60-19; S-60-24	FGGGTKVEIK	53

Таблица 30

Последовательности варибельной области тяжелой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	HCVR	SEQ ID NO:
S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-19	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSG YYWGWIRQPPGKLEWIGTIYHSGSTYYNP SLKSQVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAV YYCARQGSIQGGYYGMDVWGQGTITVTVSS	54
S-30-13, S-60-14	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSG YYWGWIRQPPGKLEWIGTIYHSGSTYYNP SLESRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAV YYCARQGSIQGGYYGMDVWGQGTITVTVSS	55
S-60, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16, S-60-18, S-60-24	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSSG YYWGWIRQPPGKLEWIGTIYHSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAV YYCARQGSIQGGYYGMDVWGQGTITVTVSS	56

Таблица 31

Последовательности варибельной области легкой цепи анти-SORT1 антител

Антитело (антитела)	LCVR	SEQ ID NO:
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	57
S-60-11; S-60-14	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	58
S-60-12	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSRVSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIK	59
S-60-15.1 [N33T]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSTG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIK	60
S-60-15.2 [N33S]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSSG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIK	61
S-60-15.3 [N33G]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSG GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	62
S-60-15.4 [N33R]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSRG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIK	63
S-60-15.5 [N33D]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSD GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	64
S-60-15.6 [N33H]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLRSH GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP	65

	DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	
S-60-15.7 [N33K]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSK GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	66
S-60-15.8 [N33Q]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSQ GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	67
S-60-15.9 [N33Y]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSY GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	68
S-60-15.10 [N33E]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSEG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEAPLTFGGGKVEIK	69
S-60-15.11 [N33W]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSW GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	70
S-60-15.12 [N33F]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSFG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEAPLTFGGGKVEIK	71
S-60-15.13 [N33I]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSIG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEAPLTFGGGKVEIK	72
S-60-15.14 [N33V]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSV GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	73

S-60-15.15 [N33A]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLRSA GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	74
S-60-15.16 [N33M]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLRSM GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	75
S-60-15.17 [N33L]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLRSLG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEAPLTFGGGKVEIK	76
S-60-16	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	77
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVTGGPASISCRSSQSLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRLSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIK	78
S-60, S-60-19	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIK	79
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQGLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIK	80

Таблица 32

Аминокислотные последовательности сортилина

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
Человеческий сортилин	10 20 30 40 50 MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLQLLPPS TLSQDRLDAP PPAAPLPRW	81
	60 70 80 90 100 SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRRRSAP GEDEECGRVR DFVAKLANNT	
	110 120 130 140 150 IIQIVFDDLRG SVLSWVGDS TGVILVLTTF <u>IIVPLVIMTFG</u> QSKLYRSEDY	
	160 170 180 190 200 GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGG RIFRS	
	210 220 230 240 250 SD F AK NF VQT DLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE	
	260 270 280 290 300 EIHKA VCLAK WGSNTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG	
	310 320 330 340 350 VKIY SF GLGG RFL FAS VMAD KDT TRRI HVS TDQGDTWSMA QLPSVGQEQ F	
	360 370 380 390 400 YS ILAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFSD DRGIVYSKSL DRHI.YTTTGG	
	410 420 430 440 450 ETDFT N VTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA	
	460 470 480 490 500 TAKNKNECSL HIHASYISQ KLNVPMAPLS EPNAVGVIA HGSVGD ^{AI} SV	
	510 520 530 540 550 MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYYTILDS GGIIVAEHS SRPINVIKFS	
	560 570 580 590 600 TDEGQCWQTY IFTRDPIYFT GLASEPGARS MN ISIWGFTE SELTSQWVSY	

	610 620 630 640 650 TIDFKDILER NCEFKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFRLRKSSV 660 670 680 690 700 CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGYY RPENDSKCVE QPELKGHDLE 710 720 730 740 750 FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ 760 770 780 790 800 NSKSNSVPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSVLQQHAE 810 820 830 ANGVDGVDAL DTASHTNKSG YHDDSDEDLLE	
Мышиный сортинг	MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLPPAAV GQDRLDAPP PAPPLRWAG PVGVSWGLRA AAPGGVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLGSV SLSWVGSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGRVFRSSD FAKNFVQIDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI HKAACLAKWG PNNIIFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVQEQFYYS ILAANEDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGET DFTNVTSLRG VYITSLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLRK PENSCKDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIIVAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYTILDSGG IIVAEHSNR PINVIKSTD EGQCWQSYVF TQEPYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESE ITRQWVSYTV DFKDILERNCE EDDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAQK PSVCPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDK CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPTKQNS KSNSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKYYV CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDSTSH AKSGYHDDSD EDLLE	82
Сортинг крысы	MERPRGAADG LLRWPLGLLL LLQLPPAAV GQDRLDAPP PAPPLRWAG PVGVSWGLRA AAPGGVPRA GRWRRGAPAE DQDCGRLPDF IAKLTNNTHQ HVFDDLGSV SLSWVGSTG VILVLTTFQV PLVIVSFGQS KLYRSEDYGK NFKDITNLIN	83
	NTFIRTEFGM AIGPENSGKV ILTAEVSGGS RGRVFRSSD FAKNFVQIDL PFHPLTQMMY SPQNSDYLLA LSTENGLWVS KNFGEKWEEI HKAACLAKWG PNNIIFTTH VNGSCKADLG ALELWRTSDL GKTFKTIGVK IYSFGLGGRF LFASVMADKD TTRRIHVSTD QGDTWSMAQL PSVQEQFYYS ILAANDMVF MHVDEPGDTG FGTIFTSDDR GIVYSKSLDR HLYTTTGET DFTNVTSLRG VYITSLSED NSIQSMITFD QGGRWEHLQK PENSCKDATA KNKNECSLHI HASYSISQKL NVPMAPLSEP NAVGIIVAHG SVGDAISVMV PDVYISDDGG YSWAKMLEGP HYTILDSGG IIVAEHSNR PINVIKSTD EGQCWQSYVF SQEPVYFTGL ASEPGARSMN ISIWGFTESE LTRQWVSYTI DFKDILERNCE EENDYTTWLA HSTDPGDYKD GCILGYKEQF LRLRKSSVCQ NGRDYVVAQK PSICPCSLED FLCDFGYFRP ENASECVEQP ELKGHELEFC LYGKEEHLTT NGYRKIPGDR CQGGMNPARE VKDLKKKCTS NFLNPKKQNS KSSSVPIILA IVGLMLVTVV AGVLIVKYYV CGGRFLVHRY SVLQQHAEAD GVEALDTASH AKSGYHDDSD EDLLE	

Таблица 33
Пептидные последовательности S-60-15

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
Мотив Asp-бокс	(S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y) X представляет собой любую аминокислоту	84
Мотив Asp-бокс	X-X-(S/T)-X-(D/N)-X-G-X-(T/S)-(W/F/Y)-X X представляет собой любую аминокислоту	85
Мотив Asp-бокс в человеческом сортилине (остатки 200-207)	SSDFAKNF	86
Пептид S-60-15	NQFSLK	87
Пептид S-60-15	<u>Q</u> GYYGMDVWG <u>Q</u> GTTVTVSSASTK	88
Пептид S-60-15	DYFPEPVTV <u>W</u> NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTK	89
Пептид S-60-15	DTL <u>M</u> ISR	90
Пептид S-60-15	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH <u>N</u> AK	91
Пептид S-60-15	VVSVLTVLHQDWLN <u>G</u> K	92
Пептид S-60-15	EPQVYTLPPSQE <u>E</u> MTK	93
Пептид S-60-15	<u>N</u> QVSLTCLVK	94
Пептид S-60-15	GFYPSDIAVEWES <u>N</u> GQPENNYK	95
Пептид S-60-15	WQEGNVFSCSV <u>M</u> HEALH <u>N</u> HYTQK	96
Пептид S-60-15	DIV <u>M</u> TQSPLSLPVTGPASPISCR	97
Пептид S-60-15	SS <u>Q</u> SLLR	98
Пептид S-60-15	<u>S</u> NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSR	99
Пептид S-60-15	AEAEDVGVYYC <u>M</u> QQQEAPLTFGGGTK	100
Пептид S-60-15	SGTASVVCLL <u>N</u> NFYPR	101
Пептид S-60-15	VD <u>N</u> ALQSGNSQESVTEQDSK	102

Таблица 34
Аминокислотные последовательности Fc-домена

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG1 LALAPS Fc	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	103
huIgG1 LALAPS Fc без C- концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG	104

Таблица 35

Аминокислотные последовательности полноразмерной тяжелой цепи

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
S-60-10, S-60-	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWI	105
11, S-60-12, S-60-19 <u>с Fc</u> <u>LALAPS с C-</u> <u>концевым</u> <u>лизинном</u>	RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSQVTISVDTSKN QFSLELSSVTAADTA VYYCARQGSIQGGYYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSPGK	
S-60-10, S-60-11, S-60-12, S-60-19 <u>с Fc</u> <u>LALAPS без</u> <u>C-концевого</u> <u>лизина</u>	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSQVTISVDTSKN QFSLELSSVTAADTA VYYCARQGSIQGGYYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSPG	106
S-60-13, S-60-14 <u>с Fc</u> <u>LALAPS с C-</u> <u>концевым</u> <u>лизинном</u>	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLESRTISVDTSKN QFSLELSSVTAADTA VYYCARQGSIQGGYYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSPGK	135

<p>S-60-13, S-60-14 с Fe LALAPS без <u>С-концевого</u> <u>лизна</u></p>	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLESRTISVDTSKN QFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQGYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	<p>136</p>
<p>S-60, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V],</p>	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSISSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKN QFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIQGYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	<p>137</p>

<p>S-60-15.15 [N33A], S-60-15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16, S-60-18, S-60-24 <u>с Fc</u> <u>LALAPS с C-</u> <u>концевым</u> <u>лизином</u></p>		
<p>S-60, S-60-15 [N33 (wt)], S-60-15.1 [N33T], S-60-15.2 [N33S], S-60-15.3 [N33G], S-60-15.4 [N33R], S-60-15.5 [N33D], S-60-15.6 [N33H], S-60-15.7 [N33K], S-60-15.8 [N33Q], S-60-15.9 [N33Y], S-60-15.10 [N33E], S-60-15.11 [N33W], S-60-15.12 [N33F], S-60-15.13 [N33I], S-60-15.14 [N33V], S-60-15.15 [N33A], S-60-</p>	<p>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCASVSGYSISSGYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYHSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKN QFSLKLSVTAADTAVYYCARQGSIKQGYGMDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>	138
<p>15.16 [N33M], S-60-15.17 [N33L], S-60-16, S-60-18, S-60-24 <u>с Fc</u> <u>LALAPS без</u> <u>C-концевого</u> <u>лизина</u></p>		

Таблица 36

Аминокислотные последовательности полноразмерной легкой цепи

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
S-60-10; S-60-13; S-60-15 [N33 (wt)]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISICRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	139
S-60-11; S-60-14	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISICRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	140
S-60-12	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISICRSSQSLLRSN GYNYLDWYLQKPGQPPQLLIYLGSNRVSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTKSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	141
S-60-15.1 [N33T]	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISICRSSQSLLRSTG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ	142

	LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
S-60-15.2 [N33S]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSSG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	143
S-60-15.3 [N33G]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSG GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	144
S-60-15.4 [N33R]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSR GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	145
S-60-15.5 [N33D]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSD GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLISKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	146
S-60-15.6 [N33H]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSH GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE	119

	QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
S-60-15.7 [N33K]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSK GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	120
S-60-15.8 [N33Q]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSQ GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	121
S-60-15.9 [N33Y]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSY GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	122
S-60-15.10 [N33E]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSEG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	123
S-60-15.11 [N33W]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSW GYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE	124

	QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
S-60-15.12 [N33F]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSFG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	125
S-60-15.13 [N33I]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSIG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	126
S-60-15.14 [N33V]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSV GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	127
S-60-15.15 [N33A]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSA GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	128
S-60-15.16 [N33M]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSM GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRAEAEDVGVYYCMQ QEQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE	129

	QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
S-60-15.17 [N33L]	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSLG YNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVAEDVGVYYCMQQ QEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	130
S-60-16	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVAEDVGAYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	131
S-60-18	DIVMTQSPLSLPVTGGPASISCRSSQSLLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRLSGSGSGTDFTLKISRVAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	132
S-60, S-60- 19	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVAEDVGVYYCMQ QQETPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	133
S-60-24	DIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQGLLRSN GNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVAEDVGVYYCMQ QQEAPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	134

Перечень Последовательностей

- <110> Alector LLC
- <120> АНТИТЕЛА ПРОТИВ СОРТИЛИНА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
- <130> 73502-20019.41
- <140> Еще не присвоен
<141> Одновременно с данным документом
- <150> US 62/868,849
<151> 2019-06-28
- <150> US 62/860,184
<151> 2019-06-11
- <150> US 62/698,007
<151> 2018-07-13
- <160> 146
- <170> FastSEQ для Windows версия 4.0
- <210> 1
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Синтетический конструктор
- <400> 1
Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10
- <210> 2
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Синтетический конструктор
- <400> 2
Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15
- <210> 3
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность
- <220>
<223> Синтетический конструктор
- <400> 3
Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu Ser
1 5 10 15

<210> 4
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 15
 <223> Xaa = Lys или Glu

<400> 4
 Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Xaa Ser
 1 5 10 15

<210> 5
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 5
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Gln Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 6
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 6
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 7
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 7
 <223> Xaa = Gln или Lys

<400> 7
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Xaa Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 8

<211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 8
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 9
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Thr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 10
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 10
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Ser Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 11
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 11
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Gly Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 12
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 12
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Arg Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 13
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетический конструктор

 <400> 13
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 14
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетический конструктор

 <400> 14
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser His Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 15
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетический конструктор

 <400> 15
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Lys Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 16
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетический конструктор

 <400> 16
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 17
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетический конструктор

 <400> 17
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Tyr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1 5 10 15

<210> 18
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<400> 18
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Glu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 19
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<400> 19
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Trp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 20
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<400> 20
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Phe Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 21
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<400> 21
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 16
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<400> 22

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Val Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 23

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 23

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Ala Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 24

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 24

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Met Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 25

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 25

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Leu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 26

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 26

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 27

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 27

Arg Ser Ser Gln Gly Leu Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 28

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<220>

<221> VARIANT

<222> 5

<223> Xaa = Ser или Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> 8

<223> Xaa = Arg или His

<220>

<221> VARIANT

<222> 10

<223> Xaa = Asn, Thr, Ser, Gly, Arg, Asp, His, Lys, Gln, Tyr, Glu,
 Trp, Phe, Ile, Val, Ala, Met, или Leu

<400> 28

Arg Ser Ser Gln Xaa Leu Leu Xaa Ser Xaa Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 29

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 29

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
 1 5

<210> 30

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 30

Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser
 1 5

<210> 31

<211> 7
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Ala или Val

<400> 31
 Leu Gly Ser Asn Arg Xaa Ser
 1 5

<210> 32
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 32
 Met Gln Gln Gln Glu Ala Pro Leu Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 33
 Met Gln Gln Gln Glu Thr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 34
 <211> 9
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Ala или Thr

<400> 34
 Met Gln Gln Gln Glu Xaa Pro Leu Thr
 1 5

<210> 35
 <211> 26

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 35

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly						
			20					25							

<210> 36

<211> 14

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 36

Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly
1				5					10				

<210> 37

<211> 30

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 37

Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 38

<211> 30

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 38

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 39

<211> 30

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = Gln или Arg

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 16
 <223> Xaa = Glu или Lys

<400> 39
 Xaa Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Xaa
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 40
 <211> 11
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 40
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 41
 <211> 23
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 41
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 42
 <211> 23
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 42
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 43
 <211> 23

<212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 43
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 44
 <211> 23
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 17
 <223> Xaa = Glu или Gly

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 18
 <223> Xaa = Pro или Ser

<400> 44
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Xaa Xaa Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 45
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 45
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 46
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 46
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 47
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 9
 <223> Xaa = Ser или Pro

<400> 47
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Xaa Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 48
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 48
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Ile Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 49
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 49
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 50
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 50
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ala Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 51
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 51
 Gly Val Pro Asp Arg Leu Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 52
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 6
 <223> Xaa = Phe или Leu

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 22
 <223> Xaa = Ala или Val

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 29
 <223> Xaa = Val или Ala

<400> 52
 Gly Val Pro Asp Arg Xaa Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Ile Ser Arg Xaa Glu Ala Glu Asp Val Gly Xaa Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 53
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 53
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 54
 <211> 122
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 54

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

<210> 55

<211> 122

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 55

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

<210> 56

<211> 122

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 56

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30

046146

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 57
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 57
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 58
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 58
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 59
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 59
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 60
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 60
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Thr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 61
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 61
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser

046146

```

                20                      25                      30
Ser Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                35                      40                      45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
                50                      55                      60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                      70                      75
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
                85                      90                      95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100                      105                      110

```

<210> 62
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

```

<400> 62
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1                      5                      10                      15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
                20                      25                      30
Gly Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                35                      40                      45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50                      55                      60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                      70                      75
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
                85                      90                      95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100                      105                      110

```

<210> 63
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

```

<400> 63
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1                      5                      10                      15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
                20                      25                      30
Arg Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
                35                      40                      45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50                      55                      60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                      70                      75
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
                85                      90                      95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100                      105                      110

```

<210> 64
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 64
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 65
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 65
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 His Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 66
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 66
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30

Lys Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 67
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 67
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 68
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 68
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Tyr Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 69

<211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 69

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
           20           25           30
Glu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
           85           90           95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110
  
```

<210> 70
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 70

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
           20           25           30
Trp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
           85           90           95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110
  
```

<210> 71
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 71

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
           20           25           30
Phe Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
  
```


046146

35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 72
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 72
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Ile Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 73
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 73
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Val Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 74
 <211> 112

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический конструктор

<400> 74
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Ala Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 75
<211> 112
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический конструктор

<400> 75
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Met Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 76
<211> 112
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический конструктор

<400> 76
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Leu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

046146

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 77

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 77

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ala Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 78

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 78

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Leu Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 79

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 79

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1      5      10      15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20      25      30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35      40      45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50      55      60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65      70      75      80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
85      90      95
Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100     105     110

```

<210> 80

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 80

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1      5      10      15
Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Gly Leu Leu Arg Ser
20      25      30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35      40      45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50      55      60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65      70      75      80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
85      90      95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100     105     110

```

<210> 81

<211> 831

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 81

```

Met Glu Arg Pro Trp Gly Ala Ala Asp Gly Leu Ser Arg Trp Pro His
1      5      10      15
Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Pro Pro Ser Thr Leu
20      25      30
Ser Gln Asp Arg Leu Asp Ala Pro Pro Pro Ala Ala Pro Leu Pro
35      40      45
Arg Trp Ser Gly Pro Ile Gly Val Ser Trp Gly Leu Arg Ala Ala Ala
50      55      60
Ala Gly Gly Ala Phe Pro Arg Gly Gly Arg Trp Arg Arg Ser Ala Pro
65      70      75      80

```

Gly Glu Asp Glu Glu Cys Gly Arg Val Arg Asp Phe Val Ala Lys Leu
 85 90 95
 Ala Asn Asn Thr His Gln His Val Phe Asp Asp Leu Arg Gly Ser Val
 100 105 110
 Ser Leu Ser Trp Val Gly Asp Ser Thr Gly Val Ile Leu Val Leu Thr
 115 120 125
 Thr Phe His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Phe Gly Gln Ser Lys Leu
 130 135 140
 Tyr Arg Ser Glu Asp Tyr Gly Lys Asn Phe Lys Asp Ile Thr Asp Leu
 145 150 155 160
 Ile Asn Asn Thr Phe Ile Arg Thr Glu Phe Gly Met Ala Ile Gly Pro
 165 170 175
 Glu Asn Ser Gly Lys Val Val Leu Thr Ala Glu Val Ser Gly Gly Ser
 180 185 190
 Arg Gly Gly Arg Ile Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn Phe Val
 195 200 205
 Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr Ser Pro
 210 215 220
 Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn Gly Leu Trp
 225 230 235 240
 Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile His Lys Ala Val
 245 250 255
 Cys Leu Ala Lys Trp Gly Ser Asp Asn Thr Ile Phe Phe Thr Thr Tyr
 260 265 270
 Ala Asn Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu Leu Trp Arg
 275 280 285
 Thr Ser Asp Leu Gly Lys Ser Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys Ile Tyr
 290 295 300
 Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met Ala Asp
 305 310 315 320
 Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr
 325 330 335
 Trp Ser Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser
 340 345 350
 Ile Leu Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro
 355 360 365
 Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile
 370 375 380
 Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr Gly Gly
 385 390 395 400
 Glu Thr Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr
 405 410 415
 Ser Val Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Thr Met Ile Thr Phe Asp
 420 425 430
 Gln Gly Gly Arg Trp Thr His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser Glu Cys
 435 440 445
 Asp Ala Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala
 450 455 460
 Ser Tyr Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser
 465 470 475 480
 Glu Pro Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp
 485 490 495
 Ala Ile Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly
 500 505 510
 Tyr Ser Trp Thr Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu
 515 520 525
 Asp Ser Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Ser Arg Pro Ile
 530 535 540
 Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Thr Tyr
 545 550 555 560
 Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro
 565 570 575
 Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe

580 585 590
 Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp Ile Leu
 595 600 605
 Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu Ala His Ser
 610 615 620
 Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu
 625 630 635 640
 Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp
 645 650 655
 Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser Leu Glu Asp
 660 665 670
 Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp Ser Lys Cys
 675 680 685
 Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe Cys Leu Tyr
 690 695 700
 Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly
 705 710 715 720
 Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val Lys Asp Leu
 725 730 735
 Lys Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys Gln Asn Ser
 740 745 750
 Lys Ser Asn Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu
 755 760 765
 Val Thr Val Val Ala Gly Val Leu Ile Val Lys Lys Tyr Val Cys Gly
 770 775 780
 Gly Arg Phe Leu Val His Arg Tyr Ser Val Leu Gln Gln His Ala Glu
 785 790 795 800
 Ala Asn Gly Val Asp Gly Val Asp Ala Leu Asp Thr Ala Ser His Thr
 805 810 815
 Asn Lys Ser Gly Tyr His Asp Asp Ser Asp Glu Asp Leu Leu Glu
 820 825 830

<210> 82

<211> 825

<212> БЕЛКО

<213> Mus musculus

<400> 82

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

Gly Arg Val Phe Arg Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn Phe Val Gln Thr
 195 200 205
 Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr Ser Pro Gln Asn
 210 215 220
 Ser Asp Tyr Leu Leu Ala Leu Ser Thr Glu Asn Gly Leu Trp Val Ser
 225 230 235 240
 Lys Asn Phe Gly Glu Lys Trp Glu Glu Ile His Lys Ala Val Cys Leu
 245 250 255
 Ala Lys Trp Gly Pro Asn Asn Ile Ile Phe Phe Thr Thr His Val Asn
 260 265 270
 Gly Ser Cys Lys Ala Asp Leu Gly Ala Leu Glu Leu Trp Arg Thr Ser
 275 280 285
 Asp Leu Gly Lys Thr Phe Lys Thr Ile Gly Val Lys Ile Tyr Ser Phe
 290 295 300
 Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met Ala Asp Lys Asp
 305 310 315 320
 Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr Trp Ser
 325 330 335
 Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser Ile Leu
 340 345 350
 Ala Ala Asn Glu Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro Gly Asp
 355 360 365
 Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile Val Tyr
 370 375 380
 Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Gly Gly Glu Thr
 385 390 395 400
 Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr Ser Thr
 405 410 415
 Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Ser Met Ile Thr Phe Asp Gln Gly
 420 425 430
 Gly Arg Trp Glu His Leu Arg Lys Pro Glu Asn Ser Lys Cys Asp Ala
 435 440 445
 Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala Ser Tyr
 450 455 460
 Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser Glu Pro
 465 470 475 480
 Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp Ala Ile
 485 490 495
 Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly Tyr Ser
 500 505 510
 Trp Ala Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu Asp Ser
 515 520 525
 Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Asn Arg Pro Ile Asn Val
 530 535 540
 Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Ser Tyr Val Phe
 545 550 555 560
 Thr Gln Glu Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro Gly Ala
 565 570 575
 Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe Ile Thr
 580 585 590
 Arg Gln Trp Val Ser Tyr Thr Val Asp Phe Lys Asp Ile Leu Glu Arg
 595 600 605
 Asn Cys Glu Glu Asp Asp Tyr Thr Thr Trp Leu Ala His Ser Thr Asp
 610 615 620
 Pro Gly Asp Tyr Lys Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu Gln Phe
 625 630 635 640
 Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp Tyr Val
 645 650 655
 Val Ala Lys Gln Pro Ser Val Cys Pro Cys Ser Leu Glu Asp Phe Leu
 660 665 670
 Cys Asp Phe Gly Tyr Phe Arg Pro Glu Asn Ala Ser Glu Cys Val Glu
 675 680 685
 Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Glu Leu Glu Phe Cys Leu Tyr Gly Lys

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

<210> 83

<211> 825

<212> БЕЖОК

<213> Rattus norvegicus

<400> 83

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

046146

Gly Leu Gly Gly Arg Phe Leu Phe Ala Ser Val Met Ala Asp Lys Asp
 305 310 315 320
 Thr Thr Arg Arg Ile His Val Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr Trp Ser
 325 330 335
 Met Ala Gln Leu Pro Ser Val Gly Gln Glu Gln Phe Tyr Ser Ile Leu
 340 345 350
 Ala Ala Asn Asp Asp Met Val Phe Met His Val Asp Glu Pro Gly Asp
 355 360 365
 Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg Gly Ile Val Tyr
 370 375 380
 Ser Lys Ser Leu Asp Arg His Leu Tyr Thr Thr Thr Gly Gly Glu Thr
 385 390 395 400
 Asp Phe Thr Asn Val Thr Ser Leu Arg Gly Val Tyr Ile Thr Ser Thr
 405 410 415
 Leu Ser Glu Asp Asn Ser Ile Gln Ser Met Ile Thr Phe Asp Gln Gly
 420 425 430
 Gly Arg Trp Glu His Leu Gln Lys Pro Glu Asn Ser Lys Cys Asp Ala
 435 440 445
 Thr Ala Lys Asn Lys Asn Glu Cys Ser Leu His Ile His Ala Ser Tyr
 450 455 460
 Ser Ile Ser Gln Lys Leu Asn Val Pro Met Ala Pro Leu Ser Glu Pro
 465 470 475 480
 Asn Ala Val Gly Ile Val Ile Ala His Gly Ser Val Gly Asp Ala Ile
 485 490 495
 Ser Val Met Val Pro Asp Val Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Gly Tyr Ser
 500 505 510
 Trp Ala Lys Met Leu Glu Gly Pro His Tyr Tyr Thr Ile Leu Asp Ser
 515 520 525
 Gly Gly Ile Ile Val Ala Ile Glu His Ser Asn Arg Pro Ile Asn Val
 530 535 540
 Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp Gln Ser Tyr Val Phe
 545 550 555 560
 Ser Gln Glu Pro Val Tyr Phe Thr Gly Leu Ala Ser Glu Pro Gly Ala
 565 570 575
 Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr Glu Ser Phe Leu Thr
 580 585 590
 Arg Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys Asp Ile Leu Glu Arg
 595 600 605
 Asn Cys Glu Glu Asn Asp Tyr Thr Thr Trp Leu Ala His Ser Thr Asp
 610 615 620
 Pro Gly Asp Tyr Lys Asp Gly Cys Ile Leu Gly Tyr Lys Glu Gln Phe
 625 630 635 640
 Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn Gly Arg Asp Tyr Val
 645 650 655
 Val Ala Lys Gln Pro Ser Ile Cys Pro Cys Ser Leu Glu Asp Phe Leu
 660 665 670
 Cys Asp Phe Gly Tyr Phe Arg Pro Glu Asn Ala Ser Glu Cys Val Glu
 675 680 685
 Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Glu Leu Glu Phe Cys Leu Tyr Gly Lys
 690 695 700
 Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys Ile Pro Gly Asp Arg
 705 710 715 720
 Cys Gln Gly Gly Met Asn Pro Ala Arg Glu Val Lys Asp Leu Lys Lys
 725 730 735
 Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Asn Pro Lys Lys Gln Asn Ser Lys Ser
 740 745 750
 Ser Ser Val Pro Ile Ile Leu Ala Ile Val Gly Leu Met Leu Val Thr
 755 760 765
 Val Val Ala Gly Val Leu Ile Val Lys Lys Tyr Val Cys Gly Gly Arg
 770 775 780
 Phe Leu Val His Arg Tyr Ser Val Leu Gln Gln His Ala Glu Ala Asp
 785 790 795 800
 Gly Val Glu Ala Leu Asp Thr Ala Ser His Ala Lys Ser Gly Tyr His

Asp Asp Ser Asp Glu Asp Leu Leu Glu 805 810 815
 820 825

<210> 84
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 1
 <223> Xaa = Ser или Thr

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 2
 <223> Xaa = любая аминокислота

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Asp или Asn

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 4, 5, 6, 7
 <223> Xaa = любая аминокислота

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 8
 <223> Xaa = Trp, Phe, или Tyr

<400> 84
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 85
 <211> 11
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструкт

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 1, 2
 <223> Xaa = любая аминокислота

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 3
 <223> Xaa = Ser или Thr

<220>
 <221> VARIANT

<222> 4
 <223> Хаа = любая аминокислота

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 5
 <223> Хаа = Asp или Asn

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 6, 8
 <223> Хаа = любая аминокислота

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 9
 <223> Хаа = Thr или Ser

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 10
 <223> Хаа = Trp, Phe, или Tyr

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 11
 <223> Хаа = любая аминокислота

<400> 85
 Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Gly Хаа Хаа Хаа Хаа
 1 5 10

<210> 86
 <211> 8
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 86
 Ser Ser Asp Phe Ala Lys Asn Phe
 1 5

<210> 87
 <211> 6
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 87
 Asn Gln Phe Ser Leu Lys
 1 5

<210> 88
 <211> 23
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 88

Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
 1 5 10 15
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 20

<210> 89

<211> 49

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 89

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
 1 5 10 15
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
 20 25 30
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
 35 40 45
 Lys

<210> 90

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 90

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 1 5

<210> 91

<211> 33

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 91

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 1 5 10 15
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 20 25 30
 Lys

<210> 92

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 92

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 1 5 10 15

<210> 93

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 93

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 1 5 10 15

<210> 94

<211> 10

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 94

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 1 5 10

<210> 95

<211> 22

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 95

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 1 5 10 15
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 20

<210> 96

<211> 23

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 96

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 1 5 10 15
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys

20

<210> 97
 <211> 24
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 97
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg
 20

<210> 98
 <211> 7
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 98
 Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg
 1 5

<210> 99
 <211> 28
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 99
 Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg
 20 25

<210> 100
 <211> 26
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 100
 Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln Gln Glu
 1 5 10 15
 Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 20 25

<210> 101
 <211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 101

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 1 5 10 15

<210> 102

<211> 20

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 102

Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 1 5 10 15
 Gln Asp Ser Lys
 20

<210> 103

<211> 330

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 103

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

046146

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 104

<211> 329

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 104

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

046146

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 105

<211> 452

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 105

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Gln Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380

046146

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 106

<211> 451

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 106

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

046146

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly
 450

<210> 107
 <211> 122
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 107
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Val
 20 25 30
 Arg Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 108
 <211> 122
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 108
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Val
 20 25 30
 Arg Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

046146

65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 109
<211> 122
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический конструктор

<400> 109
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 110
<211> 122
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический конструктор

<400> 110
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 111
 <211> 122
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 111
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 112
 <211> 122
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 112
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Thr Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Ser Ile Lys Gln Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 113
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 113

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 114

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 114

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 115

<211> 112

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 115

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 116
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 116

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Ser	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Gly	Leu	Leu	Arg	Ser
		20						25					30		
Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35				40						45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gln
				85					90					95	
Gln	Glu	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105						110	

<210> 117
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 117

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Arg	Ser
		20						25					30		
Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35				40						45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Gln
				85					90					95	
Gln	Glu	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
			100					105						110	

<210> 118
 <211> 112
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 118

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

046146

1 5 10 15
 Gly Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 119

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 119

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

<210> 120

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 120

046146

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

<210> 121

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 121

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Gln Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

046146

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 122

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 122

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

<210> 123

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 123

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Glu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

046146

```

65          70          75          80
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
          85          90          95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105          110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
          115          120          125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
          130          135          140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145          150          155          160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          165          170          175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
          180          185          190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
          195          200          205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          210          215

```

<210> 124

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 124

```

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

```

<210> 125

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 125

```

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

```

<210> 126

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 126

```

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

```

046146

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 127
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 127
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Val Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 128
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 128
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser

046146

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

<210> 129

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 129

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

210

215

<210> 130
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 130
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Leu Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 131
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 131
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ala Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95

046146

Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 132
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 132

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

<210> 133
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 133

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

<210> 134

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 134

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

046146

165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 135

<211> 452

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 135

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

355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 136

<211> 451

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 136

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

305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly
 450

<210> 137

<211> 452

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 137

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

260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 138

<211> 451

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 138

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

046146

210 215 220
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly
 450

<210> 139

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 139

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

046146

				165					170					175		
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	
			180					185					190			
Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	
		195					200					205				
Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
	210					215										

<210> 140

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 140

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

<210> 141

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 141

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly	
1				5					10					15		
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Arg	Ser	
			20					25					30			
Asn	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	
		35					40					45				

046146

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
 85 90 95
 Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 142

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 142

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

<210> 143
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 143

```

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

```

<210> 144
 <211> 219
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический конструктор

<400> 144

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1           5           10           15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
           20           25           30
Gly Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
           35           40           45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
           50           55           60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80
Ser Arg Ala Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
           85           90           95
Gln Glu Ala Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
           100          105          110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

```

046146

115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 145

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 145

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

<210> 146

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический конструктор

<400> 146

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

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое связывается с белком сортилином, где антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где:

(a) вариабельная область тяжелой цепи содержит

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и

вариабельная область легкой цепи содержит

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSNGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32); или

(b) вариабельная область тяжелой цепи содержит

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и

вариабельная область легкой цепи содержит

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

2. Антитело по п.1, где антитело:

(a) снижает уровни сортилина клеточной поверхности более, чем уровень снижения, вызываемый антителом против сортилина, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79;

(b) повышает внеклеточные уровни програнулина более, чем уровень повышения, вызываемый антителом против сортилина, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79;

(c) ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином более, чем уровень ингибирования, вызываемый антителом против сортилина, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79; или

(d) обеспечивает любую комбинацию (a)-(c).

3. Антитело по п.1 или 2, где антитело имеет константу диссоциации (K_D) с сортилином человека, которая имеет значение от более чем 1 раза и до примерно 2,1 раза ниже, чем у антитела против сортилина, содержащего вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79,

где K_D определяют методом флуоресцентно-активированного клеточного сортирования (FACS).

4. Антитело по любому из пп.1-3, где антитело имеет константу диссоциации (K_D) с человеческим сортилином, которая имеет значение в диапазоне от примерно $5,0E-10$ М до примерно $1,0E-9$ М, где K_D определяют методом FACS, или примерно 250-500 пМ, где K_D определяют методом интерферометрии биослоев.

5. Антитело по любому из пп.1-4, где

вариабельная область тяжелой цепи содержит

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и

вариабельная область легкой цепи содержит

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 9), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

6. Антитело по любому из пп.1-4, где

вариабельная область тяжелой цепи содержит

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность YSISGGYYWG (SEQ ID NO: 1), HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 2), и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 6); и

вариабельная область легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность RSSQSLLRSTGYNYLD (SEQ ID NO: 8), HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 29), и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность MQQQEAPLT (SEQ ID NO: 32).

7. Антитело, которое связывается с белком сортилином, где указанное антитело содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; или

(b) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

8. Антитело по любому из пп.1-5 и 7, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60.

9. Антитело по любому из пп.1-5 и 7, где указанное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57.

10. Антитело, которое связывается с белком сортилином, где указанное антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

11. Антитело, которое связывается с белком сортилином, где указанное антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142.

12. Антитело по любому из пп.1-9, где антитело принадлежит к классу IgG, классу IgM или классу IgA.

13. Антитело по п.12, где антитело принадлежит к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

14. Антитело по п.13, где:

(a) антитело относится к изотипу IgG1 или IgG2, и Fc-область содержит аминокислотную замену в положении P331S, где нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

(b) антитело относится к изотипу IgG1, и Fc-область содержит аминокислотные замены в положениях L234A, L235A и P331S, где нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU;

(c) антитело относится к изотипу IgG1, IgG2 или IgG4, и Fc-область содержит аминокислотную замену в положении N297A, где нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU; или

(d) Fc-область содержит аминокислотные замены в положениях S267E и L328F, где нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU.

15. Антитело по п.14, где антитело относится к изотипу IgG1 и Fc-область содержит аминокислотные замены в положениях L234A, L235A и P331S,

где нумерация положения остатков соответствует системе нумерации EU.

16. Антитело по любому из пп.1-15, где белок сортилин представляет собой белок сортилин человека.

17. Антитело по п.16, где белок сортилин человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 81.

18. Антитело по любому из пп.1-16, где белок сортилин представляет собой белок дикого типа, природный вариант, или вариант, связанный с заболеванием.

19. Антитело по любому из пп.1-18, где антитело представляет собой человеческое антитело или моноклональное антитело.

20. Конъюгат, содержащий антитело по любому из пп.1-19, где антитело конъюгировано с цитотоксическим агентом.

21. Биспецифическое антитело, содержащее антитело по любому из пп.1-19, где биспецифическое антитело связывается с белком сортилином и со вторым антигеном.

22. Поливалентное антитело, содержащее антитело по любому из пп.1-19, где поливалентное антитело связывается с белком сортилином и по меньшей мере со вторым антигеном.

23. Биспецифическое антитело по п.21 или поливалентное антитело по п.22, где указанный второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер.

24. Биспецифическое антитело по п.23, где второй антиген выбран из группы, состоящей из рецептора трансферрина (TR), рецептора инсулина (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2, родственных рецептору липопротеина низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TMEM 30(A), домена белковой трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида ангиопеп, басигина, Glut1, CD98hc и ANG1005.

25. Фрагмент антитела по любому из пп.1-9, где фрагмент антитела связывается с белком сортилином человека.

26. Фрагмент антитела по п.25, где фрагмент антитела представляет собой Fab-, Fab'-, Fab'-SH-, F(ab')₂-, Fv- или scFv-фрагмент.

27. Выделенная нуклеиновая кислота, которая кодирует белок, который связывается с сортилином, где нуклеиновая кислота содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело по любому из пп.1-19, антитело конъюгата по п.20, антитело биспецифического антитела по п.21 и 23-24, антитело поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмент антитела по п.25 или 26.

28. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.27.

29. Выделенная клетка-хозяин, содержащая вектор по п.28.

30. Способ получения антитела, которое связывается с сортилином, где способ включает культивирование клетки-хозяина по п.29 так, что продуцируется антитело.

31. Способ по п.30, дополнительно включающий выделение антитела, продуцируемого клеткой-хозяином.

32. Выделенное антитело, которое связывается с сортилином, продуцируемое способом по п.30 или 31.

33. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп.1-19, конъюгат по п.20, биспецифическое антитело по п.21 и 23-24, поливалентное антитело по любому из пп.22-24 или фрагмент антитела по п.25 или 26.

34. Способ профилактики, снижения риска или лечения индивидуума с болезнью, расстройством или поражением, выбранным из группы, состоящей из лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, дегенерации сетчатки, артрита и остеоартрита, где способ включает введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26, или фармацевтической композиции по п.33.

35. Способ по п.34, где болезнь, расстройство или поражение выбраны из группы, состоящей из лобно-височной деменции, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и бокового амиотрофического склероза.

36. Способ ингибирования одного или нескольких из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным разрастанием и патологическим ветвлением, микроглиальной активации, и воспалительного ответа у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

37. Способ усиления одного или нескольких из заживления ран, аутофагии, и клиренса агрегированных белков у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического ан-

титела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

38. Способ профилактики, снижения риска или лечения артрита у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

39. Способ снижения экспрессии одного или нескольких провоспалительных медиаторов у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

40. Способ по п.39, где один или несколько провоспалительных медиаторов выбраны из группы, состоящей из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

41. Способ ингибирования взаимодействия между сортилином, экспрессируемым на клетке, и програнулином, включающий приведение в контакт клетки, экспрессирующей сортилин и антитела против сортилина по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

42. Способ по п.41, где клетка находится в условиях *in vitro*.

43. Способ по п.41, где клетка находится в условиях *in vivo*.

44. Способ по любому из пп.41-43, дополнительно включающий снижение уровня сортилина, экспрессируемого на поверхности клетки.

45. Способ по любому из пп.41-44, где внеклеточные уровни програнулина повышаются.

46. Способ повышения уровней програнулина у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

47. Способ по п.46, где повышаются уровни програнулина в плазме.

48. Способ по п.46, где повышаются уровни програнулина в цереброспинальной жидкости.

49. Способ снижения уровней сортилина у нуждающегося в этом индивидуума, включающий введение индивидууму терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-19, конъюгата по п.20, биспецифического антитела по п.21 и 23-24, поливалентного антитела по любому из пп.22-24 или фрагмента антитела по п.25 или 26 или фармацевтической композиции по п.33.

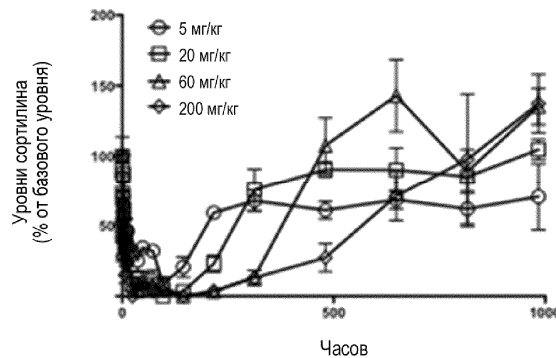
50. Способ по п.49, где снижаются уровни сортилина в лейкоцитах периферической крови.

51. Способ по любому из пп.34-40 и 46-50, где индивидуум имеет одну или несколько мутаций в гене, кодирующем програнулин.

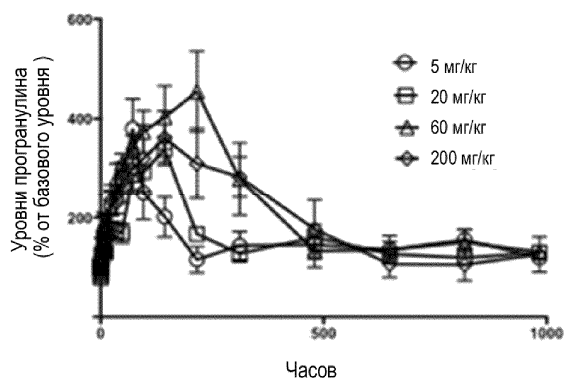
52. Способ по п.51, где индивидуум является гетерозиготным по одной или нескольким мутациям потери функции в гене, кодирующем програнулин.

53. Способ по п.51 или 52, где индивидуум болен или имеет риск развития лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера или бокового амиотрофического склероза.

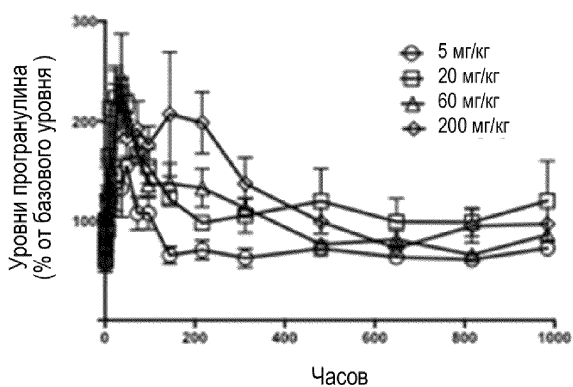
54. Способ по любому из пп.34-53, где способ включает применение двух или более антител против сортилина.



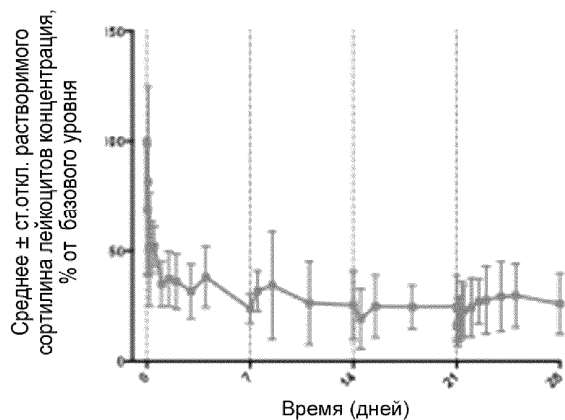
Фиг. 1А



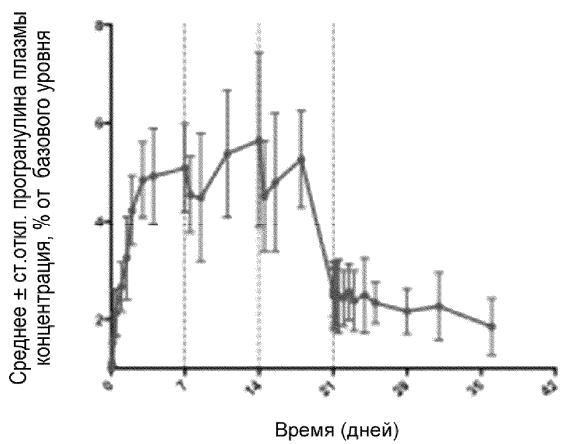
Фиг. 1В



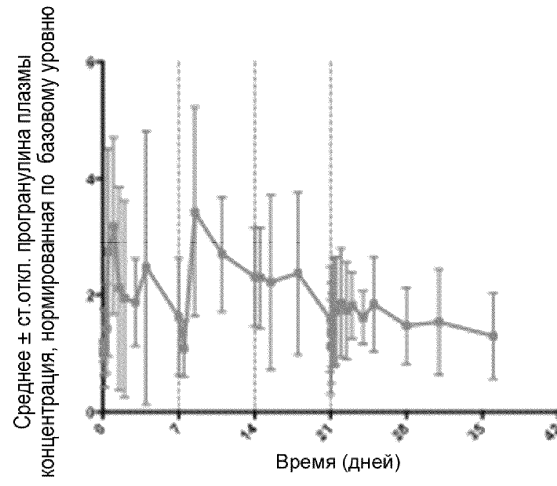
Фиг. 1С



Фиг. 2А



Фиг. 2В



Фиг. 2С

