

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0143107
(43) 공개일자 2022년10월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/09 (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01)
A61K 39/116 (2006.01) **A61P 31/04** (2006.01)
 (52) CPC특허분류
A61K 39/092 (2013.01)
A61K 39/116 (2020.05)
 (21) 출원번호 10-2022-7032307
 (22) 출원일자(국제) 2021년02월17일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2022년09월16일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2021/018402
 (87) 국제공개번호 WO 2021/167996
 국제공개일자 2021년08월26일
 (30) 우선권주장
 62/977,886 2020년02월18일 미국(US)
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인
 박사이트, 인코포레이티드
 미국 캘리포니아주 94070 산카를로스 인더스트리얼 로드 825 스위트 300
 (72) 발명자
 페어맨 제프리 씨.
 미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 스위트 300
 인더스트리얼 로드 825 박사이트 인코포레이티드
 카푸어 니라이
 미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 스위트 300
 인더스트리얼 로드 825 박사이트 인코포레이티드
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 장훈

전체 청구항 수 : 총 57 항

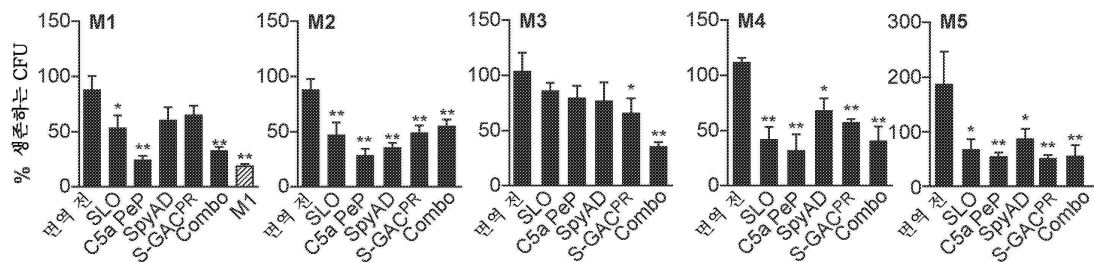
(54) 발명의 명칭 폴리사카라이드-단백질 접합체를 갖는 그룹 A 스트렙 면역원성 조성물

(57) 요약

본원의 개시내용은 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원 및 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 본원의 개시내용은 추가로 대상체에서 GAS 감염에 대한 면역 반응을 유도하기 위해 상기 조성물을 사용하는 방법을 제공한다.

대표도

사람 호중구 흡소노식세포작용 사멸



(52) CPC특허분류

A61P 31/04 (2018.01)
A61K 2039/58 (2013.01)
A61K 2039/6087 (2013.01)
A61K 2039/70 (2013.01)

(72) 발명자

데이비 피터 티.

미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 스위트 300
 인터스트리얼 로드 825 박사이트 인코포레이티드

세드라 양기에 에이.

미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 스위트 300
 인터스트리얼 로드 825 박사이트 인코포레이티드

(30) 우선권주장

63/013,924	2020년04월22일	미국(US)
63/090,069	2020년10월09일	미국(US)
63/123,293	2020년12월09일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

- a. 제1 그룹 A 스트렙토코커스(*Streptococcus*) (GAS) 폴리펩타이드 항원;
- b. 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및
- c. 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산을 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체인, 면역원성 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, Sfb1 및 SpyAD로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO인, 면역원성 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제4항에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SpyAD인, 면역원성 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제3항, 제8항, 제9항 또는 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제3항, 제8항, 제9항 또는 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제3항, 제8항, 제9항, 제12항 또는 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 20 또는 서열번호 30의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), 서열번호 25, 및 단백질 D로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), 서열번호 25, 단백질 D 및 SLO로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 nnAA가 클릭(click) 화학 반응성 그룹을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.

청구항 21

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 22

제16항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 23

제16항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 24

제22항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 25

제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 26

제16항 내지 제20항 또는 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 27

제16항 내지 제20항 또는 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 28

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 SLO 폴리펩타이드이고, 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 3 또는 4개 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

역원성 조성물.

청구항 32

제28항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 33

제28항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

청구항 34

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 면역구성 GlcNAc 측쇄가 부재인, 면역원성 조성물.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 10 kDa 내지 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 38

- a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- c. 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역구성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33과 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 41

제1항 또는 제38항에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 42

제1항 또는 제38항에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 43

제1항 또는 제38항에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 32의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 44

제1항 또는 제38항에 있어서, 서열번호 29의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 45

- a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- c. 아르기닌 데이미나제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 47

- a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- c. 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체가 약 10 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 상기 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 상기 대상체에서 쉬겔라 (*Shigella*) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 상기 쉬겔라 세균이 폴리람노스 백분을 갖는 폴리사카라이드를 포함하는, 방법.

청구항 53

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 54

대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

청구항 55

대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

청구항 56

대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 제1항 내지 제49항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

청구항 57

대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 제1항 내지 제82항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

[0001] 본 출원은 2020년 2월 18일자로 출원된 미국 가출원 제62/977,886호; 2020년 4월 22일자로 출원된 미국 가출원 제63/013,924호; 2020년 10월 9일자로 출원된 미국 가출원 제63/090,069호; 및 2020년 10월 9일자로 미국 가출원 제63/123,293호의 우선권을 주장하고, 이의 개시내용은 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다.

[0003]

정부의 권리에 대한 진술

[0004]

[0002] 본 발명은 엔티티를 통한 CARB-X 통과(CARB-X Pass Through Entity) 하에 준비 및 대응 차관보(HHS/ASPR)의 보건 복지부에서 수여한 보조금 번호 93.360, 하위 수상 4500003905 하에 미국 정부의 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명의 특정 권리를 갖는다.

[0005]

전자 제출된 텍스트 파일의 기재

[0006]

[0003] 본 출원과 관련된 서열 목록은 종이 카피 대신 텍스트 포맷으로 제공되고 본 명세서에 참조로 인용된다. 서열 목록을 함유하는 텍스트 파일명은 STRO_011_04WO_ST25.txt이다. 텍스트 파일은 321 Kb이고 2020년 2월 12일자로 생성되었고 EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된다.

배경 기술

[0007]

[0004] 본 발명은 미생물학 및 백신 개발 분야에 관한 것이다.

[0008]

[0005] 그룹 A 스트렙토코커스(*Streptococcus*) (GAS)은 전 세계적으로 매년 7억 건의 인두염('패혈성 인두염(strep throat)') 사례를 유발하고 심각한 침습성 감염, 패혈증, 괴사성 근막염, 중이염 및 독성 쇼크 증후군의 사례를 증가시키는 탁월한 사람 병원체이다. 인두염은 학령기 아동에게 고도로 만연되어 있고 전 세계적으로 항생제 처방의 주요 원인이고; 사람의 미생물상(microflora) 전체에 걸쳐 내성에 대한 선택적 압력을 구동시킨다. GAS는 또한 감염 후 면역 매개된 류마티스 심장 질환(RHD)에 관여하여 개발 도상국에서의 사망률의 주요 원인

이다. 일부 3천만명의 사람들은 현재 RHD에 의해 영향을 받고, 매년 300,000명 이상이 사망(60% < 연령 70)하고 1,150만명의 장애 조정 수명이 손실된다.

발명의 내용

간략한 개요

[0006] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 제1 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원; 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드는 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산 (nnAA)를 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드는 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체이다.

[0007] 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나는 전장 GAS 항원이다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나는 전장 GAS 항원의 펩타이드 단편이다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원은 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 O (SLO), Sib35, 및 Sfb1로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원은 C5a 펩티다제 및 SLO이다.

[0008] 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함한다.

[0009] 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 5 또는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 5 또는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드는 페리틴이다. 일부 구현예에서, 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드는 스트렙토코커스 피로게네스 (*Streptococcus pyogenes*) 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미니제 (ADI), 서열번호 25, 및 단백질 D로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제3 GAS 폴리펩타이드 항원은 SLO이다.

[0011] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 nnAA는 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신 또는 이소류신으로 치환된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 nnAA는 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신, 아르기닌 또는 이소류신으로 치환된다. 일부 구현예에서, nnAA는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함한다. 일부 구현예에서, nnAA는 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산 (pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, nnAA는 pAMF이다.

[0012] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 9와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 폴리펩타이드는 서열번호 9의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 폴리펩타이드는 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 폴리펩타이드는 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서,

SpyAD 폴리펩타이드는 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0017] [0013] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 13 또는 서열번호 15의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 35 또는 서열번호 36의 위치 K15, K193, 및 K316의 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 35 또는 서열번호 36의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0018] [0014] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 페리틴 폴리펩타이드이고, 이는 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 페리틴 폴리펩타이드는 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, 페리틴 폴리펩타이드는 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0019] [0015] 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 폴리람노스 코어를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 5 kDa 내지 약 7 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 사량체, 육량체, 팔량체 또는 십이량체 폴리사카라이드이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 10 kDa 내지 약 40 kDa의 평균 분자량을 갖는다.
- [0020] [0016] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 0 (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 9와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 33과 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 9 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0021] [0017] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 0 (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 아르기닌 테이미나제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] [0018] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 0 (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 페리틴 단백질은 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 페리틴 단백질은 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0023] [0019] 일부 구현예에서, 조성물은 약 10% 내지 약 50%의 제1 GAS 항원, 약 10% 내지 약 50%의 제2 GAS 항원, 및 약 10% 내지 약 50%의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 추가로 알루미늄, 사포닌, 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 이의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 보조제를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 알하이드로겔을 포함한다.
- [0024] [0020] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 면역원성 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하는, 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다.

- [0025] [0021] 일부 구현예에서, 대상체는 18세 이상이다. 일부 구현예에서, 대상체는 18세 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 5세 내지 17세 연령, 6개월 및 9세 연령, 또는 5세 내지 9세 연령이다.
- [0026] [0022] 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 혈청형이다. 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 혈청형이다. 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 혈청형이다. 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형이다. 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 혈청형이다. 일부 구현예에서, GAS 세균은 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형이다.
- [0027] [0023] 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 대상체에서 쉬겔라 (*Shigella*) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 여기서 상기 쉬겔라 세균은 폴리람노스 백분을 갖는 폴리사카라이드를 포함한다.
- [0028] [0024] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 면역원성 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하는, 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다. 일부 구현예에서, 대상체는 18세 이상이다. 일부 구현예에서, 대상체는 18세 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 5세 내지 17세 연령, 6개월 및 9세 연령, 또는 5세 내지 9세 연령이다.

도면의 간단한 설명

- [0029] [0025] 도 1a 및 도 1b는 고유 폴리펩타이드 항원 및 GAS 폴리사카라이드와의 접합체를 제조하기 위해 사용되는 폴리펩타이드 항원을 함유하는 비-천연 아미노산의 발현 수준을 보여준다.
- [0026] 도 2는 채혈 전 대조군과 비교하여 폴리펩타이드 항원- 및 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체-면역화된 혈청 역가를 보여준다.
- [0027] 도 3a, 도 3b, 도 3c, 도 3d, 및 도 3e는 면역 전 혈청 대조군과 비교하여 면역 혈청의 항체 역가 및 IgG 결합 변화를 보여준다.
- [0028] 도 3f는 SpyAD 녹아웃 GAS로의 토끼 IgG 결합을 보여주고, 이는 고유 GAC로의 결합을 확인시켜준다.
- [0029] 도 4는 면역 전 혈청 대조군에 비해 면역 혈청의 증가된 사멸 능력을 보여준다.
- [0030] 도 5a, 도 5b, 도 5c, 도 5d, 도 5e, 및 도 5f는 항체 역가, 병변 크기 및 세균 부하 및 퍼센트 생존물을 포함하는 능동 면역화의 결과를 보여준다.
- [0031] 도 6a 및 도 6b는 IP 켈린지에 적용된 마우스의 수동 면역화 후 퍼센트 생존 데이터를 보여준다.
- [0032] 도 7은 피하(subdermal) 켈린지에 적용된 마우스의 수동 면역화 후 병변 크기 및 세균 부하 데이터를 보여준다.
- [0033] 도 8은 에스. 플렉스네리 (*S. flexneri*) 2a OPS에 대한 면역 혈청의 ELISA 역가 분석을 보여준다.
- [0034] 도 9는 DBCO-PEG₄-NH₂를 사용한 GAC 유도체화 및 pAMF-변형된 SpyAD로의 후속 접합을 위한 일반 반응식을 보여준다.
- [0035] 도 10은 정제된 고유 GAC, 정제된 고유 SpyAD[4pAMF], 및 이의 정제된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 SEC MALS 분석을 보여준다.
- [0036] 도 11은 사람 심장 용해물에 대한 교차 반응성에 대해 항원-특이적 항혈청을 평가하는 웨스턴 블롯 분석을 보여준다.
- [0037] 도 12는 선택된 항원에 대한 단편 서열의 그래프 제공이다.

- [0038] 도 13은 선택된 항원의 비교 발현 데이터를 보여준다.
- [0039] 도 14는 GFP와 비교하여 선택된 단일 및 이중 SLO 돌연변이체의 발현 데이터를 보여준다.
- [0040] 도 15는 비-절단된 SLO 서열과 비교되는 절단된 SLO 서열의 그래프 제공이다.
- [0041] 도 16은 절단된 SLO 변이체에 대한 발현 수준 (전체 및 가용성)을 보여준다.
- [0042] 도 17은 HisTrap 컬럼 크로마토그래피에 의한 포획된 펩타이드 단편의 순도를 보여준다.
- [0043] 도 18은 TEV 절단 및 HisTrap 정제 후 선택된 발현 펩타이드의 순도를 보여준다.
- [0044] 도 19는 크기 배제 크로마토그래피에 의한 발현된 펩타이드의 정제 결과를 보여준다.
- [0045] 도 20은 토끼에서 선택된 SLO 단편의 면역원성의 생체내 평가를 보여준다.
- [0046] 도 21은 OPK 검정에서 GAS를 오프소닌화하기 위한 모의 및 펩타이드 조합-면역화된 마우스로부터의 혈청의 용도를 보여준다.
- [0047] 도 22a, 도 22b, 및 도 22c는 병변 크기 및 GAS 부하 데이터를 포함하는, 모의 또는 펩타이드 조합으로 면역화된 야생형 CD-1 마우스의 피내 챌린지(M1 89155 GAS를 사용한)의 결과를 보여준다.
- [0048] 도 23은 SLO 변이체에 대한 기능적 항체의 존재를 평가하기 위한 적혈구 세포 용혈 검정의 결과를 보여준다.
- [0049] 도 24a, 도 24b, 및 도 24c는 면역화된 토끼로부터의 면역 혈청의 존재 하에 상이한 사람 호중구 혈청형의 GAS의 오프소닌화작용 사멸, 항혈청에 의한 용해의 차단, 및 SLO를 함유하는 GAS 상등액에 노출된 사람 호중구의 산화적 폭발 능력을 보여준다.
- [0050] 도 25a 및 도 25b는 추가적인 GAS 혈청형 표면 항원에 대한 면역 혈청의 차등적 IgG 결합을 보여준다.
- [0051] 도 26은 10 pAMF-함유 SLO 폴리펩타이드 변이체의 발현을 보여준다.
- [0052] 도 27a 및 27b는 2개 단계의 정제 동안에 SLO 변이체에 대한 SDS-PAGE 분석을 보여준다.
- [0053] 도 28은 SLO 변이체의 DBCO-GAC로의 접합을 위한 조건을 보여준다.
- [0054] 도 29는 3- 및 4-pAMF 변이체 SLO 변이체 접합체의 SDS-PAGE 분석을 보여준다.
- [0055] 도 30은 3- 및 4-pAMF 변이체 SLO 변이체 접합체에 대한 SEC-MALS 데이터를 보여준다.
- [0056] 도 31a 및 도 31b는 캐리어 단백질로서 선택된 SLO(Δ C101) 변이체로 제조된 접합체를 사용한 면역화 후 마우스의 항체 역가, 및 동일한 변이체로 제조된 접합체로 백신접종된 마우스로부터 생성된 항-혈청을 사용한 용혈 검정의 결과를 보여준다. 도 31c는 선택된 SLO(Δ C101) 변이체로 제조된 접합체를 사용하고 ELISA에서 코팅 항원으로서 긴 폴리사카라이드를 사용한 면역화 후 마우스의 항체 역가를 보여준다.
- [0057] 도 32는 SpyAD[4pAMF]와 긴 폴리사카라이드의 접합체에 대한 SEC-MALS 데이터를 보여준다.
- [0058] 도 33a 및 도 33b는 3-8 pAMF를 갖는 22 LSO 변이체의 발현 수준 및 정제된 5-8 pAMF 함유 변이체에 대한 상응하는 겔을 보여준다.
- [0059] 도 34는 긴 GAC와 5- 및 6-pAMF 변이체 SLO 접합체의 SDS-PAGE 분석을 보여준다.
- [0060] 도 35는 긴 GAC와 5- 및 6-pAMF 변이체 SLO 접합체에 대한 SEC-MALS 데이터를 보여준다.
- [0061] 도 36a, 도 36b, 및 도 36c는 GlcNAc가 부재인 PS를 발현하는 GAS 세균 균주로부터 기원하는 정제된 폴리사카라이드의 NMR 분석을 보여준다.
- [0062] 도 37은 실시예 19에 기재된 바와 같이 정제된 경우 M-단백질이 폴리사카라이드로부터 제거됨을 입증하는 웨스턴 블롯을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

개요

- [0063] 세계적으로 높은 수요에도 불구하고, GAS에 대한 안전하고 효과적인 상용 백신이 없다. 병원체의 특징은

결합 조직에 편재하는 면역학적으로 불활성인 탄수화물인 히알루론산의 영구 캡슐을 포함하는, 백신 접종에 특별한 과제를 부여한다. 추가로, 면역 우성 표면 고정된 GAS M 단백질은 고도로 다형성이고(>200 emm 유형), 이량체 코일-코일 구조의 영역은 류마티스성 심장 질환(RHD)에서 심장 조직에 대한 자가 면역 반응을 유발할 수 있다. 세계보건기구(WHO), 국제백신연구소(International Vaccine Institute), 웰컴 트러스트(Wellcome Trust), 게이트 재단(Gates Foundation) 등은 최근 GAS 백신 개발에 관한 자문을 소집하여 이러한 중대한 과학적 문제를 해결하고 가장 중요한 전 세계 건강 요구를 충족시켰다.

[0032] **그룹 A 스트렙토코커스**

[0064] 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균은 그람 양성, 베타 용혈성 연쇄상 구균이다. 이는 사람에서 다양한 질환에 관여한다. 이들 질환은 패혈성 인두염(급성 인두염), 중이염, 농가진 및 봉와직염과 같은 피부 및 연조직 감염을 포함한다. 이들은 또한 드문 경우에 괴사성 근막염(육식성 질환) 및 독성 쇼크 증후군(TSS)과 같은 침습성(심각한) 질병을 포함할 수 있다. M 단백질, 용혈소 및 세포외 효소와 같은 여러 독성 인자가 GAS의 발병 기전에 기여한다.

[0065] GAS 백신학은 주로 세포벽 고정된 M 단백질에 중점을 두고 있다. 역사적 연구는 사람 지원자에게 조악한 전체 M 단백질 제제를 투여한 후 인두에서 생 GAS 세균을 철회시키었다. 이들 제제는 GAS 콜로니화를 감소시켰지만, 일부 면역화된 대상체에서 급성 류마티스 열(ARF)의 발병률 증가가 보고되었다. 2개의 N-말단 M 단백질 백신 제제는 현재 사람 임상 시험에 도달하였다: 6가 제제 (문헌참조: Dale JB, 1999. Vaccine, 17:193-200; Kotloff et al, 2004. JAMA 292:709-715; Hall et al., 2004. Infect. Immun. 72:2507-2512) 및 26가 제제 (문헌참조: Hu et al., 2002. Infect. Immun. 70:2171-2177; McNeil et al., 2005. Clin. Infect. Dis. 41:1114-1122). 이들 제제는 성인 지원자에서 매우 관용성이었다. 보다 최근에는 30개의 GAS 혈청형을 나타내는 N-말단 펩타이드를 포함하는 유사한 다가 백신이 개발되었다(문헌참조: Dale et al., 2011. Vaccine 29:8175-8178.). 상기 실험적 백신에 대해 생성된 혈청은 모든 30개 백신 혈청형과 24개(시험된 40개 중) 비백신 혈청형에 대해 살균 활성을 나타냈다. 이러한 제제는 선택된 비백신 혈청형에 대해 보호하는 능력이 있는 것으로 나타났다지만 전 세계적으로 순환하는 모든 혈청형에 대해 보호하지는 않는다(문헌참조: Abdissa et al., 2006. Clin. Infect. Dis. 42:1362-1367; Ikebe et al., Working Group for Beta-Haemolytic Streptococci in Japan, 2007. 2001-2005. Epidemiol. Infect. 135:1227-1229; Nir-Paz et al., 2010. Epidemiol. Infect. 138:53-60; Steer et al., 2009. Lancet Infect. Dis. 9:611-616; O' Loughlin et al., 2007. Clin. Infect. Dis. 45:853-862). 포함된 30개 항혈청은 북아메리카 및 유럽에서 만연된 것들을 기반으로 하고(문헌참조: Dale JB et al., 2011. Vaccine 29:8175-8178.), 이들은 흔히 풍토병 지역에서 단리된 다양한 혈청형과 상이하다. 백신으로서 GAS 단백질 및 단백질-GAC 접합체의 용도가 최근에 보고되었지만(문헌참조: Di Benedetto, R. et al., 2020. J. Mol. Sci. no 22: 8558), 이들은 캐리어 단백질 및 PS 백본 상에 B/T-세포 에피토프 둘다를 파괴할 수 있는 비-특이적 접합 방법을 사용한다. 추가로, 이들 접합체는 또한 잠재적으로 교차-반응성인 GlcNAc 면역 우성 에피토프를 보유하는, 고유 GAC로 제조되었다.

[0066] 따라서, 당업계에서는 GAS에 대해 개선된 백신이 요구된다.

[0036] **조합 백신**

[0067] 일부 구현예에서, 본원 개시내용은 2개 이상의 GAS 폴리펩타이드 항원 및 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 명백히 하기 위해, 본원에 기재된 조성물에서 각각의 폴리펩타이드는 상이하다. 예를 들어, 제1, 제2 및 제3 폴리펩타이드 항원 또는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 조성물에서, 제1, 제2 및 제3 폴리펩타이드는 상이한 서열을 갖는다.

[0038] **GAS 항원**

[0068] 일부 구현예에서, 본원 개시내용의 면역원성 조성물은 2개 이상의 GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원은 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 O (SLO), 스트렙토코커스 면역글로불린-결합 단백질 35 (Sib35), 및 피브로넥틴 결합 단백질 F1 (Sfb1)로부터 선택된다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원은 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 O (SLO), 스트렙토코커스 면역글로불린-결합 단백질 35 (Sib35), 피브로넥틴 결합 단백질 F1 (Sfb1), 및 접착 및 분열 폴리펩타이드(SpyAD)로부터 선택된다. 이들 GAS 항원 각각에 대한 UniProt 참조 확인자는 하기 표 1에 제공된다.

[0040] [표 1]

예시적인 GAS 항원에 대한 UniProt 참조

항원	UniProt Ref
C5a	P15926
SLO	P0C0I3
Sib35	Q1XG74
Sfb1	Q48VN7

[0041]

[0042]

[0069] 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원은 전장 폴리펩타이드 항원 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원은 전장 폴리펩타이드 항원 서열의 단편을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함하고, 여기서 C5a 폴리펩타이드는 전장 C5a 폴리펩타이드의 단편이다. 일부 구현예에서, C5a 단편은 전장 단백질의 아미노산 90-1035을 포함한다(예를 들어, 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 29, 또는 서열번호 30을 포함한다). 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함하고, 여기서 SLO 폴리펩타이드는 전장 SLO 폴리펩타이드의 단편이다. 일부 구현예에서, SLO 단편은 전장 단백질의 아미노산 79-571을 포함한다(예를 들어, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 31, 또는 서열번호 32를 포함한다).

[0043]

[0070] 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원은 야생형 아미노산 서열에서 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함하고, 여기서 C5a 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 돌연변이는 D131A 및 S513A (예를 들어, 서열번호 3, 서열번호 4, 또는 서열번호 30)이다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함하고, 여기서 SLO 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 돌연변이는 W535A(예를 들어, 서열번호 7, 서열번호 8, 또는 서열번호 32)이다.

[0044]

[0071] 예시적인 GAS 항원의 아미노산 서열은 하기 표 2에 제공된다. 돌연변이된 아미노산은 굵은 텍스트로 나타낸다. 일부 구현예에서, 밑줄치고 이탤릭체 아미노산은 성숙한 GAS 항원으로부터 절단된다.

[0045] [표 2]

예시적인 GAS 항원

항원	아미노산 서열	서열번호
SLO [79-571 단편] WT w/ His 태그 및 TEV 서열	<u>MHHHHH</u> SGENLYFQGAPKEMPLESAEKEKKSEDKKKSEEDHTEEINDK IYSLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDI SIDSVDRTYPAALQLANKGFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKAT VEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEA ALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVF DKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFS ALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLGGDAAEHNKVTKDFDVI RNVIKD NATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSKINLSH QGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSFSTVIPLGANS RNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK	5
SLO [79-571 단편] W535A w/ 리더	<u>MHHHHH</u> SGENLYFQGAPKEMPLESAEKEKKSEDKKKSEEDHTEEINDK IYSLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDI SIDSVDRTYPAALQLANKGFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKAT VEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEA ALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEKKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVF DKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFS ALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLGGDAAEHNKVTKDFDVI RNVIKD NATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSKINLSH QGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSFSTVIPLGANS RNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK	7
SLO(ΔC101) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNG ETIENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQ LANKGFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAID NLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGID FKSISKGEKKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSALKGTDVKTNGKYSID LENSSTAVVLGGDAAEHNKVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYT SVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSKINLSHQ	53
C5a [90-1035 단편] WT w/ 리더	<u>MHHHHH</u> SGENLYFQGTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAG TVVAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDK VAYYHDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLL LMRVEIVNGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMMSGNAALAYANLPDETK KAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVGTPAAADSTLT VASYSDPKQLTETATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKE DDFKDVKGKIALIERGDI DFKDKIANAKKAGAVGVL IYDNQDKGFP IELPN VDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTI TFNATPKVLP TASGTKLSRFSSWGLT	1

[0046]

항원	아미노산 서열	서열번호
	ADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSMASPLVAGIMGLLQKQYET QYPDMTPSERLDLAKKVLMSATYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASA ATMYVTDKNTSSKVLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKV DGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTPIDASRFSKDLAQMKNKY FLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHE ANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIES SEITETIFAGTFAKQDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFGT FLRNAKNLVAEVLKKEGNVVTSEVTEQVVKVNNNDLASTLGSTRFEKTRW DGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDIVDNTTPEVATSAT FSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAITYMDEDLPTTEYISPNEGDTFTLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK	
C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/ 리더	<i>MHHHHHSGENLYFQG</i> KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLEKAGKGAG TVVAVIAAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGIYGEWVNDK VAYYHDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLL LMRVEIVNGLADYARNYAQIRDAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDET KAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVTGTPAAADSTLT VASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDIYANRGMKE DDFKDVKGKIALIERGIDFKDKIANAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPN VDQMPAAFI SRKGLLLKDNPKKTI TFNATPKVLPTASGTKLSRFSWGLT ADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSMASPLVAGIMGLLQKQYET QYPDMTPSERLDLAKKVLMSATYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASA ATMYVTDKNTSSKVLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKV DGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTPIDASRFSKDLAQMKNKY FLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHE ANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIES SEITETIFAGTFAKQDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDYVQFGT FLRNAKNLVAEVLKKEGNVVTSEVTEQVVKVNNNDLASTLGSTRFEKTRW DGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDIVDNTTPEVATSAT FSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAITYMDEDLPTTEYISPNEGDTFTLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK	3

[0047]

[0048]

[0072] 상기 표 2 및 본원 개시내용의 다른 곳의 잔기 위치는 aa에 의해 변형된 (예를 들어, 특정 라이신 잔기의 pAMF 대체) 단편 및/또는 라이신 잔기를 동정하기 위한 전장 서열에서 잔기 위치에 따른 잔기 넘버링(예를 들어, UniProt 서열 데이터베이스를 참조로 표 1 및 3에서 동정된 바와 같이)을 지칭한다.

[0049]

[0073] 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나와 적어도 95%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 29-30 중 어느 하나와 적어도 95%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 29-30 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 5-8 중 어느 하나와 적어도 95%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53 중 어느 하나와 적어도 95%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 5-8 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 10 또는 33과 적어도 95%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SpyAD GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 서열번호 10 또는 33의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SpyAD GAS 폴리펩타이드 항원을 포함한다.

[0050]

폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체

[0051]

[0074] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함한다. 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 접합체 폴리펩타이드 (또한 캐리어 단백질로서 지칭되는)

및 하나 이상의 아미노산 위치에서 상기 접합체 폴리펩타이드에 접합된 폴리사카라이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD, ADI, 서열번호 25, 페리틴, 및 단백질 D로부터 선택된다. 예시적인 접합체 폴리펩타이드에 대한 UniProt 참조 확인자는 하기 표 3에 제공된다.

[표 3]

예시적인 접합체 폴리펩타이드에 대한 UniProt 및 CAS 참조

항원	UniProt (또는 CAS) Ref
SpyAD	Q9A1H3
ADI	P0C0B3
단백질 D	R4R7Q5
페리틴	P02792
CRM197	(CAS: 1272033-67-6)

[0075] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 전장 폴리펩타이드 항원 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 전장 폴리펩타이드 서열의 단편을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고, 여기서 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고, 전장 SpyAD 폴리펩타이드의 단편 (예를 들어, 서열번호 9 또는 서열번호 10)이다. 일부 구현예에서, SpyAD 단편은 전장 단백질의 아미노산 33-849를 포함한다(예를 들어, 서열번호 9 또는 서열번호 10을 포함한다). 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고, 여기서 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고, 전장 ADI 폴리펩타이드의 단편 (예를 들어, 서열번호 13 또는 서열번호 14)이다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고, 여기서 접합체 폴리펩타이드는 페리틴이고, 전장 페리틴 폴리펩타이드의 단편 (예를 들어, 서열번호 21 또는 서열번호 22)이다.

[0076] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 야생형 아미노산 서열에서 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고, 여기서 SpyAD 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고, 여기서 ADI 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 돌연변이는 D277A (예를 들어, 서열번호 15 또는 서열번호 16)이다.

[0077] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 하나 이상의 비-천연 아미노산(nnAA)을 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 nnAA는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함한다. 본원에서, “클릭 화학 반응성 그룹”은 제2 클릭 화학 반응성 그룹과 클릭 화학 반응을 진행할 수 있는 모이어티, 예를 들어, 아지드 또는 알킨을 지칭한다. 일부 구현예에서, 하나의 클릭 화학 반응성 그룹은 제2 클릭 화학 반응성 그룹과 반응하여 치환된 트리아졸을 형성한다. 상기 유형의 클릭 반응의 예는 예를 들어, 국제 PCT 공개 공보 번호 WO 2018/126229에서 발견될 수 있다. 생의학적 적용에 사용되는 금속 부재 클릭 반응의 일반적인 예는 예를 들어, 문헌(참조: Kim, *et al.*, *Chemical Science*, 2019, 10, 7835-7851)에서 찾을 수 있다. 클릭 화학 반응 그룹을 포함하는 nnAA의 예는 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산 (pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 하나 이상의 nnAA를 포함하고, 여기서 nnAA 각각은 pAMF이다.

[0078] 예시적인 접합체 폴리펩타이드의 아미노산 서열은 하기 표 4에 제공된다. nnAA로의 치환을 위해 적합한 부위는 굵고 밑줄친 텍스트로 나타낸다. 일부 구현예에서, 밑줄치고 이탤릭체 아미노산은 생성 동안에 성숙한 단백질로부터 절단된다.

[0058]

[표 4]

예시적인 캐리어 단백질

단백질	아미노산 서열	서열번호
ADI [전장] WT w/ 리더	<u>MHHHHHHGSGENLYFQ</u> CTAQTPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIE NLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLV TPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKS ELPEIPASEKGLTDLVESNYPPAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFS ETRNRETLYGKYIFTHHPYGGGKVPVMYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLA VGISQRTDAASIEKLLVNIQKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLDTVFTMVD YDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGDLAELLAANLGVKVDLI RCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLK IHGSELVRGGGPRCMSMPFEREDI	13
ADI [전장] D277A w/ 리더	<u>MHHHHHHGSGENLYFQ</u> CTAQTPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIE NLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLV TPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKS ELPEIPASEKGLTDLVESNYPPAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFS ETRNRETLYGKYIFTHHPYGGGKVPVMYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLA VGISQRTDAASIEKLLVNIQKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLDTVFTMVD YDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGDLAELLAANLGVKVDLI RCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLK IHGSELVRGGGPRCMSMPFEREDI	15
SpyAD [33-849 단편] WT w/ 리더	<u>MHHHHHHGSGENLYFQ</u> QVKADDRASGETKASNTHTDLSLKPETI QEAKATIDAVEKTLQQKAELELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTS AQEIYNTLASSEETLLAQGAHQRELATETELHNAQADQHSKETALSEQ KASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKA LSSELEKAKADLENQKAKVKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRKSSAPST QDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKLEASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKAS PGNQLNQYQDIPADNRNFVDPDNLTPVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPP VTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGGPGVSGHYGVGPHDKTII DSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFDHLHGN TYGHAINFLRVDKHNPAPVYLGFTSNVGSLEHFMFPESNIAHQRFN KTPIKAVGSKDYAQRVGTVSDTIAAIKGVSSLENRLSAIHQEADIMAAQ AKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEAT RDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRFKLNPNR LQVIRERIDNTKQLAKTTSSLLNAQEALAAQAKQSSLEATIATTHEQLT LLKTLANEKEYRHLEDEDIATVPDLQVAPPLTGKPLSYSKIDTTPLVQEMV KETKQLLEASARLAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPS KTSYSGSGSSTSNLISDVDESTQR	9
hFL	<u>MHHHHHHGSGSSQ</u> IRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGF	21

[0059]

단백질	아미노산 서열	서열번호
[전장] WT w/ 리더	YFDRDDVALEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAE DEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDDE VKLIKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD	
eCRM-pAMF6 돌연변이체	MGADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTKPGYVDSIQXGIIQPKSGTQG NYDDDWKEFYSTDNKNYDAAGYSVDNENPLSGKAGGVVKVTPGLTKVLALK VDNAETIKKELGLSLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSS VEYINNWEQAKALSVELEINFETRGRGQDAMYEMAQACAGNRVRNSVGS SLSCINLDWDVIRDXTTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEKAXQYLE EFHQTALEHPELSELXTVTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEK TTAALSILPGIGSVMGIADGAVHHNTEEIVAQSIASSLMVAQAIPLVGEL VDIGFAAYNFVESIINLFQVVHNSYNRPAYSPGHXTQPFLLHDGYAVSWNTV EDSIIRTFGQGESGHDIKITAENTPLPIAGVLLPTIPGKLDVNSKTHISV NGRKIRMRCAIDGDVTFCRPKSPVYVGVNLANLHVAFHRSSSEKIHSSNE ISSDSIGVLGYQKTVDHKVNLSLFFEEKS	25

[0060]

[0061]

[0079] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고, 서열번호 9의 위치 K64, K287, K396, 및 K657에서 치환된 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고, 서열번호 33의 위치 K64, K287, K396, 및 K657에서 치환된 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고 서열번호 11 또는 서열번호 12와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또

는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고 서열번호 34와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고 서열번호 11 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0062] [0080] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고, 서열번호 13의 위치 K15, K193, 및 K316에서 치환된 3개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고, 서열번호 35의 위치 K15, K193, 및 K316에서 치환된 3개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 3개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고 서열번호 17, 18, 19 또는 20 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 3개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SpyAD이고 서열번호 26, 27, 37 또는 38 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고 서열번호 17, 18, 19 또는 20 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고 서열번호 26, 27, 37 또는 38 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0063] [0081] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO(Δ C101)이고 서열번호 53의 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464로부터 선택되는 위치에서 치환된 3개 또는 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO(Δ C101)이고 위치 K98, R151, K272, 및 K357; 위치 K112, K189, K323, 및 K375; 위치 R151, K272, K357, 및 K407; 위치 R151, K272, K375, 및 K464; 위치 K112, K272, K357, 및 K464; 위치 K98, K189, 및 K357; 위치 K112, K189, 및 K323; 위치 K98, R151, 및 K272; 위치 K112, K272, 및 K375; 또는 위치 K112, K323, 및 K407에서 치환된 nnAA를 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 3개 또는 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 또는 64 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 또는 64 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0064] [0082] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO(Δ C101)이고 서열번호 53의 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464로부터 선택되는 위치에서 치환된 5개, 6개, 7개 또는 8개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO(Δ C101)이고 위치 K98, R151, K272, K357, 및 K407; 위치 K112, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K112, R151, K272, K357, 및 K407; 위치 K98, R151, K272, K357, K407, 및 K464; 위치 K112, R151, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K98, K112, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K112, R151, K189, K272, K357, K407, 및 K464; 위치 K98, R151, K189, K323, K375, K407, 및 K464; 위치 K112, K189, K272, K357, K375, K407, 및 K464; 위치 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, 및 K375; 위치 K98, R151, K189, K272, K323, K357, K407, 및 K464; 또는 위치 K112, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464에서 치환된 nnAA를 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 5개, 6개, 7개 또는 8개 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75 또는 76 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75 또는 76 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0065] [0083] 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 페리틴이고, 서열번호 21의 위치 I5에서 치환된 1개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, nnAA는 pAMF이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 페리틴이고 서열번호 23 또는 서열번호 24와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 ADI이고 서열번호 23 또는 서열번호 24를 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0066] 폴리사카라이드

[0067] [0084] 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 GAS 폴리사카라이드, 예를 들어, 그룹 A 탄수화물(GAC)이다. GAC는 면역우성 GlcNAc 측쇄를 갖는 폴리람노스 백본으로 구성되고 M형과는 상관 없이 모든 GAS 혈청형의 균주

의 표면에 존재하고 GAS 백신 후보물로서 조사되었다. 접합체 폴리사카라이드는 접합체의 폴리사카라이드 성분으로서 정의될 수 있다. 친화성-정제된 항-GAC 항체는 3개의 시험된 GAS 혈청형을 성공적으로 흡소닌화하였고(문헌참조: Salvadori et al., 1995. J. Infect. Dis. 171:593-600.), GAC로 면역화된 마우스는 복막내 및 비강내 GAS 켈렌지 둘다에 대해 보호되었다(문헌참조: Sabharwal et al., 2006. J. Infect. Dis. 193:129-135). 그러나, 항-GAC 항체와 숙주 심장 밸브 단백질(문헌참조: Goldstein et al., 1967. Nature 213:44-47) 및 세포골격 단백질, 예를 들어, 액틴, 케라틴, 미오신, 및 비멘틴 간의 면역학적 교차-반응성은 GAS 백신 성분으로서 GAC의 사용에 관해 중요한 잠재적 안전성 문제를 유발한다.

[0068] [0085] 일부 구현예에서, 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 세균 세포를 가공하여 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 없는 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 생성할 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 없는 GAC의 변이체이다(문헌참조: 예를 들어, 국제 PCT 공개 공보 WO 2013/020090 미국 특허 제10,780,155호, 및 Gao, N. J. et al., December 29, 2020. Infectious Microbes and Diseases, doi: 10.1097/IM9.0000000000000044). 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 폴리람노스 코어를 포함하는 GAC이다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 3kDa 내지 약 10kDa, 약 5kDa 내지 약 10kDa, 약 9kDa 내지 약 10kDa, 약 9kDa 내지 약 10kDa, 약 3kDa 내지 약 9kDa, 약 3kDa 내지 약 7kDa, 약 3kDa 내지 약 5kDa, 약 5kDa 내지 약 9kDa, 또는 약 5kDa 내지 약 7kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 3kDa, 4kDa, 5kDa, 6kDa, 7kDa, 8kDa, 9kDa, 또는 약 10kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 사량체, 오량체, 육량체, 칠량체, 팔량체, 구량체 또는 십이량체 폴리사카라이드이다.

[0069] [0086] 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 10 kDa 내지 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 10 kDa 내지 약 15 kDa, 약 15 kDa 내지 약 20 kDa, 약 20 kDa 내지 약 25 kDa, 약 25 kDa 내지 약 30 kDa, 약 30 kDa 내지 약 35 kDa, 또는 약 35 kDa 내지 약 40 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 15 kDa 내지 약 40 kDa, 약 15 kDa 내지 약 35 kDa, 약 15 kDa 내지 약 30 kDa, 약 15 kDa 내지 약 25 kDa, 또는 약 15 kDa 내지 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 20 kDa 내지 약 40 kDa, 약 20 kDa 내지 약 35 kDa, 약 20 kDa 내지 약 30 kDa, 또는 약 20 kDa 내지 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 약 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kD 또는 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 적어도 약 10 kDa, 15 kDa, 20 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 또는 약 35 kDa의 평균 분자량을 갖는다.

[0070] [0087] 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 GAS 세균 배양물 또는 세균 스톱으로부터 정제한다. 상기 정제 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, WO 2010/049806, 국제 PCT 공개 공보 WO 2013/020090, 및 van Sorge, et al., *Cell Host Microbe.*, 2014, 15(6), 729-740을 참조한다. 또한 실시예 1을 참조한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 합성된 폴리사카라이드이다. 폴리사카라이드 합성 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌(Zhao, et al., *Org. Chem. Front.*, 2019, 6, 3589-3596)을 참조한다. 또한 실시예 3을 참조한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 클릭 화학 반응성 그룹으로 변형시켜 접합체 단백질로의 접합을 촉진시킨다. 클릭 화학 반응성 그룹의 예는 예를 들어, 이의 전문이 본원에 참조로 인용된 국제 PCT 공개 공보 WO 2018/126229에서 찾을 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 DBCO 또는 DBCO-PEG (예를 들어, DBCO-PEG-NH₂)로 변형시킨다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리사카라이드는 DBCO-(PEG)₄-NH₂로 변형시킨다.

[0071] [0088] 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 50 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 100 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 200 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 500 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 10 kDa 내지 약 1000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 100 kDa 내지 약 200 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 100 kDa 내지 약 300 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 100 kDa 내지 약 400 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 100 kDa 내지 약 500 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 100 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다.

을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 500 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 1000 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 2000 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 3000 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 4000 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 1000 kDa 내지 약 3000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 1000 kDa 내지 약 2000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 2000 kDa 내지 약 3000 kDa의 평균 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 5000 kDa 이상의 평균 분자량을 갖는다.

[0072] 예시적인 조합 백신

[0089] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 GAS C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 9 또는 서열번호 10과 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 11 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 33과 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 11 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0090] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 GAS C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 32와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 44와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 45와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 46과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 47과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 48과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 49과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 50과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 51과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 52과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0091] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 GAS C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고; SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52,

또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고; SpyAD 접합체 단백질은 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고; SLO 폴리펩타이드 항원은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고; SpyAD 접합체 단백질은 서열번호 33의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어지고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함한다. 일부 구현예에서, SpyAD 단백질은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0076] [0092] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 32의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 29의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 CAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 CAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 서열번호 29의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 CAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다.

[0077] [0093] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS SLO 폴리펩타이드 항원; 및 ADI 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 13-16 중 어느 하나와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 17-20 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 35-36 중 어느 하나와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 37-38 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 17-20 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 35-36 중 어느 하나와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, ADI 폴리펩타이드는 서열번호 37-38 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0078] [0094] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS SLO 폴리펩타이드 항원; 및

페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물을 제공한다. 일부 구현예에서, 페리틴 폴리펩타이드는 서열번호 21 또는 서열번호 22와 적어도 95% 동일하고 위치 15에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 페리틴 폴리펩타이드는 서열번호 23 또는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 페리틴 폴리펩타이드는 서열번호 23 또는 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0079] **치료학적 방법**

[0080] [0095] 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 본원에 기재된 면역원성 조성물을 상기 대상체에게 투여함을 포함하는, 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다. 일부 구현예에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다.

[0081] [0096] 본원에서, 용어 “대상체”는 포유류를 지칭한다. 일부 구현예에서, 대상체는 마우스, 래트, 개, 기니아 피그, 양, 비-사람 영장류 또는 사람이다. 일부 구현예에서, 대상체는 사람이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 18세 연령 이상이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 18세 미만의 연령이다.

[0082] [0097] 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월 연령 내지 17세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월 연령 내지 9세 연령, 6개월 연령 내지 8세 연령, 6개월 연령 내지 7세 연령, 6개월 연령 내지 6세 연령, 6개월 연령 내지 5세 연령, 6개월 연령 내지 4세 연령, 6개월 연령 내지 3세 연령, 6개월 연령 내지 2세 연령 및 6개월 연령 내지 1세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 5세 연령 내지 17세 연령, 7세 연령 내지 17세 연령, 9세 연령 내지 17세 연령, 11세 연령 내지 17세 연령, 13세 연령 내지 17세 연령 또는 15세 연령 내지 17세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월, 1세, 2세, 3세, 4세, 5세, 6세, 7세, 8세, 9세, 10세, 11세, 12세, 13세, 14세, 15세, 16세, 17세 또는 18세 연령이다.

[0083] [0098] 본원에서, 용어 “보호 면역 반응”은 대상체에서 항-GAS 항체 반응을 유발함을 포함한다. 본원에 기재된 면역원성 조성물의 투여 후 생성된 항체 역가는 당업계에서 공지된 수단에 의해, 예를 들어, 면역화된 대상체로부터 유래된 혈청 샘플의 ELISA 검정에 의해 결정될 수 있다(실시예 6 참조). 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 다수(즉, 2개 이상)의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 사람 단백질 또는 조직에 대해 항체 반응을 유발하지 않는다.

[0084] [0099] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0085] [0100] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0086] [0101] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0087] [0102] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서

생성된 항체는 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0088] [0103] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0089] [0104] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0090] [0105] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0091] [0106] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 하나 이상의 쉬겔라 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 하나 이상의 GAS 혈청형에 결합하고 또한 하나 이상의 쉬겔라 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 쉬겔라 혈청형은 폴리람노스 백분을 포함하는 폴리사카라이드를 포함한다. 상기 폴리사카라이드를 포함하는 예시적인 쉬겔라 혈청형은 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*), 예를 들어, 에스. 플렉스네리 2A 및 3A 및 에스. 플렉스네리 6을 포함한다.

[0092] 추가의 넘버링된 구현예

[0093] [0107] 본원 개시내용의 추가의 구현예는 하기 넘버링된 구현예에서 제공된다:

[0094] [0108] 구현예 1: 제1 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원; 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산을 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드는 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체인, 면역원성 조성물.

[0095] [0109] 구현예 2: 구현예 1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원인, 면역원성 조성물.

[0096] [0110] 구현예 3: 구현예 1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원의 펩타이드 단편인, 면역원성 조성물.

[0097] [0111] 구현예 4: 구현예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, 및 Sfb1으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

[0098] [0112] 구현예 5: 구현예 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO인, 면역원성 조성물.

[0099] [0113] 구현예 6: 구현예 5에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0100] [0114] 구현예 7: 구현예 5에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0101] [0115] 구현예 8: 구현예 5에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7과 적어도 95%

동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0102] [0116] 구현예 9: 구현예 5에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0103] [0117] 구현예 10: 구현예 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 비-CAS 캐리어 폴리펩타이드가 페리틴인, 면역원성 조성물.
- [0104] [0118] 구현예 11: 구현예 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), eCRM, 및 단백질 D로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0105] [0119] 구현예 12: 구현예 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 상기 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신 또는 이소 류신으로 치환되는, 면역원성 조성물.
- [0106] [0120] 구현예 13: 구현예 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0107] [0121] 구현예 14: 구현예 13에 있어서, 상기 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산 (4-아지도페닐)프로판산 (pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0108] [0122] 구현예 15: 구현예 13에 있어서, 상기 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.
- [0109] [0123] 구현예 16: 구현예 12 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 9와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0110] [0124] 구현예 17: 구현예 16에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0111] [0125] 구현예 18: 구현예 17에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0112] [0126] 구현예 19: 구현예 12 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0113] [0127] 구현예 20: 구현예 19에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0114] [0128] 구현예 21: 구현예 20에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0115] [0129] 구현예 22: 구현예 12 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0116] [0130] 구현예 23: 구현예 22에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0117] [0131] 구현예 24: 구현예 23에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0118] [0132] 구현예 25: 구현예 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 폴리람노스 코어를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0119] [0133] 구현예 26: 구현예 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 5KDa 내지 약 7 Kda의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0120] [0134] 구현예 27: 구현예 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 사랑채, 육량체,,

팔량체 또는 십이량체 폴리사카라이드인, 면역원성 조성물.

- [0121] [0135] 구현예 28: 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0122] [0136] 구현예 29: 구현예 28에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0123] [0137] 구현예 30: 구현예 28에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0124] [0138] 구현예 31: 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 아르기닌 데이미니제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0125] [0139] 구현예 32: 구현예 31에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0126] [0140] 구현예 33: 구현예 31에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0127] [0141] 구현예 34: 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0128] [0142] 구현예 35: 구현예 34에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21와 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0129] [0143] 구현예 35A: 구현예 34에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0130] [0144] 구현예 36: 구현예 1 내지 35 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 약 10% 내지 약 50%의 제1 GAS 항원, 약 10% 내지 약 50%의 제2 GAS 항원, 및 약 10% 내지 약 50%의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0131] [0145] 구현예 37: 구현예 1 내지 36 중 어느 하나에 있어서, 알룸, 사포닌, 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 이의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0132] [0146] 구현예 38: 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0133] [0147] 구현예 38A: 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한, 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0134] [0148] 구현예 38B: 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0135] [0149] 구현예 39: 대상체가 18세 이상인, 구현예 38 내지 38B 중 어느 하나의 방법.
- [0136] [0150] 구현예 40: 대상체가 18세 미만인, 구현예 38 내지 38B 중 어느 하나의 방법.
- [0137] [0151] 구현예 41: 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 구현예 38-38B 중 어느 하나의 방법.
- [0138] [0152] 구현예 42: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에서, GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0139] [0153] 구현예 43: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M3, M5, M9, M12, M18,

M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 혈청형인, 방법.

- [0140] [0154] 구현예 44: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0141] [0155] 구현예 45: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0142] [0156] 구현예 46: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0143] [0157] 구현예 47: 구현예 38 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0144] [0158] 구현예 48: 구현예 38 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.
- [0145] [0159] 구현예 49: 구현예 38 내지 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 쉬겔라 (*Shigella*) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 상기 쉬겔라 세균이 폴리람노스 백본을 갖는 폴리사카라이드를 포함하는, 방법.
- [0146] [0160] 구현예 50: 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0147] [0161] 구현예 51: 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0148] [0162] 구현예 52: 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 1 내지 37 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0149] [0163] 구현예 53: 구현예 50 내지 52 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법 또는 용도.
- [0150] [0164] 구현예 54: 구현예 53에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법 또는 용도.
- [0151] [0165] 구현예 55: 구현예 54에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법 또는 용도.
- [0152] [0166] 구현예 II-1. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0153] a. 제1 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원;
- [0154] b. 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및
- [0155] c. 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산을 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체인, 면역원성 조성물.
- [0156] [0167] 구현예 II-2. 구현예 II-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원인, 면역원성 조성물.
- [0157] [0168] 구현예 II-3. 구현예 II-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원의 펩타이드 단편인, 면역원성 조성물.
- [0158] [0169] 구현예 II-4. 구현예 II-1 내지 II-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, 및 Sfb1으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0159] [0170] 구현예 II-5. 구현예 II-1 내지 II-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO인, 면역원성 조성물.
- [0160] [0171] 구현예 II-6. 구현예 II-5에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0161] [0172] 구현예 II-7. 구현예 II-5에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0162] [0173] 구현예 II-8. 구현예 II-1 내지 II-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0163] [0174] 구현예 II-9. 구현예 II-5에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0164] [0175] 구현예 II-10. 구현예 II-1 내지 II-6 또는 II-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0165] [0176] 구현예 II-11. 구현예 II-5에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0166] [0177] 구현예 II-12. 구현예 II-1 내지 II-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0167] [0178] 구현예 II-13. 구현예 II-1 내지 II-12 중 어느 하나에 있어서, 상기 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드가 페리틴인, 면역원성 조성물.
- [0168] [0179] 구현예 II-14. 구현예 II-1 내지 II-13 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), eCRM, 및 단백질 D로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0169] [0180] 구현예 II-15. 구현예 II-1 내지 II-14 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 상기 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신 또는 이소 류신으로 치환되는, 면역원성 조성물.
- [0170] [0181] 구현예 II-16. 구현예 II-1 내지 II-14 중 어느 하나에 있어서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0171] [0182] 구현예 II-17. 구현예 II-16에 있어서, 상기 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0172] [0183] 구현예 II-18. 구현예 II-16에 있어서, 상기 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.
- [0173] [0184] 구현예 II-19. 구현예 II-15 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 9와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0174] [0185] 구현예 II-20. 구현예 II-19에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0175] [0186] 구현예 II-21. 구현예 II-20에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0176] [0187] 구현예 II-22. 구현예 II-15 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0177] [0188] 구현예 II-23. 구현예 II-22에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0178] [0189] 구현예 II-24. 구현예 II-23에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0179] [0190] 구현예 II-25. 구현예 II-15 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0180] [0191] 구현예 II-26. 구현예 II-25에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0181] [0192] 구현예 II-27. 구현예 II-26에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0182] [0193] 구현예 II-28. 구현예 II-15 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0183] [0194] 구현예 II-29. 구현예 II-28에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0184] [0195] 구현예 II-30. 구현예 II-29에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0185] [0196] 구현예 II-31. 구현예 II-15 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0186] [0197] 구현예 II-32. 구현예 II-31에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0187] [0198] 구현예 II-33. 구현예 II-32에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0188] [0199] 구현예 II-34. 구현예 II-1 내지 II-33 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 폴리람노스 코어를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0189] [0200] 구현예 II-35. 구현예 II-1 내지 II-33 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 5 KDa 내지 약 7 KDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0190] [0201] 구현예 II-36. 구현예 II-1 내지 II-35 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 사량체, 육량체, 팔량체 또는 십이량체 폴리사카라이드인, 면역원성 조성물.
- [0191] [0202] 구현예 II-37. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0192] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0193] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0194] c. 스트렙토코커스 피오게네스 집착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0195] [0203] 구현예 II-38. 구현예 II-37에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0196] [0204] 구현예 II-39. 구현예 II-37에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0197] [0205] 구현예 II-40. 구현예 II-37에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0198] [0206] 구현예 II-41. 구현예 II-37에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0199] [0207] 구현예 II-42. 구현예 II-41에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0200] [0208] 구현예 II-43. 구현예 II-1 또는 II-37에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0201] [0209] 구현예 II-44. 구현예 II-1 또는 II-37에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0202] [0210] 구현예 II-45. 구현예 II-1 또는 II-37에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 32의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0203] [0211] 구현예 II-46. 구현예 II-1 또는 II-37에 있어서, 서열번호 29의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0204] [0212] 구현예 II-47. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0205] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0206] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0207] c. 아르기닌 데이미나제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0208] [0213] 구현예 II-48. 구현예 II-47에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0209] [0214] 구현예 II-49. 구현예 II-47에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0210] [0215] 구현예 II-50. 구현예 II-47 내지 II-48에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0211] [0216] 구현예 II-51. 구현예 II-47 내지 II-48에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0212] [0217] 구현예 II-52. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0213] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0214] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0215] c. 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0216] [0218] 구현예 II-53. 구현예 II-52에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0217] [0219] 구현예 II-54. 구현예 II-52에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0218] [0220] 구현예 II-55. 구현예 II-1 내지 II-54 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 약 10% 내지 약 50%의 제1 GAS 항원, 약 10% 내지 약 50%의 제2 GAS 항원, 및 약 10% 내지 약 50%의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접

합체를 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0219] [0221] 구현예 II-56. 구현예 II-1 내지 II-55 중 어느 하나에 있어서, 알룸, 사포닌, 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 이의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0220] [0222] 구현예 II-57. 구현예 II-1 내지 II-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0221] [0223] 구현예 II-58. 구현예 II-57에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법.
- [0222] [0224] 구현예 II-59. 구현예 II-57에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법.
- [0223] [0225] 구현예 II-60. 구현예 II-57에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법.
- [0224] [0226] 구현예 II-61. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0225] [0227] 구현예 II-62. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0226] [0228] 구현예 II-63. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0227] [0229] 구현예 II-64. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0228] [0230] 구현예 II-65. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0229] [0231] 구현예 II-66. 구현예 II-57 내지 II-60 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0230] [0232] 구현예 II-67. 구현예 II-57 내지 II-66 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.
- [0231] [0233] 구현예 II-68. 구현예 II-57 내지 II-67 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 쉬겔라 (*Shigella*) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 상기 쉬겔라 세균이 폴리람노스 백본을 갖는 폴리사카라이드를 포함하는, 방법.
- [0232] [0234] 구현예 II-69. 구현예 II-1 내지 II-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0233] [0235] 구현예 II-70. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 II-1 내지 II-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0234] [0236] 구현예 II-71. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 II-1 내지 II-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0235] [0237] 구현예 II-72. 구현예 II-69 내지 II-71 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법 또는 용도.
- [0236] [0238] 구현예 II-73. 구현예 II-72에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법 또는 용도.
- [0237] [0239] 구현예 II-74. 구현예 II-73에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법 또는 용도.
- [0238] [0240] 구현예 III-1. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0239] a. 제1 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원;
- [0240] b. 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및

- [0241] c. 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산을 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체인, 면역원성 조성물.
- [0242] [0241] 구현예 III-2. 구현예 III-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원인, 면역원성 조성물.
- [0243] [0242] 구현예 III-3. 구현예 III-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원의 펩타이드 단편인, 면역원성 조성물.
- [0244] [0243] 구현예 III-4. 구현예 III-1 내지 III-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, Sfb1, 및 SpyAD로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0245] [0244] 구현예 III-5. 구현예 III-1 내지 III-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, 및 Sfb1으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0246] [0245] 구현예 III-6. 구현예 III-1 내지 III-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO인, 면역원성 조성물.
- [0247] [0246] 구현예 III-7. 구현예 III-6에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0248] [0247] 구현예 III-7A. 구현예 III-6에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0249] [0248] 구현예 III-8. 구현예 III-6에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0250] [0249] 구현예 III-9. 구현예 III-1 내지 III-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0251] [0250] 구현예 III-9A. 구현예 III-1 내지 III-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0252] [0251] 구현예 III-10. 구현예 III-6에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0253] [0252] 구현예 III-10A. 구현예 III-6에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0254] [0253] 구현예 III-11. 구현예 III-1 내지 III-7 또는 III-10 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0255] [0254] 구현예 III-11A. 구현예 III-17, III-10, III-7A 또는 III-10A 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0256] [0255] 구현예 III-12. 구현예 III-6에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0257] [0256] 구현예 III-12A. 구현예 III-6에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 5 또는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.

- [0258] [0257] 구현예 III-13. 구현예 III-1 내지 III-7 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0259] [0258] 구현예 III-13A. 구현예 III-1 내지 III-7 또는 III-7A 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0260] [0259] 구현예 III-14. 구현예 III-1 내지 III-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SpyAD인, 면역원성 조성물.
- [0261] [0260] 구현예 III-15. 구현예 III-14에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0262] [0261] 구현예 III-15A. 구현예 III-14에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0263] [0262] 구현예 III-16. 구현예 III-14에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0264] [0263] 구현예 III-16A. 구현예 III-14에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 1 또는 서열번호 3의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0265] [0264] 구현예 III-17. 구현예 III-1 내지 III-16 중 어느 하나에 있어서, 상기 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드가 페리틴인, 면역원성 조성물.
- [0266] [0265] 구현예 III-18. 구현예 III-1 내지 III-16 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), eCRM, 및 단백질 D로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0267] [0266] 구현예 III-19. 구현예 III-1 내지 III-16 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 데이미나제 (ADI), eCRM, 단백질 D 및 SLO로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0268] [0267] 구현예 III-20. 구현예 III-1 내지 III-19 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 상기 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신 또는 이소 류신으로 치환되는, 면역원성 조성물.
- [0269] [0268] 구현예 III-21. 구현예 III-1 내지 III-19 중 어느 하나에 있어서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0270] [0269] 구현예 III-22. 구현예 III-16에 있어서, 상기 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로판산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0271] [0270] 구현예 III-23. 구현예 III-21에 있어서, 상기 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.
- [0272] [0271] 구현예 III-24. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 9와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0273] [0272] 구현예 III-24A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 9와 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0274] [0273] 구현예 III-25. 구현예 III-24에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0275] [0274] 구현예 III-26. 구현예 III-25에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0276] [0275] 구현예 III-26A. 구현예 III-25에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0277] [0276] 구현예 III-27. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0278] [0277] 구현예 III-27A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0279] [0278] 구현예 III-28. 구현예 III-27에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0280] [0279] 구현예 III-29. 구현예 III-28에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0281] [0280] 구현예 III-30. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0282] [0281] 구현예 III-30A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0283] [0282] 구현예 III-31. 구현예 III-30에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0284] [0283] 구현예 III-32. 구현예 III-31에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0285] [0284] 구현예 III-32A. 구현예 III-31에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0286] [0285] 구현예 III-33. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0287] [0286] 구현예 III-33A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36와 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0288] [0287] 구현예 III-34. 구현예 III-33에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0289] [0288] 구현예 III-35. 구현예 III-34에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0290] [0289] 구현예 III-35A. 구현예 III-34에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 26, 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0291] [0290] 구현예 III-36. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 SLO 폴리펩타이드이고, 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0292] [0291] 구현예 III-36A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 SLO 폴리펩타이드이고, 서열번호 6, 서열번호 8 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.

- [0293] [0292] 구현예 III-37. 구현예 III-36에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 3 또는 4개 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0294] [0293] 구현예 III-38. 구현예 III-36 또는 III-37에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0295] [0294] 구현예 III-38A. 구현예 III-36 또는 III-37에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0296] [0295] 구현예 III-39. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0297] [0296] 구현예 III-39A. 구현예 III-20 내지 III-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0298] [0297] 구현예 III-40. 구현예 III-39에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0299] [0298] 구현예 III-41. 구현예 III-40에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0300] [0299] 구현예 III-41A. 구현예 III-40에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0301] [0300] 구현예 III-42. 구현예 III-1 내지 III-41 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 폴리람노스 코어를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0302] [0301] 구현예 III-43. 구현예 III-1 내지 III-41 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 5 KDa 내지 약 7 KDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0303] [0302] 구현예 III-44. 구현예 III-1 내지 III-43 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 사량체, 육량체, 팔량체 또는 십이량체 폴리사카라이드인, 면역원성 조성물.
- [0304] [0303] 구현예 III-45. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0305] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0306] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0307] c. 스트렙토코커스 피오케네스 접착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0308] [0304] 구현예 III-46. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0309] [0305] 구현예 III-46A. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0310] [0306] 구현예 III-47. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0311] [0307] 구현예 III-47A. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0312] [0308] 구현예 III-48. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33와 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0313] [0309] 구현예 III-48A. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33과 적어도 95% 동일하고

위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0314] [0310] 구현예 III-49. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0315] [0311] 구현예 III-49A. 구현예 III-45에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 9 또는 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0316] [0312] 구현예 III-50. 구현예 III-49에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0317] [0313] 구현예 III-50A. 구현예 III-49 또는 III-49A에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0318] [0314] 구현예 III-51. 구현예 III-1 또는 III-45에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0319] [0315] 구현예 III-52. 구현예 III-1 또는 III-45에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0320] [0316] 구현예 III-53. 구현예 III-1 또는 III-45에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 32의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0321] [0317] 구현예 III-54. 구현예 III-1 또는 III-45에 있어서, 서열번호 29의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0322] [0318] 구현예 III-55. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0323] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0324] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0325] c. 아르기닌 데이미나제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0326] [0319] 구현예 III-56. 구현예 III-55에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0327] [0320] 구현예 III-56A. 구현예 III-55에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 13 또는 서열번호 15와 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0328] [0321] 구현예 III-57. 구현예 III-55에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0329] [0322] 구현예 III-57A. 구현예 III-55에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 17 또는 서열번호 19의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0330] [0323] 구현예 III-58. 구현예 III-55 내지 III-56에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0331] [0324] 구현예 III-58A. 구현예 III-55 내지 III-56 또는 III-56A 중 어느 하나에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하

는, 면역원성 조성물.

- [0332] [0325] 구현예 III-59. 구현예 III-55 내지 III-56에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0333] [0326] 구현예 III-59A. 구현예 III-55 내지 III-56 또는 III-56A 중 어느 하나에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0334] [0327] 구현예 III-60. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0335] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0336] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0337] c. 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0338] [0328] 구현예 III-61. 구현예 III-60에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0339] [0329] 구현예 III-61A. 구현예 III-60에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0340] [0330] 구현예 III-62. 구현예 III-60에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0341] [0331] 구현예 III-62A. 구현예 III-60에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0342] [0332] 구현예 III-63. 구현예 III-1 내지 III-62 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 약 10% 내지 약 50%의 제1 GAS 항원, 약 10% 내지 약 50%의 제2 GAS 항원, 및 약 10% 내지 약 50%의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0343] [0333] 구현예 III-64. 구현예 III-1 내지 III-63 중 어느 하나에 있어서, 알룸, 사포닌, 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 이의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0344] [0334] 구현예 III-65. 구현예 III-1-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0345] [0335] 구현예 III-66. 구현예 III-65에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법.
- [0346] [0336] 구현예 III-67. 구현예 III-65에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법.
- [0347] [0337] 구현예 III-68. 구현예 III-65에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법.
- [0348] [0338] 구현예 III-69. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0349] [0339] 구현예 III-70. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0350] [0340] 구현예 III-71. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0351] [0341] 구현예 III-72. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0352] [0342] 구현예 III-73. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0353] [0343] 구현예 III-74. 구현예 III-65 내지 III-68 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.

- [0354] [0344] 구현예 III-75. 구현예 III-65 내지 III-74 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.
- [0355] [0345] 구현예 III-76. 구현예 III-65 내지 III-75 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 쉬겔라 (Shigella) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 상기 쉬겔라 세균이 폴리람노스 백본을 갖는 폴리사카라이드를 포함하는, 방법.
- [0356] [0346] 구현예 III-77. 구현예 III-1-56 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0357] [0347] 구현예 III-78. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 III-1 내지 III-54 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0358] [0348] 구현예 III-79. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 III-1 내지 III-54 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0359] [0349] 구현예 III-80. 구현예 III-77 내지 III-79 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법 또는 용도.
- [0360] [0350] 구현예 III-81. 구현예 III-80에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법 또는 용도.
- [0361] [0351] 구현예 III-82. 구현예 III-81에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법 또는 용도.
- [0362] [0352] 구현예 IV-1. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0363] a. 제1 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 폴리펩타이드 항원;
- [0364] b. 제2 GAS 폴리펩타이드 항원; 및
- [0365] c. 적어도 하나의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물로서, 여기서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드이고, 적어도 하나의 비-천연 아미노산을 포함하고, 상기 접합체 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드, 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체인, 면역원성 조성물.
- [0366] [0353] 구현예 IV-2. 구현예 IV-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원인, 면역원성 조성물.
- [0367] [0354] 구현예 IV-3. 구현예 IV-1에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원의 적어도 하나가 전장 GAS 항원의 펩타이드 단편인, 면역원성 조성물.
- [0368] [0355] 구현예 IV-4. 구현예 IV-1 내지 IV-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, Sfb1, 및 SpyAD로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0369] [0356] 구현예 IV-5. 구현예 IV-1 내지 IV-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 독립적으로 C5a 펩티다제, 스트렙토라이신 0 (SLO), Sib35, 및 Sfb1으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0370] [0357] 구현예 IV-6. 구현예 IV-1 내지 IV-3 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO인, 면역원성 조성물.
- [0371] [0358] 구현예 IV-7. 구현예 IV-1 내지 IV-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0372] [0359] 구현예 IV-8. 구현예 IV-1 내지 IV-5 중 어느 하나에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0373] [0360] 구현예 IV-9. 구현예 IV-6에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0374] [0361] 구현예 IV-10. 구현예 IV-1 내지 IV-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원

이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0375] [0362] 구현예 IV-11. 구현예 IV-1 내지 IV-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0376] [0363] 구현예 IV-12. 구현예 IV-1 내지 IV-11 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0377] [0364] 구현예 IV-13. 구현예 IV-1 내지 IV-11 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32와 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0378] [0365] 구현예 IV-14. 구현예 IV-1 내지 IV-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0379] [0366] 구현예 IV-15. 구현예 IV-1 내지 IV-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0380] [0367] 구현예 IV-16. 구현예 IV-1 내지 IV-11 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0381] [0368] 구현예 IV-17. 구현예 IV-6에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31 또는 서열번호 32의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0382] [0369] 구현예 IV-18. 구현예 IV-1 내지 IV-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0383] [0370] 구현예 IV-19. 구현예 IV-1 내지 IV-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SLO이고, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0384] [0371] 구현예 IV-20. 구현예 IV-1 내지 IV-4 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및 제2 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제 및 SpyAD인, 면역원성 조성물.
- [0385] [0372] 구현예 IV-21. 구현예 IV-1 내지 IV-6, 16-17 또는 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0386] [0373] 구현예 IV-22. 구현예 IV-20 또는 IV-21에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0387] [0374] 구현예 IV-23. 구현예 IV-1 내지 IV-6, 16-17 또는 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0388] [0375] 구현예 IV-24. 구현예 IV-1 내지 IV-6, 16-17, 20 또는 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 20 또는 서열번호 30의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0389] [0376] 구현예 IV-25. 구현예 IV-1 내지 IV-24 중 어느 하나에 있어서, 상기 비-GAS 캐리어 폴리펩타이드가 페리틴인, 면역원성 조성물.
- [0390] [0377] 구현예 IV-26. 구현예 IV-1 내지 IV-24 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 테이미

나제 (ADI), 서열번호 25, 및 단백질 D로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

- [0391] [0378] 구현예 IV-27. 구현예 IV-1 내지 IV-24 중 어느 하나에 있어서, 상기 제3 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 폴리펩타이드 항원이 스트렙토코커스 피오제네스 접착 및 분열 (SpyAD) 폴리펩타이드, 아르기닌 테이민 나제 (ADI), 서열번호 25, 단백질 D, 및 SLO로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0392] [0379] 구현예 IV-28. 구현예 IV-1 내지 IV-27 중 어느 하나에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 상기 접합체 폴리펩타이드에서 라이신, 류신, 아르기닌 또는 이소류신으로 치환되는, 면역원성 조성물.
- [0393] [0380] 구현예 IV-29. 구현예 IV-1 내지 IV-27 중 어느 하나에 있어서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0394] [0381] 구현예 IV-30. 구현예 IV-1 내지 IV-29 중 어느 하나에 있어서, 상기 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.
- [0395] [0382] 구현예 IV-31. 구현예 IV-29 또는 IV-30에 있어서, 상기 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.
- [0396] [0383] 구현예 IV-32. 구현예 IV-26 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0397] [0384] 구현예 IV-33. 구현예 IV-28 내지 IV-32 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 단백질이고, 이는 SpyAD 폴리펩타이드이고, 서열번호 33과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0398] [0385] 구현예 IV-34. 구현예 IV-26 내지 IV-33 중 어느 하나에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0399] [0386] 구현예 IV-35. 구현예 IV-26 내지 IV-31 또는 34 중 어느 하나에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0400] [0387] 구현예 IV-36. 구현예 IV-34에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33 또는 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0401] [0388] 구현예 IV-37. 구현예 IV-26 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0402] [0389] 구현예 IV-38. 구현예 IV-26 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 ADI 폴리펩타이드이고, 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0403] [0390] 구현예 IV-39. 구현예 IV-26 내지 IV-31 또는 37-38 중 어느 하나에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36의 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0404] [0391] 구현예 IV-40. 구현예 IV-39에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0405] [0392] 구현예 IV-41. 구현예 IV-26 내지 IV-31 또는 39 중 어느 하나에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 27, 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0406] [0393] 구현예 IV-42. 구현예 IV-27 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 SLO 폴리펩타이드이고, 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0407] [0394] 구현예 IV-43. 구현예 IV-27 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 제3 GAS 폴리펩타이드이고, 이는 SLO 폴리펩타이드이고, 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.

- [0408] [0395] 구현예 IV-44. 구현예 IV-42 또는 IV-43에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 3 또는 4개 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0409] [0396] 구현예 IV-45. 구현예 IV-44에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0410] [0397] 구현예 IV-46. 구현예 IV-44에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0411] [0398] 구현예 IV-47. 구현예 IV-42 또는 IV-43에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 5, 6, 7 또는 8개 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0412] [0399] 구현예 IV-48. 구현예 IV-47에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0413] [0400] 구현예 IV-49. 구현예 IV-47에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0414] [0401] 구현예 IV-50. 구현예 IV-28 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0415] [0402] 구현예 IV-51. 구현예 IV-28 내지 IV-31 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리펩타이드가 페리틴 폴리펩타이드이고, 서열번호 21과 적어도 95% 동일한, 면역원성 조성물.
- [0416] [0403] 구현예 IV-52. 구현예 IV-50 또는 IV-51에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 21의 위치 I5에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0417] [0404] 구현예 IV-53. 구현예 IV-52에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0418] [0405] 구현예 IV-54. 구현예 IV-52에 있어서, 상기 페리틴 폴리펩타이드가 서열번호 23의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0419] [0406] 구현예 IV-55. 구현예 IV-1 내지 IV-54 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 면역우성 GlcNAc 측쇄가 부재인, 면역원성 조성물.
- [0420] [0407] 구현예 IV-56. 구현예 IV-1 내지 IV-56 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 5 kDa 내지 약 7 kDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0421] [0408] 구현예 IV-57. 구현예 IV-1 내지 IV-56 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 약 10 kDa 내지 약 45 kDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0422] [0409] 구현예 IV-58. 구현예 IV-1 내지 IV-55 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체 폴리사카라이드가 사량체, 육량체, 팔량체 또는 십이량체 폴리사카라이드인, 면역원성 조성물.
- [0423] [0410] 구현예 IV-59. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0424] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0425] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0426] c. 스트렙토코커스 피오케네스 접착 및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0427] [0411] 구현예 IV-60. 구현예 IV-59에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33와 적어도 95% 동일하고 위치

K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

- [0428] [0412] 구현예 IV-61. 구현예 IV-59에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 33과 적어도 95% 동일하고 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0429] [0413] 구현예 IV-62. 구현예 IV-59 내지 IV-61에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0430] [0414] 구현예 IV-63. 구현예 IV-59 내지 IV-61에 있어서, 상기 SpyAD 단백질이 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0431] [0415] 구현예 IV-64. 구현예 IV-59 내지 IV-63 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0432] [0416] 구현예 IV-65. 구현예 IV-59 내지 IV-64 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0433] [0417] 구현예 IV-66. 구현예 IV-1 또는 IV-59에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0434] [0418] 구현예 IV-67. 구현예 IV-1 또는 IV-59에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 52의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0435] [0419] 구현예 IV-68. 구현예 IV-1 또는 IV-59에 있어서, 서열번호 30의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 32의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0436] [0420] 구현예 IV-69. 구현예 IV-1 또는 IV-59에 있어서, 서열번호 29의 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; 서열번호 53의 SLO 폴리펩타이드 항원; 및 서열번호 34의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0437] [0421] 구현예 IV-70. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0438] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;
- [0439] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0440] c. 아르기닌 데이미나제 (ADI) 접합체 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0441] [0422] 구현예 IV-71. 구현예 IV-70에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0442] [0423] 구현예 IV-72. 구현예 IV-70에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 35 또는 서열번호 36과 적어도 95% 동일하고 위치 K15, K193, 및 K316에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0443] [0424] 구현예 IV-73. 구현예 IV-72에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0444] [0425] 구현예 IV-74. 구현예 IV-72 중 어느 하나에 있어서, 상기 ADI 폴리펩타이드가 서열번호 37 또는 서열번호 38의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0445] [0426] 구현예 IV-75. 하기를 포함하는 면역원성 조성물:
- [0446] a. 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;

- [0447] b. GAS 스트렙토라이신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및
- [0448] c. 페리틴 폴리펩타이드 및 GAS 접합체 폴리사카라이드 또는 면역우성 N-아세틸 글루코사민 (GlcNAc) 측쇄가 부재인 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물.
- [0449] [0427] 구현예 IV-76. 구현예 IV-75에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 15에서 pAMF 치환을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0450] [0428] 구현예 IV-77. 구현예 IV-75에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 21과 적어도 95% 동일하고 위치 15에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0451] [0429] 구현예 IV-78. 구현예 IV-75에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0452] [0430] 구현예 IV-79. 구현예 IV-75에 있어서, 상기 페리틴 단백질이 서열번호 23의 아미노산 서열로 이루어진, 면역원성 조성물.
- [0453] [0431] 구현예 IV-80. 구현예 IV-1 내지 IV-79 중 어느 하나에 있어서, 상기 조성물이 약 10% 내지 약 50%의 제1 GAS 항원, 약 10% 내지 약 50%의 제2 GAS 항원, 및 약 10% 내지 약 50%의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0454] [0432] 구현예 IV-81. 구현예 IV-1 내지 IV-80 중 어느 하나에 있어서, 알룸, 사포닌, 모노포스포릴 지질 A (MPL) 또는 이의 조합으로부터 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.
- [0455] [0433] 구현예 IV-82. 구현예 IV-1 내지 IV-81 중 어느 하나에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체가 약 10 kDa 내지 약 5000 kDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.
- [0456] [0434] 구현예 IV-83. 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0457] [0435] 구현예 IV-84. 구현예 IV-83에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법.
- [0458] [0436] 구현예 IV-85. 구현예 IV-65에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법.
- [0459] [0437] 구현예 IV-86. 구현예 IV-65에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법.
- [0460] [0438] 구현예 IV-87. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0461] [0439] 구현예 IV-88. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0462] [0440] 구현예 IV-89. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0463] [0441] 구현예 IV-90. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0464] [0442] 구현예 IV-91. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0465] [0443] 구현예 IV-92. 구현예 IV-83 내지 IV-86 중 어느 하나에 있어서, 상기 GAS 세균이 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 혈청형인, 방법.
- [0466] [0444] 구현예 IV-93. 구현예 IV-83 내지 IV-92 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.
- [0467] [0445] 구현예 IV-94. 구현예 IV-83 내지 IV-93 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 쉬겔라 (Shigella) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하고, 상기 쉬겔라 세균이 폴리람노스 백본을 갖는 폴리사카라이드를 포함하는, 방법.

- [0468] [0446] 구현예 IV-95. 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.
- [0469] [0447] 구현예 IV-96. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0470] [0448] 구현예 IV-97. 대상체에서 쉬겔라 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0471] [0449] 구현예 IV-98. 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0472] [0450] 구현예 IV-99. 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 IV-1 내지 IV-82 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.
- [0473] [0451] 구현예 IV-100. 구현예 IV-93 내지 IV-99 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체가 18세 이상인, 방법 또는 용도.
- [0474] [0452] 구현예 IV-101. 구현예 IV-100에 있어서, 상기 대상체가 18세 미만인, 방법 또는 용도.
- [0475] [0453] 구현예 IV-102. 구현예 IV-100에 있어서, 상기 대상체가 5세 내지 17세 연령, 6개월 내지 9세 연령 또는 5세 내지 9세 연령인, 방법 또는 용도.
- [0476] **참조에 의한 인용**
- [0477] [0454] 본원에 인용된 모든 참조물, 논문, 간행물, 특허, 특허 공보 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 이들의 전문이 본원에 참조로 인용된다. 그러나 여기에 인용된 참조물, 논문, 간행물, 특허, 특허 공보 및 특허 출원에 대한 언급은 세계 어느 국가에서 그들이 유효한 선행 기술을 구성하거나 공통의 일반적인 지식의 일부를 구성한다는 승인 또는 암시라는 어떤 형태로 간주되어서는 안된다.
- [0478] **실시예**
- [0479] **실시예 1: GAS 폴리사카라이드의 발현 및 정제**
- [0480] [0455] GAS 세균 배양물로부터 GAS 폴리사카라이드를 발현하고 정제하기 위한 실험을 수행하였다.
- [0481] [0456] 적절한 재조합 GAS 콜로니로부터 500mL의 스타터 배양물을 제조하여 세균이 몇 시간 동안 성장할 수 있도록 한 다음 진탕 없이 37℃에서 밤새 성장시키기 위해 대형 1.25L 배양물에 접종하였다. 세균을 펠릿화하고, PBS로 1회 세척한다. 5 mL의 냉, 48% 수성 하이드로플루오르산은 혈청학적 피펫을 사용하여 주의깊게 상하 피펫팅하여 펠릿을 분쇄하면서 폴리스티렌 팁을 사용한 50mL의 원뿔 튜브 중의 세포 펠릿에 첨가하였다. 작은 자기 교반 막대를 사용하여, 혼합물은 4 ℃에서 48시간동안 교반하였다. 흡 후드(fume hood)에서 빙상의 원뿔형 튜브와 함께 45mL(48% HF의 10배 용적)의 빙냉 Milli-Q®(초순수) 물을 투석을 위한 준비로 세균 현탁액에 첨가하였다.
- [0482] [0457] 투석을 위한, 투석용 4L 플라스틱 비이커는 탈이온수로 채웠다. 교반 막대는 각각에 첨가하였고, 비이커는 냉각실에서 덮고 냉각되도록 방치하였다. 1000 MWC0 재생 셀룰로스 투석 배관(tubing)을, 각각의 세균 배양을 위해 절단하였다(4L 비이커의 경우 최대 ~17cm). 3개 절단물의 배관은 6개의 1.25L 배양을 위해 요구된다. 튜브는 DI 물로 세척하고 냉각 Milli-Q® (초순수) 물을 함유하는 비이커내 침지시키기 전 Milli-Q® (초순수) 물로 세정하였다. 흡 후드에서, 배관은 희석된 세균 현탁물로 주의깊게 채우기 전에 비이커에 위치시키고 클립으로 밀봉시켰다. 샘플은 다음과 같이 투석하였다: 1일: 교반과 함께 4 ℃; 2일: 물 교환, 교반과 함께 4 ℃; 3일: 물 교환, 실온, 교반과 함께.
- [0483] [0458] 투석 배관의 내용물은 원심분리 튜브로 옮기고 4 ℃에서 20분동안 14,000 rpm에서 회전시켰다. 50 mL의 원뿔형 튜브는 Milli-Q® (초순수) 물로 3x 세정하여 임의의 가용성 플라스틱 잔사를 제거하였다. 폴리사카라이드를 함유하는 상등액 최대 30 mL을 각각의 튜브에 따르고 드라이 아이스에서 1시간동안 동결시켰다. 이어서 동결된 샘플을 동결건조시키고, 잔사는 경우에 따라 약한 초음파 처리와 함께 8 mL의 냉수에 재현탁시켰다. 1 mL의 10x 프로테이나제 K 완충액 (500 mM Tris HCl, 10 mM CaCl₂) 및 폴라사카라이드 프랩(prepare) 당 12.5 mg의 프로테이나제 K를 첨가하였다. 샘플은 때때로 혼합하면서 밤새 하이브리드화 오븐에서 56 ℃에서 항온처리하였다. 반응은 에탄올 중의 100 μL의 100mM PMSF(최종 5mM)를 사용하여 반응을 종료시키고 주기적으로 혼합하면서 37

℃에서 1 내지 2시간동안 항온처리하였다. 혼합물을 이어서 24시간동안 교반과 함께 0.05% 아지드화나트륨을 갖는 DI 물 중에서 투석하여 염을 제거하였다. 수득한 조 폴리사카라이드 용액을 동결시키고 동결건조시켰다.

[0484] [0459] 조 폴리사카라이드는 7% 에탄올로 예비 평형화되고 소용돌이 수거기 세트가 장착된 100 cm x 1.5 cm 바이오겔 P4 컬럼을 사용한 크기 배제 크로마토그래피에 의해 샘플 당 20.0 min 동안 정제하였다. 조 물질은 500 μ L의 7% 에탄올 중에 재현탁시키고, 5분 동안 4000 rpm에서 원심분리하여 임의의 불용성 미립자 물질을 제거하였다. 샘플은 컬럼 상에 부하하고, 예비 부하 용적 및 4개의 후속 분획물은 500 μ L의 7% 에탄올을 사용하여 용출시켰다. 컬럼은 7% 에탄올로 용출시키고, 약 20시간동안 수거한다. 페놀-황산 방법을 사용하여 분획을 분석하여 폴리사카라이드의 존재를 검출하고, 샘플을 490 nm에서 관독하여 정량하였다. 페놀-황산 시험에서 양성인 것으로 시험된 분획물을 모으고 동결건조시켜 최종 정제된 PS 생성물을 수득하였다.

[0485] **실시예 2: pAMF-변형된 접합체 폴리펩타이드의 발현 및 정제**

[0486] [0460] 무세포 단백질 합성 추출물로부터 pAMF-변형된 접합체 폴리펩타이드를 발현하고 정제하기 위한 실험을 수행하였다.

[0487] [0461] 접합체 폴리펩타이드, 예를 들어, nnAA를 함유하는 SpyAD (서열번호 11 또는 서열번호 34)(예를 들어, pAMF)는 앰버 정지 코돈에서 nnAA의 삽입을 위한 직교 tRNA를 생성하도록 가공된 이. 콜리로부터 유래된 추출물(XtractCF⁺)을 사용하여 무세포 단백질 합성 (CFPS) 반응에서 발현시켰다. 이들 변형된 접합체 폴리펩타이드의 클로닝, 발현 및 정제를 위해 사용되는 샘플 프로토콜은 예를 들어, 문헌(참조: Kapoor *et al.*, *Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519)에서 찾을 수 있다.

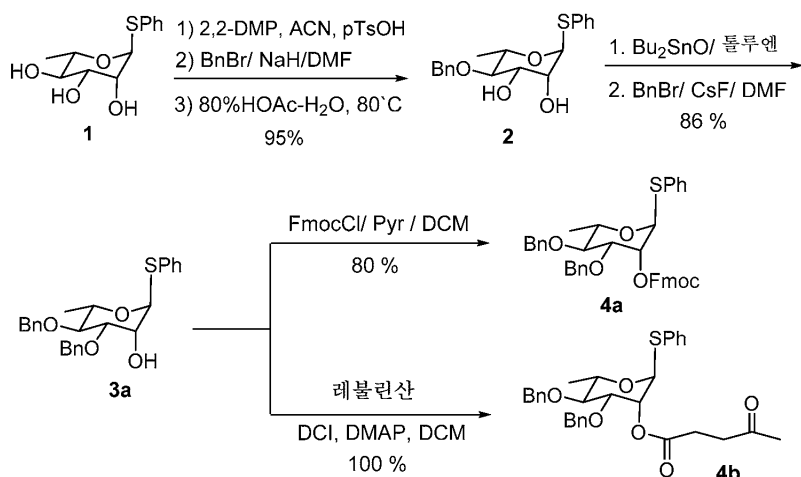
[0488] [0462] 하나의 예로서, 제어된 대규모 발현은 일정한 650 rpm 교반, pH 7.2, 용존 산소 30%와 함께 25℃에서 10h 동안 DASbox 소형 생물반응기 시스템을 사용하여 수행될 수 있다. 10 h 후, 반응물을 수거하고, 30 min 동안 4℃에서 15,000 x g로 회전 하강시키고, 0.45 μ m 필터에 통과시키고, 여과물을 흡광도가 기준선으로 복귀할 때까지 완충액 A [50 mM Tris, 150 mM M NaCl, 10 mM 이미다졸]로 평형화되고 광범위하게 세척된 5 ml HisTrap 엑셀 컬럼 (Cytiva) 상에 부하하였다(도 17은 선택된 SLO 변이체의 정제로부터의 샘플 겔을 보여준다). 단백질은 완충액 B [50 mM Tris, 150 mM M NaCl, 500 mM 이미다졸]의 50% Step 농도구배를 사용하여 용출시키고, 용출 분획을 모으고, 농축시키고, 완충액 A에 대해 투석하면서 과량의 정제된 his6-태그된 TEV 프로테아제와 밤새 항온처리하였다(도 18은 SLO 펩타이드의 TEV 절단 후 샘플 겔을 보여준다). 투석된 절단 반응은 예비 평형화된 HisTrap 엑셀 5ml 컬럼 (Cytiva) 상에 다시 부하하고, 태그되지 않은 단백질은 통류 (FT) 분획물에 수거하였다. 이후, FT는 농축시키고 완충액 S [50 mM Tris pH 8.0, 150 mM NaCl]로 예비 평형화된 Sperdex 200 26/60 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 컬럼 상에 부하하고, 용출된 분획의 순도는 SDS-PAGE 겔 분석에 의해 평가하였다(도 19는 크기 배제 크로마토그래피 후 선택된 SLO 변이체의 순도를 보여준다). 정제된 SpyAD[4pAMF]는 실온에서 1시간 동안 과량의 디벤조사이클로옥탄-PEG4-테트라메틸로다민(DBCO-TAMRA) 염료로 항온처리하여 SDS-PAGE 겔에 의한 pAMF 부위를 확인하고 형광 관독은 Syngene G-박스 겔 이미지화기를 사용하여 기록하였다.

[0489] [0463] nnAA에 의해 변형되지 않은 폴리펩타이드는 상기된 것들과 유사한 방법에 따라 CFPS를 사용하여 제조하였다. 도 12는 CFPS에서 발현된 GAS 단백질 항원 및 선택된 면역원성 코어 단편의 모듈식 구조를 보여준다.

[0490] [0464] 단일 부위 돌연변이 유발 연구는 총 단백질 및 가용성 단백질 둘다에서 측정된 바와 같이 단일 아미노산 잔기의 pAMF로의 대체가 발현에 어떻게 영향을 미치는지 이해하기 위해 SpyAD(서열번호 9)에 대해 수행되었다. 도 1a는 라이신-스캐닝 돌연변이유발 연구로부터 비롯된 발현 수준을 보여준다. 나타낸 바와 같이, SpyAD 단백질의 단일 지점에서 pAMF 잔기의 도입은 전체 및 가용성 단백질 발현에 다양한 영향을 미쳤다. 도 1b는 항원들 및 nnAA를 함유하는 항원 접합체에 대한 발현 수준을 보여준다. 도 13은 세이프 블루(Safe Blue) 염색에 의한 측정시 SLO 변이체, C5a 펩티다제 및 SpyAD의 순도가 95% 초과임을 보여주고, DBCO-TAMRA 표지화에 의해 확인된 바와 같이 SpyAD 변이체 SpyAD[4pAMF]에 pAMF의 혼입을 추가로 보여준다.

[0491] **실시예 3: 클릭 화학 반응 그룹으로 변형된 램노스 폴리사카라이드의 합성 및 정제**

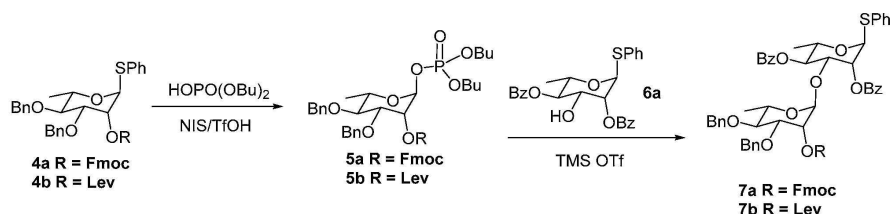
[0492] [0465] DBCO-변형된 폴리사카라이드는 단계적 접근법을 사용하여 합성하여, 올리고머 길이의 튜닝을 가능하게 한다.



[0493]

[0494]

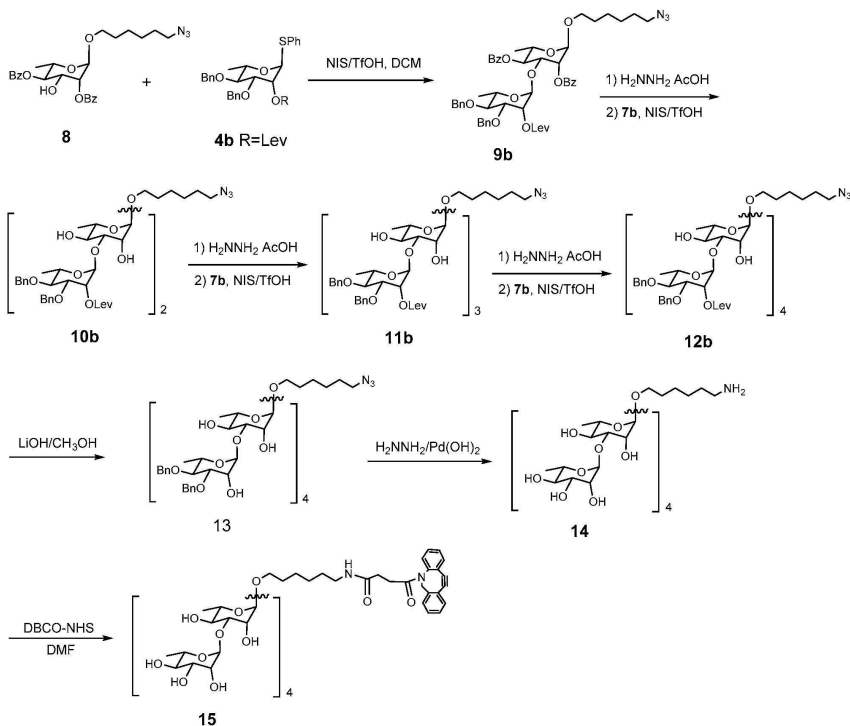
[0466] 모노사카라이드 중간체 4a 및 4b의 합성: 단량체 1을 모노-벤질화하여 2를 제공하고, 이를 추가로 벤질-보호하여 중간체 3a를 수득하였다. 에스테르화 조건 하에 레블린산으로 3a를 처리하여 레블린(Lev)-에스테르 단량체 4a를 제공한다. 대안적으로, 3a의 Fmoc-보호는 단량체 4b를 제공하였다.



[0495]

[0496]

[0467] 디사카라이드 공여자 7a 및 7b의 합성: 모노사카라이드 중간체 4a/b는 포스페이트 에스테르 5a/b로 전환시키고, 이는 이어서 TMSOTf 및 6a로 처리하여 디사카라이드 공여자 7a/b를 제공한다.

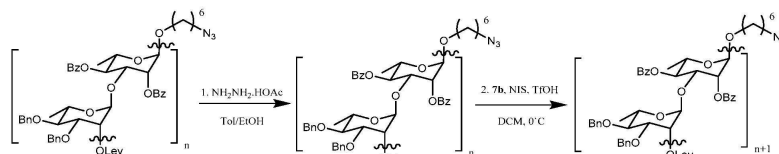


[0497]

[0498]

[0468] 클릭 화학 반응 그룹을 갖는 람노스 옥타사카라이드의 합성: 아지드 중간체 8은 NIS/TfOH의 존재하에 모노사카라이드 중간체 4b에 커플링시켜 이량체 9b를 수득하고, 이는 이어서 디사카라이드 공여자 7b와 함께 3개의 연속 탈보호/커플링 반응 순서에 적용하여 부분적으로 보호된 팔량체 중간체 12b를 수득한다. LiOH/메탄올로

12b를 처리하여 레불린산 에스테르를 가수분해시켜 **13**을 수득하고, $H_2NNH_2/Pd(OH)_2$ 로 추가 처리하여 펜던트 아지드를 동시에 환원시키고, 나머지 벤질 에테르를 환원적으로 절단하여 **14**를 제공한다. **14**와 DBCO-NHS의 커플링으로 최종 옥타사카라이드 **15**를 수득하였다.



[0499]

[0500]

[0469] 다양한 길이의 폴리사카라이드, 예를 들어, 도데사카라이드 및 헥사사카라이드는 상기 일반 반응 화학식에 나타낸 바와 같이 공여자 **7b**와 함께 탈보호/커플링 순서의 수를 변경함에 의해 제조될 수 있다.

[0501]

[0470] 본원 개시내용의 폴리사카라이드는 또한 단량체 **4a**에서 유래하는 상기 중간체의 Fmoc-보호된 유도체를 사용하여 고체상 합성을 통해 합성될 수 있다.

[0502]

실시예 4: 정제된 PS의 DBCO-PEG 링커로의 연결

[0503]

[0471] 정제된 폴리사카라이드, 예를 들어 실시예 1의 방법에 의해 생성된 폴리사카라이드는 DBCO-PEG 링커로 기능성화될 수 있다.

[0504]

[0472] 일반적으로, 물 중의 폴리사카라이드의 용액(모든 시약을 첨가한 후 최종 농도 5.5mM)에 붕산염 완충액(1M, pH 8.5)을 첨가하여 최종 용적에서 붕산염의 최종 농도가 100 mM이 되도록 하였다. 이어서 물을 첨가하여 임의의 여분의 반응 용적을 채웠다. 2.5 당량(폴리사카라이드 반복 단위에 대하여)의 1-시아노-4-디메틸아미노 피리디늄 테트라 플루오로보레이트(CDAP; 아세토니트릴 중 100 mg/mL 용액으로부터)를 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. CDAP는 -20 °C에서 저장하고 용액은 사용 직전에 제조해야만 한다. CDAP를 첨가한 후 5분(상기 타이밍이 중요하다-5분을 초과하면 DBCO-PEG-아민 혼입이 감소됨)에, 0.5몰 당량의 디벤조사이클로옥틴-아민 링커(DMSO 스톱 용액에서, DMSO의 최종 농도는 5% v/v이다)를 첨가하였다. DBCO-PEG4-아민 링커는 -20 °C에서 저장하고, 사용 직전에 제조되어야만 한다. 1시간의 추가 반응 후, 글라이신(2M, pH 8.35)을 1:10 용적으로 첨가하여 200mM 글라이신의 최종 농도를 수득하여 임의의 미반응 시아네이트 에스테르를 켄칭하였다. 1시간 켄칭 후, 유도체화된 폴리사카라이드는 이어서 Zeba 회전 컬럼을 통해 정제하였다. 2-3 mL의 용액은 각각 10mL의 Zeba 컬럼에 첨가하였다. 정제된 폴리사카라이드를 결합된/유리된 DBCO HPLC 방법으로 분석하여 잔류 DBCO-PEG4-아민 링커 및 DMAP가 컬럼 정제에 의해 완전히 제거되었는지 결정하였다. 물질은 필요한 경우 추가로 정제할 수 있다. 폴리사카라이드 농도는 안트론 검정(anthrone assay)을 사용하여 측정하였고, 디벤조사이클로옥틴 농도는 309 nm에서의 흡광도를 이용하여 측정하였다. 이들 2개의 값 axcyte:를 조합하여 디벤조사이클로옥틴 기능성 그룹으로 유도체화된 폴리사카라이드의 퍼센트를 추정하였다. 퍼센트 DBCO는 CDAP 반응을 위해 5-10%이어야만 한다.

[0505]

[0473] GAC의 DBCO-PEG4 유도체화: 100 mM 붕산염 완충액 pH 8.5 중 GAC의 6 mM 용액에 1-시아노-4-디메틸아미노 피리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP; 아세토니트릴 중 100mg/mL 용액)의 3당량(폴리사카라이드 반복 단위에 대해)을 격렬하게 교반하면서 첨가하여 반응성 하이드록실 그룹에서 시아닐화를 촉진시켰다. CDAP의 첨가 5분 후, DMSO 중 2몰 당량의 디벤조사이클로옥틴-아민 링커 스톱을 최종 DMSO 농도가 5%(v/v)가 되도록 첨가하였다. DBCO-유도체화 후, 200mM 글라이신을 반응에 첨가하여 미반응 시아네이트 에스테르를 켄칭하였다. DBCO 유도체화된 폴리사카라이드를 zeba 회전 탈염 컬럼을 통해 정제하고 회수된 물질의 순도를 역상으로 평가하였다. 309 nm에서 흡광도를 모니터링할 때 HPLC의 단일 피크는 과잉 DBCO 링커 및 기타 반응 부산물의 완전한 제거를 확인하였다. 최종적으로 폴리사카라이드 농도는 안트론 검정(anthrone assay)을 사용하여 측정하였고(하기 참조), 디벤조사이클로옥틴 농도는 309 nm에서의 흡광도를 사용하여 측정하였다. 이들 2개의 값을 조합하여 디벤조사이클로옥틴 기능성 그룹으로 유도체화된 폴리사카라이드의 퍼센트를 추정하였다. 접합을 위해, GAC의 % DBCO 유도체화는 5-10%로 유지되었다.

[0506]

[0474] 총 폴리사카라이드 농도에 대한 안트론 검정: 2 mg/ml의 안트론 시약(Sigma-Aldrich, CAS#90-44-8)의 스톱을 냉각 황산에서 제조한 반면 2x 람노스를 포함하는 1mM의 폴리사카라이드 반복 단위(PSRU) 스톱을 표준물로서 물에서 제조하였다. 3중 웰에서 PSRU 스톱(참조 표준으로 연속 희석) 100 μ l 또는 미지 샘플(1:3 희석)을 플레이팅(96웰 플레이트)한 다음 안트론 시약 스톱 200 μ l/웰을 첨가하였다. 모든 반응은 완전히 혼합하고, 10분동안 95°C에서 항온처리를 위해 플레이트 커버로 밀봉하였다. UV/VIS 플레이트 판독기를 사용하여 흡광도를 620 nm에서 측정하기 전에 플레이트를 병상에 잠시 놓아 주위 온도로 냉각시켰다. 미지의 샘플의 농도를 결정하

기 위해 PSRU 표준 농도 및 흡광도를 사용하여 최소 제곱 피트 회귀를 생성하였다.

[0507] **실시예 5: 캐리어 단백질의 DBCO-유도체화된 폴리사카라이드로의 접합**

[0475] 일반적으로, 캐리어 단백질 페리틴 (서열번호 23), SpyAD (서열번호 34), ADI (서열번호 27 및 서열번호 38), 서열번호 25, 및 nnAA를 함유하는 단백질 D(예를 들어, pAMF)는 DBCO 그룹의 사이클로옥탄 모이어티를 캐리어 단백질에 혼입된 nnAA 측쇄의 아지드 모이어티와 반응시킴에 의해 실시예 3 및 실시예 4의 정제된 DBCO-유도체화된 폴리사카라이드에 접합시켰다. DBCO와 아지드 그룹 간의 접합 반응을 위한 샘플 프로토콜은 예를 들어, 문헌(참조: Zimmerman *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(2), 351-361 and Kapoor *et al.*, *Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519)에서 찾을 수 있다.

[0476] pAMF-유도체화된 GAC의 SpyAD로의 접합: SpyAD[4pAMF] (서열번호 34)는 1:1의 비율 [각각 0.5 mg/ml]로 DBCO-유도체화된 GAC와 혼합하여 클릭 화학을 통한 접합을 촉진시켰다. 접합 후, 반응 혼합물은 50 kDa 컷오프 막에 대해 투석하여 과량의 미반응된 유리된 폴리사카라이드를 제거하였다. 회수된 접합체는 SEC (다각도 광 산란) MALS에 의해 분석하고, 농도는 안트론 검정을 사용하여 평가하였다. 도 9는 DBCO-(PEG)₄-NH₂를 사용한 GAC의 유도체화 및 pAMF-유도체화된 SpyAD로의 후속 접합을 개괄하는 도식이다. 도 10은 정제된 고유 GAC, 정제된 고유 SpyAD[4pAMF], 및 정제된 접합체의 SEC MALS 분석을 보여준다. 정제된 고유 GAC의 SEC-MALS 분석은 7.2kDa의 평균 분자량을 추정한다. 클릭 화학 후 정제된 고유 SpyAD[4pAMF]의 SEC-MALS 분석은 87.3kDa의 평균 분자량을 추정한다. 정제된 접합체의 클릭 화학 후 SEC-MALS 분석은 153.4 kDa의 평균 조합 분자량을 추정한다. Inset은 접합 전 및 후 SpyAD[4pAMF]의 세이프 블루 (safe blue) 염색된 SDS-PAGE 분석을 보여주고 접합 후 어떠한 미반응된 단백질은 잔류하지 않았다.

[0477] SEC MALS-UV-RI는 DAWN-HELEOS 다각도 레이저 광산란 검출기 및 Optilab T-rEX 차등 굴절 간섭계(Wyatt Technology, Santa Barbara, CA)가 직렬로 연결된 3개의 TOSOH 컬럼과 함께 Agilent HPLC 1100 탈기기, 온도 제어식 자동 샘플러(4℃), 컬럼 구획(25℃) 및 UV-VIS 다이오드 어레이 검출기(Agilent, Santa Clara, CA)로 수행되었다: TSKgel 가드 PWXL 6.0 mm ID x 4.0 cm 길이, 12 μm 입자; TOSOH TSKgel 6000 PWXL 7.8 mm ID x 30 cm 길이, 13 μm 입자; 및 TSKgel 3000 PWXL 7.8 mm ID x 30 cm 길이, 7μm 입자. 5% (v/v) 아세토니트릴과 함께 0.2 μm 여과된 1x PBS로 이루어진 이동상은 0.5 mL/min 유속으로 사용하였고, 50-100 μg의 샘플은 분석을 위해 주사하였다. Agilent 오픈 랩 소프트웨어를 사용하여 HPLC를 제어하고 Wyatt Astra 7 소프트웨어를 데이터 수집 및 분자량 분석에 사용하였다.

[0511] **실시예 6: GAS 항원 및 항원-폴리사카라이드 접합체에 의해 유도된 항체 반응**

[0478] 항체 반응 생성된 정제된 GAS 항원 및 이의 접합체를 평가하기 위한 실험을 수행하였다. 간략하게, 토끼는 0일, 14일 및 28일째에 각각 50 μg의 지적된 항원 또는 접합체 또는 비히클 대조군으로 근육내 면역화시켰다. 동물은 면역화전 채혈(사전-채혈)하고, 면역화 후 7, 21, 및 35일 (최종 채혈)에 채혈하였다. 혈청은 각각의 혈액 샘플로부터 수거하고, 면역화 항원에 대한 항체 역가는 ELISA에 의해 평가하였다.

[0479] 항체 역가의 ELISA 분석을 위해, 지정된 제조업체 단백질 항원은 3 μg/웰의 농도로 멸균 PBS 중에 분주하였다. 높은 결합 평저 96-웰 플레이트에 준비된 항원 100 μL를 코팅하고 교반 없이 실온에서 밤새 항온처리하였다. 플레이트는 Aquamax 마이크로플레이트 세척기를 사용하여 100 μL PBS + 0.05% Tween 20으로 3회 세척하고 이어서 종이 타월 상에 무수 블롯팅하였다. 웰은 2시간 동안 100 μL의 시약 희석제 2로 차단하였다. 1% BSA와 함께 100 μL의 PBS가 또한 사용될 수 있다. 뚜껑으로 커버되고 밀봉된 플레이트는 3일 동안 4 ℃에서 블록 용액에 저장될 수 있다. 플레이트는 이어서 전과 같이 100 μL PBS + 0.05% Tween 20으로 3회 세척하였다.

[0480] 혈청 샘플은 샘플을 1x 시약 희석제 2 (전형적인 희석은 1:400 내지 1:10⁶)으로 희석시켜 제조한다. 100 μL의 제조된 혈청은 이어서 플레이트에 첨가하고, 2시간 동안 항온처리하였다. 플링된 면역화전 토끼 혈청은 음성 대조군으로서 사용하였고, 어떠한 토끼 혈청을 갖지 않는 웰은 백그라운드 대조군(background control)으로서 사용하였다. 플레이트는 전과 같이 100 μL의 PBS = 0.05% Tween 20으로 3회 세척하였다. 플레이트는 이어서 2시간 동안 100 μL의 HRP-접합된 염소-항 토끼 IgG (H+L) 2차 항체(1x 시약 희석제 2에 1:4000으로 희석시킴)로 항온처리하였다. 플레이트는 이어서 전과 같이 100 μL의 PBS + 0.05% Tween 20으로 3회 세척하였다. TMB 기질은 제조사의 지시에 따라 준비되었고, 동일한 용적의 시약 A와 시약 B가 실온에서 첨가되었다. 100 μL의 제조된 TMB 기질은 웰당 첨가하고, 플레이트는 30분 이하 동안 광으로 보호하면서 항온처리하였다. 50 μL의 2N 황산은 웰당 첨가하여 반응을 종료시켰다. ELISA 플레이트는 450 nm 및 540 nm에서 판독하고, 450 nm에서의 값으로부터 540 nm의 값을 공제하여 백그라운드에 대해 보정하였다. 역가는 백그라운드 대조군 + 백그라운드 대조

군의 3* 표준 편차의 컷오프:흡광도 값을 기준으로 결정하였다.

- [0515] [0481] 도 2에 나타난 바와 같이, ADI (서열번호 38), SLO (서열번호 32), C5a (서열번호 30), SpyCEP, Sib35, SpyAD (서열번호 33), 및 SpyAD-PS 접합체(pAMF-치환된 서열번호 34의 접합체)를 사용한 면역화는 채혈전 대조군과 비교하여 강력한 항체 반응을 유발하였다. Sfb1은 또한 시험되었지만, 약한 항체 역가를 생성하였다. 상이한 패널 내 각 개별 항원 확인자는 실험에서 상이한 토끼를 나타낸다.
- [0516] 실시예 7: GAS 혈청형으로의 GAS-항원 유발된 항체 결합
- [0517] [0482] 다양한 GAS 혈청형에 결합하는 GAS-항원 유도된 항체 반응의 능력을 평가하기 위한 실험을 수행하였다. 간략하게, 토끼는 0, 14 및 28일째에 20 µg의 SpyAD-PS 접합체 또는 50 µg의 C5a 펩티다제로 면역화시켰다. 동물은 면역화 전 채혈하고(면역 전 혈청) 면역화 후 7, 21, 및 35일에 채혈하였다(면역 혈청). 혈청은 각각의 혈액 샘플로부터 수거하였다.
- [0518] [0483] 모든 혈청 샘플은 55℃에서 30분동안 열 불활성화시켰다. 다양한 혈청형의 GAS는 OD₆₀₀=0.4로 성장시키고, 세척하고 2x10⁸ cfu/mL에서 동결시켰다. 동결된 GAS 스톡을 해동하고, 10% 염소 혈청을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 결합 검정을 위해, 100 µL의 차단된 GAS (염소 혈청과 함께)를 1.5 mL 마이크로 원심분리 튜브에 첨가하였다. 2 µL의 면역 전 또는 면역 혈청은 각각의 튜브에 첨가하였다. 샘플은 잘 혼합하고, 1시간 동안 실온에서 항온처리하였다. 샘플은 5분동안 3500 G에서 회전 하강시키고, 500 µL의 PBS로 1회 세척하였다. 샘플은 이어서 형광성 2차 항-토끼 2차 항체와 항온처리하였다. 샘플은 이어서 500 µL PBS에서 FACS 튜브로 이진시켰다. 형광성 신호 강도는 유동 세포측정에 의해 측정하였고, 면역 및 면역 전 혈청의 신호 강도를 비교하면서 FlowJo 소프트웨어를 사용하여 계산하였다.
- [0519] [0484] 도 3a는 M1 균주(1-21)에 대한 면역 전 혈청의 IgG-결합 대비 SpyAD-접합체(서열번호 34의 접합체)와의 면역화 후 혈청의 IgG-결합을 보여준다. 도 3b는 M1 균주(1-21)에 대한 면역 전 혈청의 IgG-결합 대비 C5a 펩티다제(서열번호 30)와의 면역화 후 혈청의 IgG-결합을 보여준다. 모든 임상적으로 관련된 GAS 균주에 대한 SpyAD 접합체 및 C5a 펩티다제로의 IgG 결합 정도는 도 3c에 나타내고, 둘다는 임상적으로 관련된 GAS의 >95%까지 강한 결합을 보여준다.
- [0520] [0485] 면역원성에 대한 GAS 백신 항원의 추가의 평가: 상기 프로토콜에 따라 동물은 Adju-phos(Invivogen)가 보강된 240 µL 총 용적의 숙시네이트 버거에서 SLO, C5a 펩티다제 또는 SpyAD-GAC 접합체 5 µg으로 면역화시켰다. 백신 접종에 의해 유발된 면역글로불린 g (IgG) 역가를 결정하고, 최종 채혈 (35일) 토끼 항혈청은 ELISA에 의해 평가하였다. 모든 3개의 단백질 항원(SpyAD, C5a 펩티다제, 및 SLO)에 대해, 재조합 단백질로 면역화된 토끼 그룹은 면역화 전 토끼로부터 풀링된 혈청 (“면역 전 (풀링된)”) 또는 다른 면역화된 토끼 그룹으로부터 풀링된 혈청과 비교하여 표적 항원에 대해 유의적으로 증가된 (3- 내지 4-log₁₀배) 항체 역가를 보여주었고 (도 3d, 각각의 포인트는 그룹 당 2 내지 3마리 동물과 함께 수행된 1마리 동물로부터 유래된 혈청을 나타낸다), 이는 각각의 항원에 대한 반응의 특이성을 확인시켜 준다. SpyAD-GAC 접합체에 의해 생성된 항-SpyAD 단백질 역가는 SpyAD 재조합 단백질 단독의 역가보다 열등하지 않았으며, 이는 주요 B 세포 에피토프가 pAMF 부위에 의해 영향을 받지 않았음을 시사한다. 상이한 M 단백질 혈청형(m1-6, M12, M28)의 8개의 생존 야생형 GAS 균주의 표면에 대한 토끼 유래 IgG의 결합 친화도를 평가하기 위해 유동 세포측정을 사용하였다. 크게 우세한 균주에 대해, 각각의 면역화된 혈청은 면역전 혈청의 기준선 IgG 결합에 비해 1000-400%의 결합 증가를 나타냈다(도 3e, 각 히스토그램의 우측 상단 모서리에 있는 숫자는 면역화된 혈청 신호에 비해 면역화된 토끼 혈청의 증가된 신호의 평균 퍼센트를 보여준다). 8개 균주 중 6개 균주의 경우, SpyAD-GAC 접합체에 대해 생성된 항혈청의 GAS 표면 결합은 SpyAD 단독에 대해 생성된 항혈청으로 나타나는 IgG 결합 수준을 대략 2배로 증가시켰다. 도 3f는 SpyAD 녹아웃 GAS로의 토끼 IgG 결합을 보여주고, 이는 고유 GAC로의 결합을 확인시켜준다.
- [0521] 실시예 8: 호중구 사멸 검정
- [0522] [0486] 항원 및 접합체-면역화된 토끼로부터의 면역 혈청이 GAS의 M1, M3, 및 M3 균주의 호중구 사멸을 유발하는 능력을 결정하기 위한 실험을 수행하였다. 토끼는 실시예 7에 기재된 프로토콜에 따라 지적된 항원으로 면역화시켰다. 단일 항원에 대해, 토끼는 50 µg의 항원으로 면역화시켰다. 접합체 항원에 대해, 토끼는 20 µg의 접합체로 면역화시켰다.
- [0523] [0487] 호중구 단리: 21G 버터플라이 바늘을 사용하여 건강한 지원자로부터 25mL 혈액을 진공 헤파린 튜브에 채취하였다. 호중구는 제조업체의 프로토콜에 따라 Polymorphprep을 사용하여 새로운 혈액으로부터 단리하였다.

면역 전 혈청, 면역 혈청 및 FBS를 포함한 모든 혈청은 검정에 사용하기 전에 가끔 혼합하면서 65℃에서 30분 동안 가열하였다.

[0524] [0488] 호중구 사멸 검정 프로토콜: GAS 균주의 밤새 배양물을 1:10의 비율로 Todd Hewitt 브로쓰(THB)에 접종하였다. 배양물이 OD₆₀₀=0.4에 도달한 경우, 배양물을 원심분리하고 5x10⁵ 콜로니 형성 단위(CFU)/mL로 10% 면역 전 또는 면역 혈청을 갖는 HBSS에 재현탁하였다. GAS 균주는 실온에서 30분동안 RPMI + 혈청에 유지시켰다. 제조된 호중구를 HBSS + 4% FBS + 4% 베이비 토끼 보체(BRC)에 5x10⁶ 세포/mL의 농도로 재현탁하였다. 100 μL 호중구 (5x10⁵ 세포)는 96웰 평저 플레이트에 씨딩하고, 각각의 조건은 3중으로 수행한다. 100 μL의 제조된 세균 (5x10⁴ cfu/웰)은 호중구의 각각의 웰에 첨가하였다. 접종된 세균은 연속 희석으로 혈액 한천 플레이트 상에 도말하고 이후 접종물 cfu를 계수한다. 96웰 플레이트를 500G에서 5분 동안 원심분리한 다음 37℃ + 5% CO₂에서 30분 동안 항온처리하였다. 30분 항온처리한 후, 샘플을 잘 혼합하고, 연속 희석으로 혈액 한천 플레이트에 도말하고, 37℃에서 밤새 배양하였다. GAS 콜로니를 계수하고 회수된 CFU에 대한 접종물 CFU의 % 비율을 % 생존률로 계산한다. 면역 전 혈청 그룹과 비교하여 % 사멸 증가는 먼저 면역전 및 면역 혈청 그룹 둘다에서 % 사멸 (100-% 생존률)을 계산함에 의해 계산하였다. 이어서, 면역 혈청 그룹의 사멸에서 % 증가는 면역 전 혈청 그룹의 % 사멸과 비교하여 계산하였다.

[0525] [0489] 도 4는 항원 ADI 1625 (서열번호 36), ADI 접합체 돌연변이체 1807 (pAMF-치환된 서열번호 38의 접합체), ADI 접합체 돌연변이체 1809 (서열번호 38의 접합체), SLO 1627 (서열번호 32), C5a 펩티다제 1630 (서열번호 30), SpyAD 1642 (서열번호 33), SpyAD-접합체 1644, 1630+1627+1644, 1630+1627+1809, 1630+1627, 및 M1에 의한 면역화로부터 비롯된 혈청이 면역전 혈청에 비해 GAS 혈청형 M1, M2, 및 M3의 사멸을 증가시키는 능력을 보여준다. pAMF-치환된 SpyAD 접합체는 서열번호 12의 펩타이드를 사용하여 제조하였고, ADI 접합체는 서열번호 20의 펩타이드를 사용하여 제조하였다.

[0526] 실시예 9: GAS 항원 및 접합체는 GAS 챌린지 후 생존률을 증가시키는 능동 면역 반응을 유발한다

[0527] [0490] 마우스는 피하 및 IP 주사에 의해 챌린지하기 전에 능동으로 면역화시켰다.

[0528] [표 5]

능동 면역화 실험 일정 - 피하 및 IP 챌린지

피하 챌린지 - 단계들	IP 챌린지 - 단계들
1 일: 제 1 면역화	1 일: 제 1 면역화
14 일: 제 2 면역화	14 일: 제 2 면역화
28 일: 제 3 면역화	28 일: 제 3 면역화
42 일: 감염 챌린지	41 일: 마우스 면도
49 일: 최종 실험	42 일: 감염 챌린지
	45 일: 마우스 안락사 및 병변 수거

[0529] [0491] 제1, 제2, 및 제3 면역화 - 피하 및 IP 챌린지: 항원/보조제 혼합물은 50 μL 알룸 (알하이드로겔)을 10 μg의 항원(들) 또는 5 μg의 접합체와 배합하고 왕성하게 혼합하여 항원이 알룸 상에 흡착되도록 방치함에 의해 제조하였다. 각 항원/보조제 혼합물을 26 ½ 게이지 바늘이 장착된 1mL 주사기에 넣었다. 각각의 마우스는 이소플루란을 흡입시켜 마취시키고, 100 μL의 제조된 백신을 뒷다리 근육에 주사하였다.

[0531] [0492] 챌린지를 위한 마우스의 제조 - 피하 챌린지: 마우스는 이소플루란으로 마취시켰다. 쥐의 등은 피부에 흠집이 나지 않도록 주의하면서 전기 면도기로 면도하였다. 제모 크림을 면도한 등에 바르고 젖은 종이 타월로 완전하게 닦아내기 전에 몇 분 동안 그대로 두었다. 마우스를 가볍게 두드려 건조시키고 이소플루란 처리로부터 회복되도록 하였다.

[0532] [0493] 챌린지를 위한 물질의 제조 - 피하 및 IP 챌린지: M1 89155 균주 GAS는 중간 로그 단계까지 성장시켰다. 세포 농도를 멸균 포스페이트 완충 식염수로 조정하고, 세균 용량을 확인하기 위해 세균을 연속으로 희석하고 한천상에 도말하였다. 피하 챌린지의 경우 마우스당 10 μL당 표적화된 CFU는 1x10⁶이었고 세균은 26½ 게이지 바늘이 장착된 500 μL Hamilton 주사기에 넣었다. 35일째의 IP 챌린지의 경우 마우스당 100 μL당 표적화된 CFU

는 1×10^7 이고 세균을 $26\frac{1}{2}$ 게이지 바늘이 장착된 1mL 주사기에 넣었다. 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취시키고 이어서 복강에 M1 89155 세균 $200 \mu\text{L}$ 를 주사하였다. 마우스는 정상 공기에서 마취로부터 회복되게 하였다. 마우스의 생존률은 하루에 여러 번 확인하면서 1주 과정 동안 추적하였다.

[0533]

[0494] **피하 챌린지 및 병변 수거:** 35일째의 피하 챌린지를 위해 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취시키고 이어서 Hamilton 주사기용 반복 디스펜서를 사용하여 $10 \mu\text{L}$ 의 M1 89155 세균을 면도한 등에 주사하였다. 병변 크기는 눈금자와 함께 이소플루란으로 마취된 마우스를 촬영하여 3일 동안 매일 추적하였다. 3일째에 병변을 수집하기 전에 각 피부 병변에 대해 1.0mm 실리카 비드 및 1mL PBS가 있는 멸균 2mL 나사 캡 튜브를 준비하였다. 각각의 튜브의 중량을 기록하였다. 3일째에, 병변이 완전하게 발병된 경우 마우스는 CO_2 및 경추 탈구로 안락사시켰다. 청결한 수술 장비를 사용하여, 각각의 피부 병변을 절단해내고 청량 전 튜브에 위치시켰다. 튜브 중량은 조직 질량 계산을 위해 기록한다. 튜브는 MagnaLyser 비드 비터(bead beater)에 위치시키고, 튜브는 60s 동안 6000 rpm에서 비팅하였다. 튜브는 이어서 빙상에 위치시켜 비팅 사이클을 반복하기 전 60s 동안 냉각시켰다. 샘플을 연속적으로 희석하고 용해물을 한천 상에 위치시켜 세균 부하를 정량하였다.

[0534]

[0495] 백신 접종 후 항원 특이적 항체 역가를 시험하기 위해 한 세트의 동물에서 실험 전체에 걸쳐 채혈하는 2개의 병행 실험을 수행하였다. 다른 아암에서 마우스는 실험 과정에서 채혈하지 않았다. 동물의 세트 둘다는 결국에 유사하게 챌린지하여 병변 크기 및 CFU/mg 분석을 수행하였다. 도 5a는 병변 크기 및 병변 CFU/mg에 의한 측정시 채혈-아암 활성 면역화 실험의 결과를 나타내며, 이는 본원 개시내용의 접합체가 폴리사카라이드 단독보다 더 양호하게 수행함을 입증한다. 유사하게, 도 5b는 병변 크기 및 병변 CFU/mg에 의한 측정시 비-채혈-아암 활성 면역화 시험의 결과를 보여주고, 여기서 SpyAD의 GAC 접합체(pAMF 치환된 서열번호 34의 접합체) 및 ADI(ADImut2 접합체는 pAMF-치환된 서열번호 27을 사용하고, ADImut5 접합체는 pAMF-치환된 서열번호 38을 사용한다)는 상응하는 단독의 단백질 보다 양호한 보호를 전달하였다. 최상의 보호는 C5a 펩티다제(서열번호 4)에 의해 부여되었다. 도 5c는 각각의 면역화 후 제1, 제2 및 제3 항체 역가를 보여준다. 도 5d는 능동 면역화를 진행하고 후속적으로 IP 챌린지를 받은 마우스에 대한 생존률 데이터를 보여준다. 일부 보호를 보인 유일한 그룹은 $30 \mu\text{g}$ 총 단백질과 함께 6-항원 조합을 투여한 그룹이었다.

[0535]

[0496] **항원 또는 항원 접합체 조합을 사용한 능동 면역화:** 상기와 같이, 마우스는 IP 주사에 의한 챌린지 전에 하나 이상의 항원 또는 항원 접합체로 능동으로 면역화시켰다.

[0536]

[표 6]

능동 면역화 실험 일정 - 피하 및 IP 챌린지

IP 챌린지 - 단계들
1 일: 제 1 면역화
14 일: 제 2 면역화
28 일: 제 3 면역화
42 일: IP 챌린지

[0537]

[0538]

[0497] 마우스 (그룹 당 $n=10$)는 8개 처리물 중 하나로 면역화시켰다: 모의 면역화(mock immunization) (PBS + 알룸); $5 \mu\text{g}$ 의 SpyAD-GAC 접합체 (pAMF-치환된 서열번호 34의 접합체); $5 \mu\text{g}$ 의 ADImut5-GAC 접합체(pAMF-치환된 서열번호 38의 접합체); $10 \mu\text{g}$ 의 C5a 펩티다제(서열번호 30); $10 \mu\text{g}$ 의 스트렙토라이신 0 (서열번호 32); $10 \mu\text{g}$ 의 C5a 펩티다제(서열번호 30) 및 $10 \mu\text{g}$ 의 스트렙토라이신 0 (서열번호 32)의 조합; $10 \mu\text{g}$ 의 C5a 펩티다제(서열번호 30), $10 \mu\text{g}$ 의 스트렙토라이신 0 (서열번호 32), 및 $5 \mu\text{g}$ 의 SpyAD-GAC 접합체(pAMF-치환된 서열번호 34의 접합체)의 조합; 또는 $10 \mu\text{g}$ 의 C5a 펩티다제 (서열번호 30), $10 \mu\text{g}$ 의 스트렙토라이신 0 (서열번호 32), 및 $5 \mu\text{g}$ 의 ADImut5-GAC 접합체(pAMF-치환된 서열번호 38의 접합체)의 조합. SpyAD 접합체는 서열번호 12의 펩타이드를 사용하여 제조하였고, ADImut5 접합체는 서열번호 20의 펩타이드를 사용하여 제조하였다.

[0539]

[0498] 도 5e는 IP 챌린지 후 단일 항원/항원 접합체 또는 2개의 항원/항원 접합체(조합)로 능동적으로 면역화된 마우스의 생존률을 보여준다. SLO과 함께 면역화된 마우스는 최고의 생존률을 가졌지만 어떠한 개별 또는 이중 항원 조합도 챌린지 6일 후에 100% 보호를 제공하지 못하였다. 특히, 마우스가 IP 챌린지 전에 삼중 조합으

로 능동적으로 면역화되었을 때, 6일 후에 100% 생존률이 관찰되었다. 이들 데이터는 도 5f에 나타낸다.

실시예 10: GAS 항원 및 접합체는 GAS 챌린지 후 생존률을 증가시키는 수동 면역 반응을 유발한다

[0499] 마우스는 IP 주사에 의해 챌린지하기 전에 수동으로 면역화시켰다.

[0500] 후속적으로 GAS가 챌린지된 마우스에게 전달되는 경우 GAS 항원 및 GAS 접합체-면역화된 마우스로부터 단리된 항-혈청에 의해 부여되는 보호를 평가하기 위한 실험을 수행하였다. 간략하게 토끼에는 0, 3 및 6주에 5 μ g의 ADI 항원 (서열번호 36), C5a 항원 (서열번호 30), Sfb1 항원(서열번호 28), SpyAD 항원 (서열번호 33), ADI:GAC 접합체 (pAMF-치환된 서열번호 38의 접합체), 또는 SpyAD:GAC 접합체 (pAMF-치환된 서열번호 34의 접합체)를 백신 접종하였다. 혈청은 8주차에 각각의 동물로부터 수거하였다.

[0501] 수동 면역화 - IP 챌린지: 해동된 토끼 혈청(마우스 당 대략 200 μ L)을 빙상으로 전달하고 30게이지 바늘이 장착된 1mL의 주사기에 넣었다. 중간 로그 단계로 성장 시킨 M1 89155 균주 GAS는 멸균된 포스페이트 완충 식염수로 희석하여 세포 농도를 조정하였다. 마우스당 100 μ L당 표적화된 CFU는 1×10^7 이고 세균을 26½ 게이지 바늘이 장착된 1mL 주사기에 넣었다. 토끼 혈청은 주사기에서 실온으로 가온시키고, 마우스는 이소플루란 흡입으로 마취시켰다. 200 μ L의 토끼 혈청을 마취된 각 마우스에 안와 후로 전달하였다. 혈청 전달 5분 후에, 200 μ L의 M1 89155 세균을 복강으로 주사하였고, 마우스는 정상 공기에서 이소플루란으로부터 회복되도록 방치하였다. 마우스의 생존률은 하루에 여러 번 확인하면서 1주 과정 동안 추적하였다.

[0502] 수동 면역화를 진행하고 후속 CAS 챌린지를 받은 마우스의 생존률은 도 6a 및 도 6b에 나타낸다. SLO 1627의 항원 및 항원 접합체 (pAMF 접합체), ADI-접합체 Mut5 1809, SpyAD 접합체 1644, C5a 펩티다제 1630, SLO+C5a 펩티다제, SLO+C5a+ADI-접합체, 및 SLO+C5a+SpyAD-접합체로 처리된 모든 그룹은 면역 면역화되기 전 코호트에 비해 개선된 생존률을 보여주었다.

실시예 11: GAS 항원 및 접합체는 GAS 챌린지 후 생존률을 증가시키는 수동 면역 반응을 유발한다

[0503] 마우스는 피하 주사에 의해 챌린지하기 전에 수동으로 면역화시켰다.

[표 7]

수동 면역화 실험 일정 - 피하 챌린지

피하 챌린지 - 단계들
-1 일: 마우스를 제조한다
0 일: 물질을 제조하고 혈청을 전달하고 챌린지한다
3 일: 병변 수거

[0504] 챌린지를 위한 마우스의 제조 - 피하 챌린지: 마우스는 이소플루란으로 마취시켰다. 쥐의 등은 피부에 흠집이 나지 않도록 주의하면서 전기 면도기로 면도하였다. 체모 크립을 면도한 등에 바르고 젖은 종이 타월로 완전하게 닦아내기 전에 몇 분 동안 그대로 두었다. 마우스를 가볍게 두드려 건조시키고 이소플루란 처리로부터 회복되도록 하였다.

[0505] 물질의 제조, 혈청 전달, 및 챌린지 - 피하 챌린지: M1 89155 균주 GAS는 중간 로그 단계까지 성장시켰다. 세포 농도를 멸균 포스페이트 완충 식염수로 조정하고, 세균 용량을 확인하기 위해 세균을 연속으로 희석하고 한천상에 도말하였다. 피하 챌린지의 경우 마우스당 10 μ L당 표적화된 CFU는 1×10^6 이었고 세균은 26½ 게이지 바늘이 장착된 500 μ L Hamilton 주사기에 넣었다. 토끼 혈청은 해동시키고, 30 게이지 바늘이 장착된 1 mL의 주사기에 넣기 전에 빙상에 전달하였다. 토끼 혈청은 주사기에서 실온으로 가온시키고, 마우스는 이소플루란 흡입으로 마취시켰다. 200 μ L의 토끼 혈청을 마취된 각 마우스에 안와 후로 전달하였다. 혈청 전달 5분 후, 10 μ L의 M1 89155 세균은 반복 디스펜서를 사용하여 마우스의 면도된 등에 주사하였고, 마우스는 정상 공기에서 이소플루란으로부터 회복하도록 방치하였다. 병변 크기는 눈금자와 함께 이소플루란 마취된 마우스를 촬영하여 3일 동안 매일 추적하였다.

[0506] 세균 부하 분석을 위한 병변 수거: 3일째에 병변을 수집하기 전에 각 피부 병변에 대해 1.0mm 실리카 비드 및 1mL PBS가 있는 멸균 2mL 나사 캡 튜브를 준비하였다. 각각의 튜브의 중량을 기록하였다. 3일째에, 병변

이 완전하게 발병된 경우 마우스는 CO₂ 및 경추 탈구로 안락사시켰다. 청결한 수술 장비를 사용하여, 각각의 피부 병변을 절단해내고 청량 전 튜브에 위치시켰다. 튜브 중량은 조직 질량 계산을 위해 기록하였다. 튜브는 MagnaLyser 비드 비터(bead beater)에 위치시키고, 튜브는 60s 동안 6000 rpm에서 비팅하였다. 튜브는 이어서 빙상에 위치시켜 비팅 사이클을 반복하기 전 60s 동안 냉각시켰다. 샘플을 연속적으로 희석하고 용해물을 한천 상에 위치시켜 세균 부하를 정량하였다.

[0507] 수동 면역화를 진행하고 GAS가 피하 켈린지된 마우스의 병변 크기 및 세균 부하 데이터는 도 7에 나타난다. 마우스(항원 및 항원 접합체 ADI (서열번호 36), ADI-접합체 (서열번호 38), SLO (서열번호 32), C5a 펩티다제(서열번호 30), sfb1 (서열번호 28), SpyAD (서열번호 33), SpyAD-접합체 (pAMF 치환된 서열번호 34의 접합체)로 처리된 n=10)는 면역 전 코호트와 비교하여 48시간 후 감소된 병변 크기를 나타냈고, 대부분의 아암에서 세균 부하는 72시간 후 상당히 낮았고, SpyAD 접합체가 세균 부하를 감소시키는데 최상으로 수행한다.

실시예 12: 사람 단계 I 및 단계 IIA 임상 시험 디자인

[0508] 초기 단계 I 임상 연구는 건강한 성인 18 내지 29세 연령 (N=96)에서 무작위 배정되고 위약 제어된 상승 용량 연구이다(표 3). 상기 초기 임상 연구의 대상은 안전성, 용량 반응 및 면역원성(IgG 항체)이다. 상기 연령 범위에서 많은 개체는 GAS에 대해 기존의 노출 및 면역력을 가질 것이기 때문에, 기준 면역력은 백신 반응에 대한 기준 면역 전의 영향을 이해하기 위해 완벽하게 평가된다. 각 백신 성분에 대한 IgG 반응 및 상이한 M 혈청형의 현대의 GAS 단리물의 다양한 패널에 대한 OPK 항체 역가가 평가된다.

[표 8]

단계 I 임상 시험 그룹				
단계 I 임상 시험 디자인				
그룹	N	처리	용량	스케줄
1A	24	GAS 백신	낮은	0 일, 28 일
1B	8	위약		0 일, 28 일
2A	24	GAS 백신	중간	0 일, 28 일
2B	8	위약		0 일, 28 일
3A	24	GAS 백신	높은	0 일, 28 일
3B	8	위약		0 일, 28 일

[0509] 단계 2A 임상 연구는 10 내지 17세 연령에 이어서 어린이 5 내지 9세 연령(N=96)의 개체의 연속 코호트에서 백신을 평가하기 위해 무작위 배정되고, 위약 제어된 멀티-센터 연구이다(표 4). 본 연구의 대상은 안전성, 면역원성(혈청의 IgG 항체 반응 및 옅소노식세포작용 활성), 및 예비 효능의 평가(GAS 인두염 발생률)이다. 각각의 환자는 12개월 동안 모니터링하여 치료 그룹에서 스트랩(step) 인두염의 발생률을 결정한다.

[표 9]

단계 IIA 임상 시험 그룹				
단계 IIA 임상 시험 디자인				
N	연령 (yr)	처리	용량	스케줄
36	10-17	GAS 백신	PI 에 의해 결정	0 일, 28 일
12	10-17	위약		0 일, 28 일
36	5-9	GAS 백신	중간	0 일, 28 일
12	5-9	위약		0 일, 28 일

실시예 13: GAS 접합체는 교차-반응성 실험에서 에스. 플렉스네리 (*S. flexneri*) 2a OPS에 결합하는 항-혈청의 생성을 유도한다

[0510] 정제된 GAS 접합체에 의해 생성된 항-혈청의 에스. 플렉스네리 (*S. flexneri*) 2a O-항원 폴리사카라이드 (OPS)로의 결합을 평가하기 위한 실험을 수행하였다.

[0511] OPS 정제: OPS는 빙초산으로 배양 pH를 3.5-3.7로 감소시키고, 비등 수욕조에 침지된 유리 병에서 4시간

동안 100 °C에서 항온처리함에 의해 wzzB를 과발현시켜, 증가된 OPS쇄 길이를 유도하고 발효 (아미노산이 보충된)의 조건화된 성장 배지에서 pSEC10-wzzB 플라스미드로 형질전환된 쉬켈라 세포 바이오매스에서 리포폴리사카라이드(LPS)로부터 직접 수거하였다. Sorvall RC5 냉장 원심분리기에서 GS3 로터(Rotor)를 사용하여 30분 동안 4 °C에서 10k x g에서 원심분리하여 가수분해 후 상등액을 불용성 물질로부터 분리하였다. 상등액 분획을 1 M NaCl로 유도하고 완전한 용적을 통과시킴에 이어서 등가 용적의 1M NaCl로 세정하면서, 4.5 psi 막관통 압력(TMP)에서 0.2 µm 중공 섬유 필터를 통한 점선 유동 미세여과에 의해 여과하였다. 이어서, 0.2µm-청결된 1M NaCl 투과물을 14psi TMP에서 30kDa Hydrosart TFF 막에서 10배 농축하고 1M NaCl의 35 정용용적에 대해 정용여과한 다음 50mM Tris pH 7의 10 정용용적에 대해 정용여과하였다.

[0563] [0512] 이어서 20mM Tris pH 7, 50mM NaCl의 잔류물 분획을 20mM Tris pH 7, 50mM NaCl에서 10mL/min로 AKTA 정화기를 사용하여 직렬로 연결된 3 x 3mL Sartobind NanoQ 음이온 교환 막을 통과시켰다. 통류 분획을 25%(v/v) 황산 암모늄으로 유도하고 4 °C에서 밤새 항온처리하였다. 침전된 물질은 Sorvall RC5 냉장 원심분리기에서 GS3 로터를 사용하여 10k x g/4 °C에서 30분 동안 원심분리한 후 0.45µm Stericup 진공 필터 유닛(Millipore, MA)을 통해 여과하여 제거하였다. 이어서 여과물을 7.5psi TMP에서 10kDa Hydrosart 막을 사용하는 Slice 200 TFF 장치를 사용하여 TFF로 10배 농축하고 10 정용용적의 탈이온수에 대해 정용여과하였다. TFF 잔류물을 동결건조시키고 사용때까지 -20 °C에서 저장하였다.

[0564] [0513] 번역화: 간단히 말해서, 실시예 6의 프로토콜에 따라 토끼를 ADI-mut2, ADI-mut5, 및 SpyAD 접합체로 근육내 번역화시켰다.

[0565] [0514] 혈청 IgG ELISA: 각각의 최종 채혈에서 혈청을 수거하고 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*) 2a OPS에 대한 혈청 IgG 항체 역가를 ELISA로 평가하였다. 2a OPS 항원에 대한 작동 용액은 다음과 같이 제조하였다: 5.0 µg/ml의 정제된 2a OPS는 카보네이트 코팅 완충액 pH 9.6에서 희석시켰다. 이어서, 플레이트의 각 웰에 100µl의 작동 용액을 첨가하여 Immulon 2HB "U" 바닥 미세여과 플레이트(Thermo Labsystems #3655)를 코팅하였다. 플레이트는 이어서 3시간 동안 37° C에서 항온처리하였다. 상기 항온처리 후, 플레이트를 PBS-Tween(0.05%)으로 6회 세척하고 세척 사이에 2분의 담금 시간을 두었다. 그런 다음 플레이트를 250 µl/웰의 10% 무지방 건조 밀크(NFDM)를 함유하는 1X PBS로 4° C에서 밤새 차단하였다. 차단 후, 플레이트는 상기된 바와 같이 다시 세척하였다.

[0566] [0515] 시험 샘플(토끼 혈청) 및 채혈전 대조군을 PBS-Tween 10% NFDM에서 희석시키고 플레이트에 첨가하였다. 표본 및 대조군은 각 플레이트에서 수행된 일련의 희석으로 이중으로 시험하였다. 플레이트는 1시간동안 37° C에서 항온처리하고 이어서 상기된 바와 같이 PBS-Tween으로 세척하였다. 이어서, 서양고추냉이 퍼옥시다제(HRP)-표지된 항-토끼 IgG(Invitrogen #65-6120)를 PBS-Tween 10% 무지방 분유(NFDM)에서 1:2000으로 희석하였다. 모든 웰에 100µl의 적절한 항체 용액을 수용시키고 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 항온처리하였다. 플레이트를 다시 세척하고 100 µl의 TMB 마이크로웰 퍼옥시다제 기질(Microwell Peroxidase Substrate)(SeraCare #5120-0047)을 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트는 교반과 함께 암실에서 15분동안 실온에서 항온처리하였다. 모든 웰에 1M 인산 100µl를 첨가하여 비색 반응을 중단시켰다. 450nm에서의 흡광도 값은 Multiskan FC™ 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 즉시 측정하였다.

[0567] [0516] 도 8은 역가 분석 결과를 보여준다. 특히, 모든 3개의 GAS 접합체, ADI-mut2 (pAMF 치환된 서열번호 27의 접합체), ADI-mut5 (pAMF 치환된 서열번호 38의 접합체), 및 SpyAD (pAMF-치환된 서열번호 34의 접합체)로부터 유래된 혈청은 채혈 전 대조군에 비해 1:10 희석에서 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*) 2a OPS에 결합하는데 최대 약 60배 증가를 나타냈다.

[0568] 실시예 14: GAS 접합체는 혈청 살균 검정(SBA)에서 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*) 균주에 대한 살균 활성을 입증한다.

[0569] [0517] GAS 접합체-면역화된 토끼로부터의 면역 혈청이 에스. 플렉스네리 균주의 호중구 사멸을 유발하는 능력을 결정하기 위한 실험을 수행하였다. 살균 검정을 수행하기 전에 실시예 7에 기재된 프로토콜에 따라 지적된 접합체로 토끼를 면역화시켰다. 간략하게, 혈청 살균 검정(SBA) 및 콜로니의 디지털 이미지 분석은 이전에 기재된 방법에 따라 수행하였다(문헌참조: Nahm, et al. mSphere, 2018, 2018 June 13;3(3), pii: e00146-18 및 SBA 프로토콜 거기에 연결).

[0570] [0518] 표 9는 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*) 2a, 3a 및 6에 대한 SpyAD 접합체 1645 (pAMF-치환된 서열번호

34의 접합체) 및 ADI 접합체 돌연변이체 1807, 1808, 1809, 및 1810 (pAMF-치환된 서열번호 38의 접합체)에 의한 면역화로부터 비롯된 혈청의 살균 능력을 보여준다. 나타난 값은 SBA(혈청 살균 활성) 역가이고, 5개 접합체 모두 면역 전 대조군에 비해 살균 활성을 입증하였다. 에스. 손네이(*S. sonnei*)에 대한 사멸은 관찰되지 않았고, 따라서 상기 아암의 역가는 시험된 최저 희석의 절반으로 보고된다. PnQC19, 사람 대조군 혈청을 사용하여 이전에 기재된 바와 같이 쉬겔라 SBA 역가를 정규화하였다(문헌참조: Nahm, et al. mSphere, 2018, 2018 June 13;3(3), pii: e00146-18). 에스. 플렉스네리 6에 대해 나타난 역가는 미가공 역가의 평균 (2개 실험)이다. 에스. 플렉스네리 6에 대해 PnQC19 값이 할당되지 않는다.

[0571] [표 10]

토끼 GAS 항체의 혈청 살균 활성

접합체	에스. 플렉스네리(<i>S. flexneri</i>) 2a	에스. 플렉스네리 3a	에스. 플렉스네리 6	에스. 손네이(<i>S. sonnei</i>)
면역 전 혈청	nd	nd	233	nd
1645	1301	1333	980	30
1807	384	2496	553	30
1808	671	703	394	30
1809	487	1325	1401	30
1810	1654	652	532	30
PnQC19	28000	19000	6915	1100

[0572]

[0573]

실시예 15: SpyAD-GAC를 사용한 면역화는 사람 심장 에피토프에 교차 반응하는 항체의 검출 가능한 수준을 유발하지 않는다

[0574]

[0519] SDS-함유 변성 부하 염료와 함께 다양한 양의 정상 성인 사람 심장 조직 용해물(Novus Biologicals cat# Nb820-59217)은 iBlot (Thermo Fisher) 상에서 제조업자의 프로토콜을 사용하여 PVDF 막 상으로 전달하기 전 4-12% Bis-Tris 겔을 사용하는 SDS-PAGE에 의해 분리하였다. 최종적으로, 블롯은 1시간동안 주위 온도에서 차단하고 이어서 GAS 항원 각각에 대해 생성된 토끼 항혈청(1:1000으로 희석된)으로 프로빙하였다. 3회 30분 세척 후, HRP 접합된 항-토끼 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., Cat # 211-035-109) 2차 항체 (1:10,000로 희석된)를 첨가하고, 화학발광은 피코 기질 (Thermo Fisher Scientific Cat # 34580)과 블롯의 항온처리 후 Syngene G-Box F3 이미지 스캐너 상에 기록하였다. 모든 블롯 차단, 세척 및 항체/혈청 희석은 TBS + 5% BSA에서 수행하였다.

[0575]

[0520] 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분리된 정상 사람 심장 용해물에 대한 SLO, C5a 펩티다제 및 SpyAD-GAC 토끼 면역 혈청의 웨스턴 블롯 분석을 수행하였다. 동일한 토끼 면역화 프로토콜을 사용한 온전한 GAS M1 단백질에 대해 생성된 항혈청은 대조군으로서 사용하였다. 도 11에 나타난 바와 같이, 항-M1 항혈청은 용해물의 매우 높은 분자량의 성분과 반응하면서, 사람 심장 조직에 대한 어떠한 교차-반응성이 SLO (서열번호 8), C5a 펩티다제 (서열번호 4) 및 SpyAD-GAC (pAMF-치환된 서열번호 12의 접합체) 항혈청에 대해 나타나지 않았지만, 이들은 각각의 동족 GAS 단백질 (또는 SpyAD-GAC의 경우 단백질 캐리어)을 인지하였다. 상기 분석은 (a) 사람 단백질에 대한 SLO, C5a 펩티다제 또는 SpyAD의 서열 상동성의 결여, 및 (b) GAC가 일반적인 포유동물 당 에피토프를 나타내는 GlcNAc 측쇄의 유전자 결실 후, 사람에 존재하지 않는 당인 반복 람노스로만 구성된다 는 사실과 일치한다.

[0576]

실시예 16: 절단된 SLO 펩타이드는 토끼 및 뮌헨 모델 둘다에서 발현되었고 이들의 면역원성에 대해 평가되었다

[0577]

[0521] 절단된 SLO 변이체는 예를 들어, 상기 방법에 따라 발현되었다. 도 15는 서열번호 44 내지 서열번호 53 (TEV 절단 후)에 상응하는 10개의 상기 변이체 서열(Δ C11, Δ C21, Δ C31, Δ C41, Δ C51, Δ C61, Δ C71, Δ C81, Δ C91, 및 Δ C101)의 그래프 제공을 보여준다. 도 16은 이들의 상응하는 겔과 함께 전체 및 가용성 단백질 농도 둘다에서 이들 변이체의 발현을 보여준다. 이것은 각각의 변이체에 대해 관찰된 차등적 절단 패턴을 주목할 가치가 있다. Δ C41 및 Δ C51과 같은 일부 변이체는 50 kDa 주위에서 여러 가깝게 용출하는 밴드를 갖는 반면, Δ C31 또는 Δ C81과 같은 변이체는 이들의 분자량에 상응하는 임의의 식별가능한 밴드를 보여주지 않는다.

- [0578] [0522] 도 17은 His Trap 크로마토그래피에 의한 초기 정제 후 절단된 SLO 변이체를 포함하는, 여러 펩타이드의 발현을 비교한다. 변이체 ΔC91 및 ΔC101은 일부 보다 작은 절단 단편과 함께 단백질의 올바른 분자량에 상응하는 단일의 특유의 밴드로서 발현하였다. 도 18 및 도 19는 HisTrap (도 18) 및 크기 배제 크로마토그래피 (도 19)에 의한 TEV 절단 및 추가의 정제 단계 동안에 SLO, 및 변이체 ΔC91 및 ΔC101을 비교한다.
- [0579] [0523] *면역화된 토끼 혈청의 생성*: 토끼는 상기된 것들과 유사한 프로토콜을 사용하여 알룸 + 50 μg의 SLO, SLO ΔC91, 또는 SLO ΔC101로 근육내 면역화시켰다. 동물을 채혈하고 0, 7, 21 및 35일째에 혈청에 대해 각각의 항원에 대한 ELISA 역가를 수행하였다. 도 20은 3개의 SLO 변이체 각각에 대한 ELISA 역가를 보여준다.
- [0580] [0524] *다가의 당접합체 백신을 사용한 면역화는 전신 및 피내 GAS 챌린지에 대해 유의적인 보호를 제공한다*: CD-1 마우스는 SpyAD-GAC + SLO(ΔC101) + C5a 펩티다제의 3개 성분/4개 GAS 항원 제형의 강력한 보호 효능에 대한 증진된 세균 제거의 기여를 조사하기 위해 0일, 14일 및 28일에 항원의 근육내 주사로 능동적으로 면역화시켰다. 마우스 혈청은 챌린지 후 42일에 9마리의 면역화된 (및 10마리의 모의 면역화된) 동물로부터 수거하였고, 이들 항혈청의 효능은 새롭게 단리된 사람 호중구에 의한 M1 GAS의 생체외 OPK 사멸을 촉진시키는 것에 대해 시험되었다(도 21). GAS가 면역 후 SpyAD-GACPR290 + SLO(ΔC101) + C5a 펩티다제 마우스 항혈청으로 옅소닌화되었을 때, M1 GAS의 본래의 접종물의 ~20%가 호중구 노출 후 회복되었고, 이는 GAS가 모의 면역 마우스 혈청으로 옅소닌화된 292의 대조군 연구에서 ~60% CFU 회복과 비교되었다(도 21, P < 0.01). 또한, SpyAD-GACPR + SLO(ΔC101) + C5a 펩티다제 또는 모의 (PBS 및 보조제 단독) 대조군으로 면역화된 마우스는 피내 M1 GAS 감염을 사용하여 챌린지하였다. 수득한 급성 염증 반응에 의해 생성된 괴사성 병변의 크기는 2개의 그룹 간에 유의적으로 상이하지 않았지만(도 22a 및 22b), 회복된 세균 CFU/gm은 SpyAD-GACPR + SLO(ΔC101) + C5a 펩티다제 면역화된 그룹에서 감염 부위에서 절제된 조직에서 2배 초과로 감소되었다(도 22c, P = 0.0012).
- [0581] [0525] *SLO 변이체에 대한 기능적 항체의 존재를 평가하기 위한 적혈구 세포 용혈 검정*. SLO 절단된 변이체에 대한 항혈청은 적혈구 세포에 첨가되는 경우 상응하는 SLO의 용혈 활성을 차단시키는 이들의 능력에 대해 시험되었다. 도 23은 0.1 μg/mL의 재조합 SLO가 적혈구 세포 및 항혈청을 갖는 웰에 첨가된 경우의 결과를 보여준다. 전장 SLO 및 SLO(ΔC101) 항혈청은 세포 용해를 차단시키지만, SLO(ΔC91) 항-혈청은 용해를 차단시키지 않는다.
- [0582] [0526] *GAS 옅소노식세포작용 사멸 및 SLO 활성 차단에서 백신 항혈청의 평가*: GAS 백신 항원 (SLO, C5a 펩티다제, SpyAD 및 SpyAD-GAC)에 대해 생성된 토끼 항혈청이 사람 호중구 옅소노식세포작용 사멸(OPK)을 촉진시키는 능력은 5개의 상이한 M 단백질 혈청형 (M1-M5)의 GAS 균주를 사용하여 평가하였다. 상기 검정은 각각의 열-불활성화된 항혈청 또는 면역 전 혈청 대조군으로 옅소닌 처리 후 30분에 이어서 2% 아기 토끼 상보체의 존재하에 호중구 당 감염 다중도(MOI)=0.1에서 새롭게 단리된 사람 호중구에 30분 노출로 수행하였다. 모든 항혈청은 GAS의 단기 OPK에서 통계학적으로 유의적인 증가를 유도하였다(도 24a). 상기 검정은 MOI = 0.00140 또는 MOI = 0.000141에서 사람 전골수구성 백혈병 HL-60 세포주를 사용하는 공개된 OPK 분석보다 100~1,000배 더 큰 GAS 접종물을 사용하여 1차 사람 선천성 면역 세포 기능을 지원하는 면역화 표적을 보다 정확하게 요약한다. 항혈청은 SpyAD 단백질에 대해 생성시키고 SpyAD-GAC는 유사하게 수행하였다. 더욱이, 일관된 총 혈청 농도를 유지하기 위해 SLO, C5a 펩티다제 및 SpyAD-GAC에 대해 생성된 각 항혈청의 1/3로 구성된 조합 항혈청은 개별 성분과 유사하거나 보다 우수한 성능을 나타내어 이들의 OPK 기능에서 교차 253 간섭이 없음을 지적한다. SLO는 GAS 표면에 고정되지 않은 분비된 세포독소이기 때문에 증진된 호중구 사멸에 대한 이의 기여는 식세포 흡수의 증가가 아니라 SLO 매개 막 손상 및 호중구 항미생물 기능의 손상을 감소시켜 누적된다. 항-SLO 토끼 면역 혈청은 SLO 또는 SLO(ΔC101) 항원에 의해 유발되었는지 여부에 관계없이 사람 적혈구에 대한 정제된 SLO의 용혈 활성을 최대 1:2,048의 희석까지 유의적으로 억제하였다(도 24b). 또한, 항-SLO 또는 항-SLO(ΔC101) 면역 혈청은 GAS 상등액(SLO)-매개 억제에 대해 호중구 산화 버스트 기능(과산화물 생성)을 동등하게 보존하였다(도 24c).
- [0583] [0527] *추가 혈청형은 상기된 방법과 유사하게 수행된 IgG 결합 검정에서 시험하였다*. 3회 용량 면역화(0, 14 및 28일에 항원의 근육내 주사) 후 42일째에 9마리의 면역화된 (및 10마리의 모의 면역화된) 동물로부터 마우스 혈청을 수거하고, 생 GAS 균주에 대한 IgG 결합에 대해 이들 항혈청의 효능을 유동 세포측정을 통해 시험하였다. 혈청은 모의 또는 조합 SpyAD-GACPR + SLO(ΔC101) + C5a 펩티다제로 3회 용량으로 면역화된 암컷 CD-1 마우스로부터 수거하였다. 도 25a 및 25b는 유동 세포측정에 의해 정량화된 바와 같이 다중 혈청형의 GAS 표면 항원에 결합된 모의 항혈청 (명(light) 히스토그램) 또는 다가 조합 항혈청 (암(dark) 히스토그램)으로부터 묶인 IgG의 형광성 강도를 보여준다. 평균 형광 강도는 개별 마우스 혈청을 나타내는 각 포인트와 함께 컬럼 산점도에 요약되어 있다(원은 모의 치료 마우스이고 정사각형은 치료 그룹 마우스이다). 메티실린-내성 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) USA300은 IgG 결합의 GAS-특이성을 보여주기 위한 대조군으로서

첨가되었다.

실시예 17: 3개 또는 4개 nnAA를 갖는 절단된 SLO(Δ C101) 폴리펩타이드가 발현되고 접합되었다

[0528] nnAA를 함유하는 절단된 SLO(Δ C101) 변이체는 예를 들어, 상기 방법에 따라 발현시켰다. 변이체는 3 또는 4개의 pAMF 잔기를 함유하고, 서열번호 55 내지 서열번호 64에 상응한다. 서열번호 54는 nnAA 함유 잔기 모두를 함유한다. 도 26은 이들의 상응하는 겔과 함께 전체 및 가용성 단백질 농도 둘다에서 이들 10개 변이체의 발현 수준을 보여준다. 정제는 이전에 기재된 바와 같이 진행하였다. 간단히 말해서, 0.75ml/min으로 미리 평형화된 hisTRAP excel 1ml 컬럼에 부하하기 전에 CFPS를 수거하고, 회전 하강시키고, 여과하고 6ml의 최종 용적에서 250mM 이미다졸의 단일 단계로 용출시켰다. 5 μ l의 각각의 단계 분획물은 SDS-PAGE를 사용하여 분석하였다. 도 27a는 hisTRAP에 의한 초기 정제 후 변이체의 겔을 보여준다. 이어서 hisTRAP 용출 분획물은 AEX 컬럼상으로 부하하기 전에 최종 염 농도를 50mM NaCl로 만들기 위해 50mM Tris pH8에서 3x 희석하였다. FT 및 용출 분획물 둘다는 SDS-PAGE 분석을 사용하여 분석하여 각각의 변이체의 존재를 검출하였다. 도 27b는 제2 정제 단계 후 변이체의 겔을 보여준다. 표 11은 2-2.5 mL의 용액으로부터 회수 후 발현된 변이체의 최종 농도를 보여준다.

[표 11]

정제 후 최종 변이체 농도

단백질명	농도 (mg/ml)
SLO(Δ C101)-var1	0.8
SLO(Δ C101)-var2	1.0
SLO(Δ C101)-var3	0.6
SLO(Δ C101)-var4	1.0
SLO(Δ C101)-var5	1.2
SLO(Δ C101)-var6	2.7
SLO(Δ C101)-var7	2.3
SLO(Δ C101)-var8	1.0
SLO(Δ C101)-var9	2.2
SLO(Δ C101)-var10	1.6

[0529] SLO (Δ C101) 변이체는 상기된 바와 같이 DBCO-유도체화된 GAC에 접합시켰다. 도 28은 각각의 변이체에 대한 특정 접합 조건을 보여준다. 접합 반응은 도 29에 나타난 바와 같이 SDS page에 의해 분석하였다. 각각의 겔의 제1 레인은 접합 전 단백질을 보여준다. 최종 접합체 크기는 SEC-MALS에 의해 결정하였고, 이의 결과는 도 30에 나타난다.

실시예 18: 3 또는 4개 nnAA를 갖는 절단된 SLO(Δ C101) 폴리펩타이드를 무린 모델에서의 면역원성과 용혈 역가에 대해 평가하였다.

[0530] 실시예 17의 3- 및 4-pAMF SLO(Δ C101) 변이체, 및 이들의 폴리사카라이드 접합체는 실시예 9에서 상기된 바와 같은 방법에 의해 무린 모델에서 평가한다. 마우스를 0, 7 및 14일째에 면역화시키고, 희생 후 21일에 최종 채혈을 수행하였다.

[0531] 실시예 17의 pAMF-치환된 SLO(Δ C101)-var1, SLO(Δ C101)-var5, SLO(Δ C101)-var6, 및 SLO(Δ C101)-var10(서열번호 55, 59, 60, 및 64에 상응하는)의 각각의 폴리사카라이드 접합체 5 μ g을 사용하여 마우스를 면역화시켰다. 최종 채혈 후 측정된 SLO(Δ C101)에 대한 항체 역가는 도 31a에 나타난다. 동일한 변이체 및 이들의 GAC 접합체는 또한 실시예 16의 프로토콜에 따른 용혈 검정에서 평가하였다. 상기 결과는 도 31b에 나타난다. 도 31c는 또한 최종 채혈 후 측정된 항체 역가를 나타내지만, 상기 ELISA는 코팅 항원으로서 SLO(Δ C101)보다 긴 폴리사카라이드(실시예 19의 방법에 의해 생성됨)를 사용하였다. 함께 이들 데이터는 pAMF-치환된 변이체 SLO(Δ C101)-var1, SLO(Δ C101)-var5, SLO(Δ C101)-var6, 및 SLO(Δ C101)-var10의 접합체가 개별적으로 PS 및 펩타이드 성분 둘다에 대한 항체를 생성함을 보여준다.

- [0592] 실시예 19: 보다 높은 분자량 (긴) 폴리스카라이드의 발현, 정제 및 집합
- [0593] [0532] GAS 세균 배양물로부터 GAS 폴리스카라이드를 추출하고 정제하기 위한 실험을 수행하였다.
- [0594] [0533] *염기 가수분해*: 제조된 GAS 세포 펠릿은 50 mM NaCl 용액 중에 재현탁시켰다. 혈청학적 피펫을 사용하여 50mL NaCl을 첨가하고 재현탁될 때까지 와동시켰다. 10N 수산화나트륨 및 1M 붕소수산화나트륨을 4N NaOH 및 25mM NaBH₄의 최종 농도에 도달하도록 첨가하였다. 재현탁된 펠릿을 1L 발효 용적당 160mL의 최종 표적 용적으로 원심분리기 병 사이에 분할하였다. 용액을 분할할 때 균질성을 보장하기 위해 일정한 소용돌이가 사용되었다. 병을 65° C에서 2시간 동안 예열된 항온처리기의 진탕기에 위치시켰다. 항온처리 후, 가수분해 용액을 25° C에서 14,000 x g에서 30분 동안 원심분리하여 임의의 세포 잔해를 펠릿화하고, 원심분리 전에 가수분해 샘플이 확실하게 실온으로 냉각되도록 하였다. 펠릿이 파괴되지 않도록 하기 위해 원심분리가 중단된 후 상등액을 수거하고 상등액을 pH 6.5 ± 0.3으로 중화시켰다. 중화시키는 경우, 병을 37% HCl을 사용하여 pH를 조정하고 필요한 경우 추가 조정을 위해 1M NaOH를 사용하여 4° C 빙욕조에 위치시켰다. 이어서 샘플은 4° C에서 밤새 항온처리한다.
- [0595] [0534] *여과*: 항온처리 후, 백색 침전물이 형성된다. 용액은 30분동안 10,000xg에서 원심분리하였다. 숙주 세포 단백질(HCP)을 포함하는 용적이 큰 흰색 펠릿이 형성된다. 투명한 상등액을 수거하였다. 37% HCl을 사용하여 pH를 3.0으로 조정하고, 용액을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. Clarisolve 필터 μPod -40Ms를 사용하여, 샘플을 여과하였다. 예를 들어: 23mL/min의 펌프 유속에서, 물은 프라임될때까지 필터를 통해 세정하고, 밸브는 이어서 개방하고 120mL 용적으로 세정하고, 120 mL의 용적에 대해 15mM NaCl을 사용하여 평형화시켰다. 추출물은 23mL/min의 동일한 펌프 유속에서 필터를 통해 전개하고, 필터로부터 나오는 투명한 투과물을 수거하였다. 필터는 60mL의 15mM NaCl로 세척하고, 튜브 및 필터 내용물을 세정 제거하였다. 필터는 버렸다. 샘플 pH는 6.5 ± 0.3으로 재조정하였다. 이어서 접선 유동 여과(TFF-10k)를 수행하여 염을 제거하고, 농축시키고 (한외여과하고) 이어서 완충액은 10 mM NaCl 중에서 교환(정용여과하고)하였다.
- [0596] [0535] *뮤타노라이신 처리*: 1M MgCl₂ 최종 농도에 도달하도록 1M MgCl₂를 첨가하고, pH 6.8에서 20mM 인산나트륨의 최종 농도에 도달하도록 200mM 인산나트륨(10x)을 첨가함에 의해 뮤타노라이신 처리를 위한 용액을 제조하였다. 120 IU/mL을 도달하도록 뮤타노라이신 용액(5000 IU/mL). 샘플은 진탕과 함께 밤새 37° C에서 항온처리하였다.
- [0597] [0536] *프로테이나제-K 처리*: 이어서 샘플은 프로테이나제-K 용액을 첨가하여 40 IU/mL의 최종 농도 (45u/mg에서 프로테이나제-K)를 달성함에 의해 프로테이나제-K로 처리하였다. 혼합물은 약하게 혼합하면서 밤새 50° C에서 항온처리하였다.
- [0598] [0537] *침전 및 여과*: 샘플 중에 효소, 핵산 및 HCP를 침전시키기 위해, 30 °C에서 1시간동안 진탕시키면서 pH 6.8에서 20mM의 인산나트륨 완충액 중의 CTAB를 첨가하였다. 사용되는 용액은 모두 예비 가온하였다: PS 샘플, 5% CTAB 스톱 용액 및 200mM Na 포스페이트 pH 6.8. PS 용액을 가열하면서 혼합(자기 교반 막대)하고 가열된 교반 플레이트에 내부 온도계를 설치하여 용액의 온도를 항상 모니터링하였다. 200mM의 인산나트륨 (pH 6.8) 용액은 PS 용액에 첨가하여 20 mM 인산나트륨의 최종 농도에 도달하게 하였다. 5% CTAB는 1% CTAB 농도에 도달하도록 PS 용액에 첨가하였다. 용액은 1시간동안 혼합되도록 방지하였다. 40MS 필터를 사용하여 침전 용액에 대해 침출 여과를 수행한다. 예를 들어, 시스템은 23 mL/min의 펌프 유속에서 200 mL MilliQ H2O로 세정하고, 벤트에서 물이 나오기 시작하면 폐쇄하여 용액이 출구에서 강제로 나오게 한다(프라임). 이어서 시스템은 20 mM 인산나트륨 (pH 6.8) 및 15 mM NaCl의 75 mL의 용액으로 세정하였다. 샘플은 23 mL/min으로 여과하고, 20 mL/min에서 60 mL의 20 mM 인산나트륨(pH 6.8) 및 15 mM NaCl 용액으로 세정하였다. 투과물은 기포가 용출될때까지 수거하였다. 필터는 버렸다.
- [0599] [0538] PS 용액 및 274 mM KI를 30° C로 가온하였다. 27.4 mM KI의 최종 농도를 달성하기 위해 충분한 274 mM KI를 혼합 PS 용액에 첨가하였다. 혼합물은 1시간동안 혼합하면서 30° C에서 항온처리하였다. 용액은 30° C에서 항온처리 후, 30분 동안 10,000xg에서 원심분리하였다. 상등액을 수거하고 펠릿을 버리고 펠릿이 쉽게 부서지므로 주의한다. 상등액은 이어서 0.45 μm 필터를 통해 진공 여과하였다.
- [0600] [0539] 샘플을 먼저 TFF-10k로 농축시키고 이어서 350mM NaCl의 9DV 및 최종적으로 MilliQ 물을 사용한 2DV로 정용여과하였다. 예를 들어, TFF 시스템 용적은 약 35mL이고, 펌프 유속은 200mL/min으로 설정되고, 정용여과는 완충액 TMP: 7-8 psi의 9 DV (50 mL)로 수행한다.

- [0601] [0540] 이어서 폴리사카라이드 용액은 3 M 염화나트륨 및 50 mM 인산나트륨 pH 6.8로 예비 평형화된 HiPrep™ 부틸 패스트 플로우 16/10을 사용하는 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 염화나트륨 및 포스페이트 완충액을 폴리사카라이드 용액에 첨가하여 3 M 염화나트륨 및 50mM 인산칼륨 (pH 6.8)에 도달하도록 하였다. 폴리사카라이드 용액을 HIC 수지 상에 통과시키고 통류 모드로 작동시켰다. 수지를 동일한 평형 완충액으로 세척하고 통류물 및 세척액 둘다를 추가 가공을 위해 수거하였다.
- [0602] [0541] 15 mM NaCl 또는 WFI의 9DV에 대해 정용여과함에 의한 PS 샘플 중에서 높은 NaCl 내용물을 제거하기 위해 최종 TFF 10kDa/ 3kDa를 수행하였다. 정제된 PS 용액은 이어서 0.22 μ m 여과하였다.
- [0603] [0542] 도 36a, 도 36b, 및 도 36c는 GlcNAc가 부재인 PS를 발현하는 GAS 세균 균주로부터 기원하는, 합성 실시예 1에 의해 생성된 정제된 폴리사카라이드의 NMR 분석을 보여준다(PCT/US2012/049604 참조). NMR은 폴리람노스의 존재 및 GlcNAc의 부재를 확인시켜 준다. 샘플 제조를 위해, 정제된 폴리사카라이드 용액은 동결건조시키고 내부 표준물질로서 첨가된 TSP와 함께 D₂O로 교환하였다. 양성자 NMR 스펙트럼은 400 MHz 장비 상에서 50 ° C에서 획득하고, 40 스캔에 대해 신호를 평균화한다. 0.2Hz의 라인 확장이 적용되었다. 정제 프로토콜은 또한 도 37의 웨스턴 블롯에 의해 입증된 바와 같이 M-단백질이 없는 정제된 폴리사카라이드를 생성할 수 있었다.
- [0604] [0543] 긴 폴리사카라이드의 유도체화 및 접합: 보다 높은 분자량 (긴)의 폴리사카라이드는 상기 방법 (실시예 4)에 이전에 기재된 바와 같이 DBCO-PEG로 유도체화한다. DBCO-유도체화된 PS는 이어서 실시예 4의 방법에 따라 본원에 기재된 캐리어 단백질에 접합시킨다. 예를 들어, SpyAD[4pAMF] (서열번호 34)는 긴 폴리사카라이드에 접합시키고, 3.5시간 후 및 투석 후 분석하였다. 이들 접합체의 SEC-MALS 분석은 도 32에 나타낸다. 3.5 시간 후, 1 MDa 초과 접합체가 관찰되었다. 투석 후, 단리된 접합체 크기 분포는 대략 186 kDa에서 피크를 보여주었다.
- [0605] 실시예 20: 5, 6, 7, 또는 8개의 nnAA를 갖는 절단된 SLO(Δ C101) 폴리펩타이드가 발현되고 정제되고 접합되었다
- [0606] [0544] nnAA를 함유하는 절단된 SLO(Δ C101) 변이체는 예를 들어, 상기 방법에 따라 발현시켰다. 변이체는 5, 6, 7, 또는 8개 pAMF 잔기를 함유하고, 이들은 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 및 서열번호 76에 상응한다. 도 33a는 전체 및 가용성 단백질 농도 둘다에서 실시예 17의 변이체에 대해서 뿐만 아니라 이들 12 pAMF 변이체 (5pAMF-8pAMF)의 발현 수준을 보여준다. 도 33b는 발현을 위해 상응하는 겔을 보여준다(서열번호 65-76은 var1-var12에 상응한다). 정제는 이전에 기재된 바와 같이 진행하였다. 간단히 말해서, 0.75ml/min으로 미리 평형화된 hisTRAP excel 1ml 컬럼에 부하하기 전에 CFPS를 수거하고, 회전 하강시키고, 여과하고 6ml의 최종 용적에서 250mM 이미다졸의 단일 단계로 용출시켰다. 5 μ l의 각각의 단계 분획물은 SDS-PAGE 세이프 블루 염색 (safe blue staining)을 사용하여 분석하였다. 그 후, 용출물을 3배 희석하고, 최종 정제를 위해 CaptoQ 컬럼에 부하하고 세이프 블루 염색 및 DBCO TAMRA 표지화를 사용하여 분석하였다. FT 분획물은 농축시키고 200 μ l 분취액으로 -80C에서 저장하였다.
- [0607] [0545] 5, 6, 7, 또는 8개 nnAA를 갖는 SLO (Δ C101) 폴리펩타이드의 접합: 5, 6, 7, 또는 8개 nnAA를 함유하는 폴리펩타이드는 실시예 4에서의 방법을 포함하는, 상기된 방법을 사용하여 GAS 폴리사카라이드에 접합시킨다. 상기 방식에서, 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 68 및 서열번호 69의 pAMF-함유 SLO (Δ C101) 변이체는 긴 DBCO-유도체화된 GAC에 접합시켰다. 접합 반응은 도 34에 나타난 바와 같이 SDS page에 의해 분석하였다. 각각의 변이체에 대한 제1 레인은 접합 전 단백질을 보여준다. 최종 접합체 크기는 SEC-MALS에 의해 결정하였고, 이의 결과는 도 35에 나타낸다.

[0608] 서열 확인자 기재

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
1	C5a [90-1035 단편] WT w/ 리더	MHHHHHSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTQLQEKAGKGAGTV VAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VNLGADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKS KGVSVITSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVGTPAAADSTLTVASYSPPDKQL TETATVKTADKQDKEMPVLTSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIAL IERGIDIDFKDKIANAKKAGAVGVLIDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDG LLLKDNPKKTIITFNATPKVLPASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDI LSSVANNKYAKLSGTSMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPMTPSERLDLAKKVL MSSATALYDEDEKAYFSRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNV SDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITI PANSSKQVTPIDASRFKDLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIG FRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSADKQLDGDLQFYALKNNFTALT TTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYYIHRHAN GKPYAAISPNGDGNRDYVQFGTFLRNAKNLVAEVLDEGNVVTSEVTEQVVK KNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISGAKQEH TDFDVIVDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAAYTMDEDL PTTEYISPNEGTFITLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTK LLEHGSNK
2	C5a [90-1035 단편] WT w/o 리더	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTQLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWRL TDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNLGADYARNYAQAIRDA AVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSVITSAGNDSSFGG KTRLPLADHPDYGVGTPAAADSTLTVASYSPPDKQLTETATVKTADKQDKEMP VLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGIDIDFKDKIANAKK AGAVGVLIDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTIITFNATP KVLPTASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSMS APLVAGIMGLLQKQYETQYPMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYFS RQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKP QELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTPIDASRF SKDLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYD SKDGSSYYHEANSADKQLDGDLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDY VQFGTFLRNAKNLVAEVLDEGNVVTSEVTEQVVKKNYNNDLASTLGSTRFE KTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISGAKQEHQHTDFDVIVDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAAYTMDEDLPTTEYISPNEGTFITLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEHGSNK

[0609]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
3	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/ 리더	MHHHHHSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTV VAVIAAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VINGLADYARNYAQAIRDAVNLAGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKS KGVSI VTSAGNDSSFQGGKTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSQDKQL TETATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIAL IERGDIDFKDKIANAKKAGAVGVL IYDNQDKGFP IELPNVDQMPAAFI SRKDG LLLKDNPKKTIITFNATPKVLPTASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDI LSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVL MSSATALYDEDEKAYFSRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNV SDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKVDGKHFAAPKALYETSWQKITI PANSSKQVTPIDASRF SKDL LAQMKNYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIG FRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSADKQDLGDGLQFYALKNNFTAL TTESNPWTI IKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYIHRHAN GKPYAAISPNGDGNRDYVQFGTFLRNAKNLVAEVL DKEGNVVTSEVTEQVV KNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQH TDFDVIDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVRERIRIAYTYMDEDL PTTEYISPNEGDTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTK LLEGHSSNK
4	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/o 리더	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIAAGFDKNHEAWRL TDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VINGLADYARNYAQAIRDA VNLAGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSI VTSAGNDSSFQGG KTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSQDKQLTETATVKTADKQDKEMP VLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIAL IERGDIDFKDKIANAKK AGAVGVL IYDNQDKGFP IELPNVDQMPAAFI SRKDG LLLKDNPKKTIITFNATP KVLPTASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAM SAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVL MSSATALYDEDEKAYFS RQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKP QELYYQATVQTDKVDGKHFAAPKALYETSWQKITI PANSSKQVTPIDASRF SKDL LAQMKNYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYD SKDGSSYYHEANSADKQDLGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTI IKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDY VQFGTFLRNAKNLVAEVL DKEGNVVTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFE KTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVRERIRIAYTYMDEDLPTTEYISPNEGDTFTLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSSNK

[0610]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
5	SLO [79-571 단편] WT w/ His 태그 및 TEV 서열	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLESAEKEEKKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIY SLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI ID SVTDRTYPAALQLANKGFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDP TYANVSTADNVLNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKI LDGTLGIDFKSISKGEKKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQ RKGVSNAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNKG YSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPIS YTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWW RKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK
6	SLO [79-571 단편] WT w/o 리더	APKEMPLESAEKEEKKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETI ENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVDRTYPAALQLANKG FTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTADNVLNQWH DNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEK KVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNVA YGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNKGYSIDILENSSFTAVVLGG DAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNN WYSKTSPPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK
7	SLO [79-571 단편] W535A w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLESAEKEEKKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIY SLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI ID SVTDRTYPAALQLANKGFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDP TYANVSTADNVLNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKI LDGTLGIDFKSISKGEKKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQ RKGVSNAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNKG YSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPIS YTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWW RKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK
8	SLO [79-571 단편] W535A w/o 리더	APKEMPLESAEKEEKKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETI ENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVDRTYPAALQLANKG FTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTADNVLNQWH DNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEK KVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNVA YGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNKGYSIDILENSSFTAVVLGG DAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNN WYSKTSPPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK

[0611]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
9	SpyAD [33-849 단편] WT w/ 리더	MHHHHHSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATID AVEKTL SQQKAELELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKAL TSAQE IYTNLA SSEETLLAQGAHQREL TATELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQ DLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLEN QKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGY PLEELKKLEASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRF VDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKK THGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAF NDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGF STSNVGSLENEHFVMPESNIAHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLN DTKGSRLTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVT ALVAKKAHLQYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAAAL QAKQSSLEAT IATTEHQ LTLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTG VK PLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNA AIVSKITSSITQPSSKTSYSGSGSTTSNLSIDVDESTQR
10	SpyAD [33-849 단편] WT w/o 리더	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTL SQQKAELELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKAL TSAQE IYTNLASSEETLLAQGAHQREL TATELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLENEHFVMPPE SNIAHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIIKGVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSRLTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRDFKL NPRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAAALQAKQSSLEAT IATTEHQ LTLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTG VKPLSYSKIDTTPLVQEMV KETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSKT SYSGSGSTTSNLSIDVDESTQR

[0612]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
11	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	MHHHHHGGSGENLYFQQGVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATID AVEKTLSSQQAELTELATALTKTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNLA SSEETLLAQGAHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQ DLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLEN QKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGY PLEELKXLEASGYIGSASYNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADNRNF VDPDNLTPVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKX THGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTI IEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAF NDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGF STSNVGSLSNEHFVMPESNIAHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLN DTKGLRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVT ALVAKXAHQLYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAL QAKQSSLEATIAATTEHQLTLKTLANEKEYRHLEDEIATVPDLQVAPPLTGVK PLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASN AIVSKITSSITQPSSKTSYSGSSTTSNLSDVDESTQR
12	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSSQQAELTELA TALTKTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNLASSEETLLAQGAHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADNRNFVDPDNLTPVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTI IEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLSNEHFVMPPE SNIAHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGLRTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHQLYLRDFKL NPRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALALQAKQSSLEATIAATTEHQ LTLKTLANEKEYRHLEDEIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMV KETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSKT SYSGSSTTSNLSDVDESTQR

[0613]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
13	ADI [전장] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGTATPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIF THHPIYGGGKVPVMYDRNETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLL VNI FKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGGGPRCMSGPFER EDI
14	ADI [전장] WT w/o 리더	TAQTPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLRLFFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPVMYDR NETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLLVNI FKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFHMLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESGLKLKIKIHGSELVRGGGPRCMSGPFEREDI
15	ADI [전장] D277A w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGTATPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIF THHPIYGGGKVPVMYDRNETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLL VNI FKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGGGPRCMSGPFER EDI
16	ADI [전장] D277A w/o 리더	TAQTPIHVYSEIGLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLRLFFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPVMYDR NETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLLVNI FKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFHMLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESGLKLKIKIHGSELVRGGGPRCMSGPFEREDI

[0614]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
17	ADI [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPETREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXVIF THHPIYGGGKVPVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFER EDI
18	ADI [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	TAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPETREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXVIFTHHPIYGGGKVPVYDR NETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEF ANNRKFHMLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDL AELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESGLKLKIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
19	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPETREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXVIF THHPIYGGGKVPVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFHMLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFER EDI

[0615]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
20	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	TAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPETREAFIDEYLSEANIRGRATKKAI RELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXIFYTHHPYGGGKVPVYDR NETTRIEGGDELVLKDVAVGISQRTDAASIEKLLVNIKFQNLGFKKVLAFE FANNRKFHMLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDL AELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTAPGVVVVYNRNTI TNAILESKGLKLIKIHGSELVRGGGPRCMSGMPFEREDI
21	hFL [전장] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
22	hFL [전장] WT w/o 리더	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD
23	hFL [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - I5	MHHHHHHGSGSSQXQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
24	hFL [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - I5	SSQXQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD

[0616]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
25	eCRM-pAMF6 돌연변이체	MGADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTRKPGYVDSIQXGIQKPKSGTQGNYYDDWKE FYSTDNKYDAAGYSVDNENPLSGKAGGVVKVTPGLTKVLALKVDNAETIKKE LGLSLTEPLMEQVGTTEFIKRFQDGGASRVVLSLPFAEGSSSVEYINNWEQAKA LSVELEINFETRGRGQDAMYEYMAQACAGNRVRNSVGSSLSCLNDWDVIRD XTKTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEKAXQYLEEFHQTALEHPELSELX TVTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIA DGAVHHNTEEI VAQSI ALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESIINLFQV VHNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSIIRTFQGQESGHDIKITAE NTPLPIAGVLLPTIPGKLDVNKSKTHISVNGRKIRMRCRAIDGDTVFCRPKSP VYVGNGVHANLHVAFHRSSEKIHSEISSDSIGVLGYQKTV DH TKVNS XL SL FFEIKS
26	ADI (mut2) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K123, K247, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTATPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEXTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVS LNHMF SETRNRETLYGKYIF THHPIYGGGKVPVYDRNETTRI EGG DELVLSKDVAVGISQRTDAASIE XL L VNI FKQNL GFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILES KG LKLIKIHGSELVRGRGGPRC MS MPFER EDI
27	ADI (mut2) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K123, K247, K316	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEXTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVS LNHMF SETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPVYD RNETTRI EGG DELVLSKDVAVGISQRTDAASIE XL L VNI FKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNVAAGREQWNDGSNTLTIA PGVVVV YNRNT ITNAILES KG LKLIKIHGSELVRGRGGPRC MS MPFEREDI
28	리더와 함께 Sfb1 반복 영역	MHHHHHHGSGVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGM SGQT TPQVETEDT KEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGM SGQT ASQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEF TKDTQTGM SGQT TPQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGM SGF SET

[0617]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
29	C5a [90-1035 단편] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIR DAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFG GKTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSPPDKQLTETATVKTADKQDKEM PVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGIDFKDKIANAK KAGAVGVL IYDNQDKGFP IELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTIITFNAT PKVLPTASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTS MSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYF SPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDK PQELYYQATVQTDKVDGKHFAAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASR FSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIY DSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEG VENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRD YVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDEKGNVVTSEVTEQVVKNNYNNDLASTLGSTRF EKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDNTTPEVAT SATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEGTFTL PEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEHGSNK
30	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAIAAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIR DAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFG GKTRLPLADHPDYGVVGTAAADSTLTVASYSPPDKQLTETATVKTADKQDKEM PVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGIDFKDKIANAK KAGAVGVL IYDNQDKGFP IELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTIITFNAT PKVLPTASGTLKSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTA MSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSATALYDEDEKAYF SPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDK PQELYYQATVQTDKVDGKHFAAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASR FSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIY DSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEG VENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDSHYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRD YVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDEKGNVVTSEVTEQVVKNNYNNDLASTLGSTRF EKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIDNTTPEVAT SATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEGTFTL PEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEHGSNK

[0618]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
31	SLO [79-571 단편] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFKLETSSKSNDEAAFAALKGTVDKNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGSTLSPYGSITYK
32	SLO [79-571 단편] W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFKLETSSKSNDEAAFAALKGTVDKNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGSTLSPYGSITYK
33	SpyAD [33-849 단편] WT w/o 리더, 절단으로 부터 G 오버행을 가짐	GQVKADDRASGETKASNTDSDLPKPETIQEAKATIDAVEKTL SQQAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKAL TSAQE IYTN TLASSEETLLAQGAHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKAL SSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGS ASYNYYKEHADQII AKASPGNQLNQYQDIPADRNRFDVDPDNL TPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTII EDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFTSNVGSLSNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRDFK LNPRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEAL AALQAKQSSLEATIATTEH QLTLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEM VKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSK TSYSGSGSSTSNLISDVDESTQR

[0619]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
34	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 넘버링된	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSSQKAELET ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNLASSEETLLAQGAHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNI AKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAEL SRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGVPLEELKXLEASGYIGS ASYNNYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFPDPDLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGPFSTSNVGSLEHFMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGVSSLENRLSAIH QEAIDMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXHLQYLRDFK LNPRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAAQAKQSSEATIATTEH QLTLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGKPLSYSKIDTTPLVQEM VKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSSEMVASNAIVSKITSSITQPSSK TSYGGSSSTSNLISDVDESTQR
35	ADI [전장] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPYGGGKVPVMVYD RNETTRIEGGDELVL SKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNI FKNLGFKKVLAF EFANNRKF MHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNGSNTLTIA PGVVVVYNRNT ITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
36	ADI [전장] D277A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPYGGGKVPVMVYD RNETTRIEGGDELVL SKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNI FKNLGFKKVLAF EFANNRKF MHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNGSNTLTIA PGVVVVYNRNT ITNAILESGLKLKIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

[0620]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
37	ADI [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLVLETLAAESLVTPETREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPYGGGKVPVMDY RNETTRIEGGDELVLKDVLAAGISQRTDAASIEKLLVNIQKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMLDVTFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNGSNTLTAPGVVVVYNRNT ITNAILESGLKLKIHGSELVRGRGGPRCMSGPFFEREDI
38	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLVLETLAAESLVTPETREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPYGGGKVPVMDY RNETTRIEGGDELVLKDVLAAGISQRTDAASIEKLLVNIQKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNGSNTLTAPGVVVVYNRNT ITNAILESGLKLKIHGSELVRGRGGPRCMSGPFFEREDI
39	hFL [전장] WT w/ 리더	MHHHHHSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQRGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
40	hFL [전장] WT w/o 리더	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEKREGYERLLKMQRGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD

[0621]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
41	hFL [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - I5	MHHHHHGGSSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEKREGYERLLKMQNRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKL IKKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
42	hFL [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - I5	SSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEKREGYERLLKMQNRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKL IKKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD
43	eCRM-pAMF6 돌연변이체	GADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTPGYVDSIQXG IQKPKSGTQGNVDDDWKEF YSTDNKYDAAGYSVDNENPLSGKAGGVVKVTPGLTKVLALKVDNAETIKKEL GLSLTEPLMEQVGTEEF IKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSSVEYINNWEQAKAL SVELEINFETRGRGQDAMYEMAQACAGNRVRNSVGSLSCLNDWDVIRD TKTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEKAXQYLEEFHQTALEHPELSELXT VTGTPNFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIAD GAVHHNTEEIVAQSIALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESI INLFQVV HNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSI IRTGFQGESGHDIKITAEN TPLPIAGVLLPTIPGKLDVNSKTHISVNGRKIRMCRAIDGDVTFCRPKSPV YVNGVHANLHVAFHRSSEKIHSNEISSDSIGVLGYQKTVDHTKVNSXLSLF FEIKS
44	SLO(ΔC11) W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFAALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSFPSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGS

[0622]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
45	SLO(Δ C21) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNI RIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLS
46	SLO(Δ C31) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNI RIMARECTGLAAEWWRK
47	SLO(Δ C41) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNI RIMAREC
48	SLO(Δ C51) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANS

[0623]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
49	SLO(Δ C61) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPF
50	SLO(Δ C71) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWD
51	SLO(Δ C81) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKG
52	SLO(Δ C91) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISI IDSVTDRTPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDVKTNGKYSIDLENSSTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQGAYVAQYEIL

[0624]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
53	SLO(Δ C101) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVVFVKLETSSKSNDEAAFAALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
54	SLO(Δ C101) 단편 W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 또는 고유 아미노산 (예를 들어: K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, K464; 또는 K 또는 R.)	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVVFVKLETSSXSNDEAAFAALKGTDVXTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
55	SLO(Δ C101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 1 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420995) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K272, K357	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLTPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVVFVKLETSSXSNDEAAFAALKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
56	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 2 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(420996) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K323, K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAKGGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
57	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 3 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(420997) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAKGGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
58	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 4 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(420998) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - R151, K272, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAKGGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0626]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
59	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 5 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420999) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K272, K357, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
60	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 6 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421000) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, K189, K357	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
61	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 7 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421001) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K323	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAAKGTDVKTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ

[0627]

Seq ID	명칭/가제	아미노산 서열
62	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 8 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(421002) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K272	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTL PARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEA AFS AALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
63	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 9 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(421003) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 -K112, K272, K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTL PARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSN EAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEA AFS AALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
64	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(421004) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 -K112, K323, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFI VIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTL PARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSN EAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEA AFS AALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ

[0628]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
65	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426507) X = nnAA (e.g., pAMF) positions - K98, R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNKGYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ
66	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426508) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGXINLSHQ
67	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426509) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNKGYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSKGINLSHQ

[0629]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
68	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 결단으로부터 G 오버행을 가짐(426510) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K272, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTV FVKLETSSXSNDVEAAFS AALKGT DVKTNGKYS DILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
69	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 결단으로부터 G 오버행을 가짐(426511) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, R151, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTV FVKLETSSXSNDVEAAFS AALKGT DVXTNGKYS DILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0630]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
70	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 결단으로부터 G 오버행을 가짐(426512) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, K112, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTV FVKLETSSXSNDVEAAFS AALKGT DVXTNGKYS DILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
71	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 결단으로부터 G 오버행을 가짐(426513) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, R151, K189, K272, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIIVIEKKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENKPDVAVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMI AAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTV FVKLETSSXSNDVEAAFS AALKGT DVKTNGKYS DILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVI RNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0631]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
72	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426514) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K189, K323, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDEAAFSAAALKGTDXVTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
73	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426515) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K272, K357, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDEAAFSAAALKGTDXVTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0632]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
74	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426516) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375,	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDEAAFSAAALKGTDXVTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
75	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426510) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K189, K272, K323, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDEAAFSAAALKGTDXVTNGKYSIDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

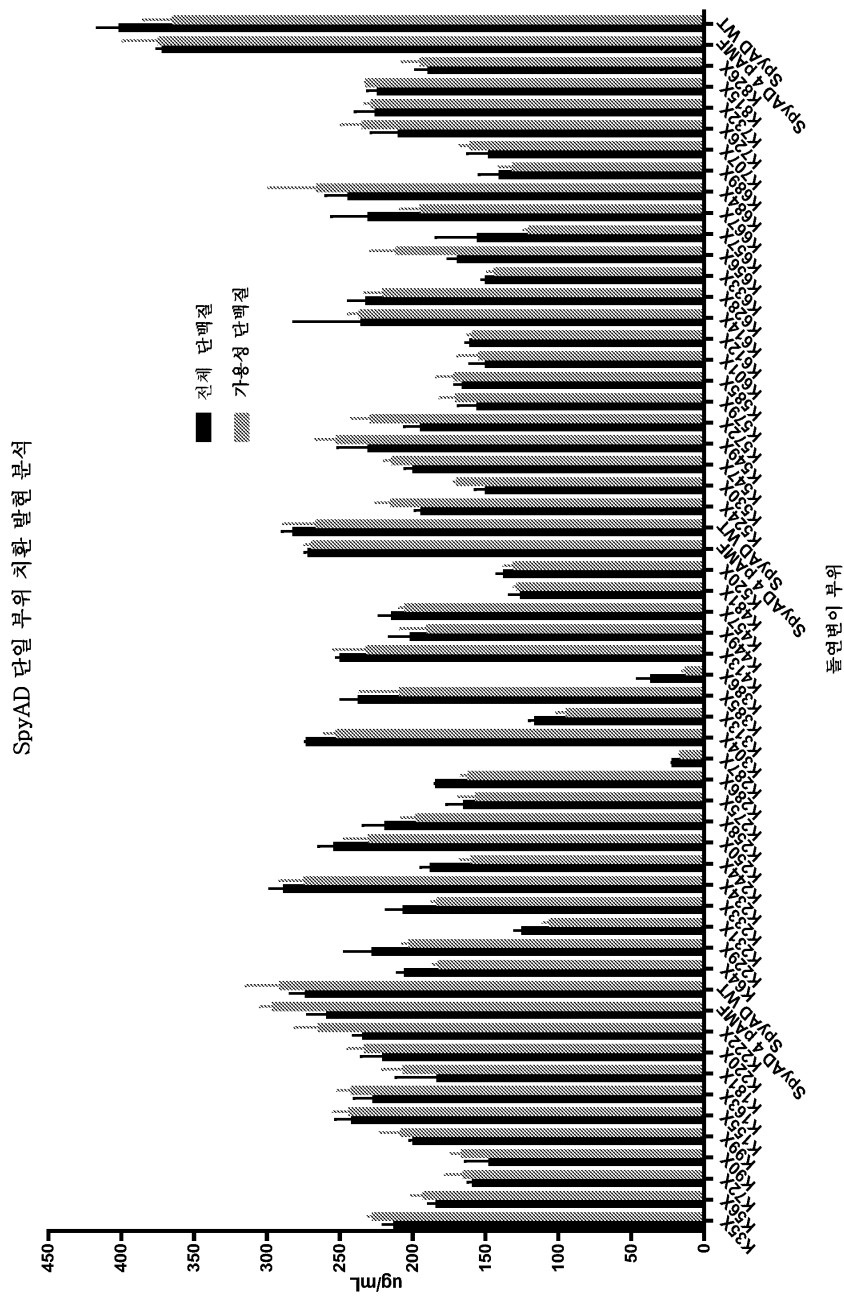
[0633]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
76	SLO(ΔC101) 단편 W535A - nnAA (예를 들어, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐(426515) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K272, K323, K357, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEBKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAI DNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVXINGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPI SYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

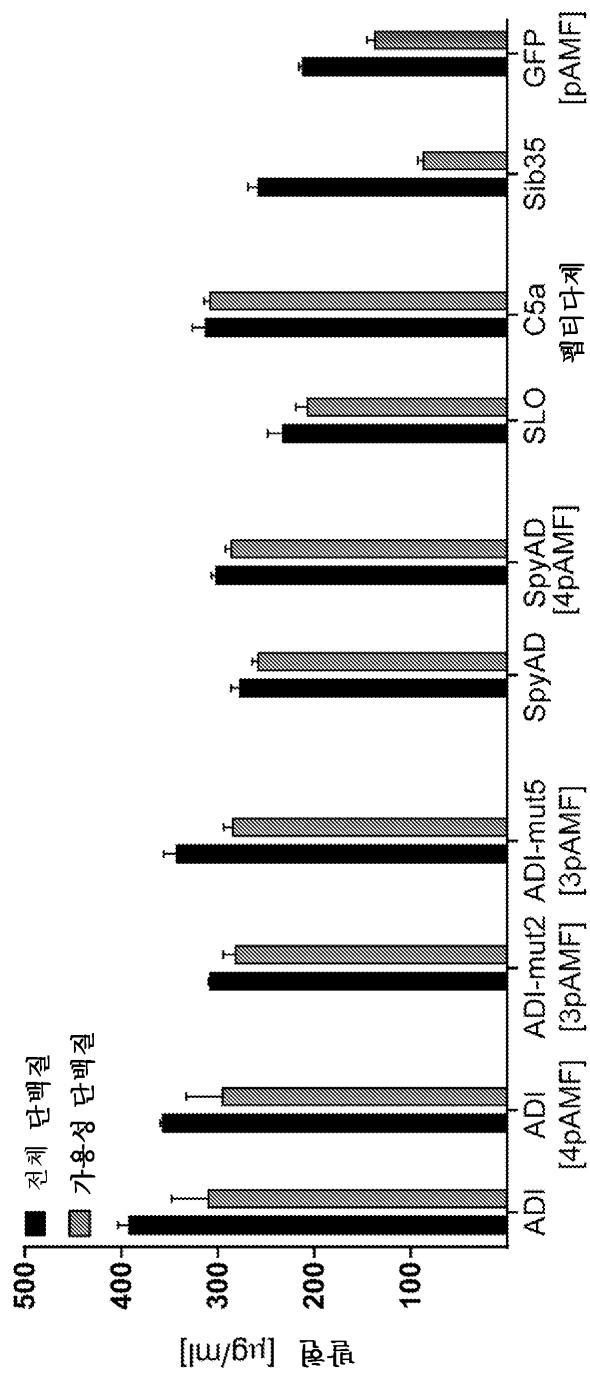
[0634]

도면

도면 1a

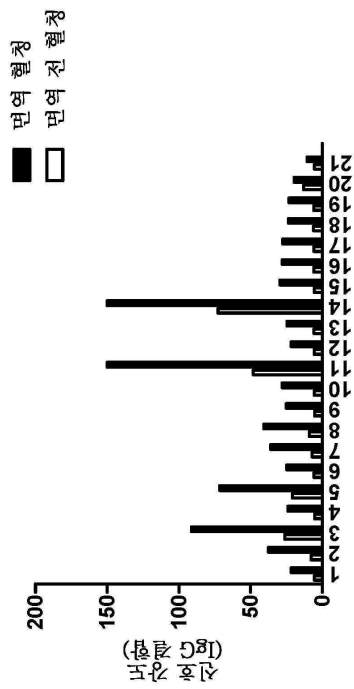


도면1b

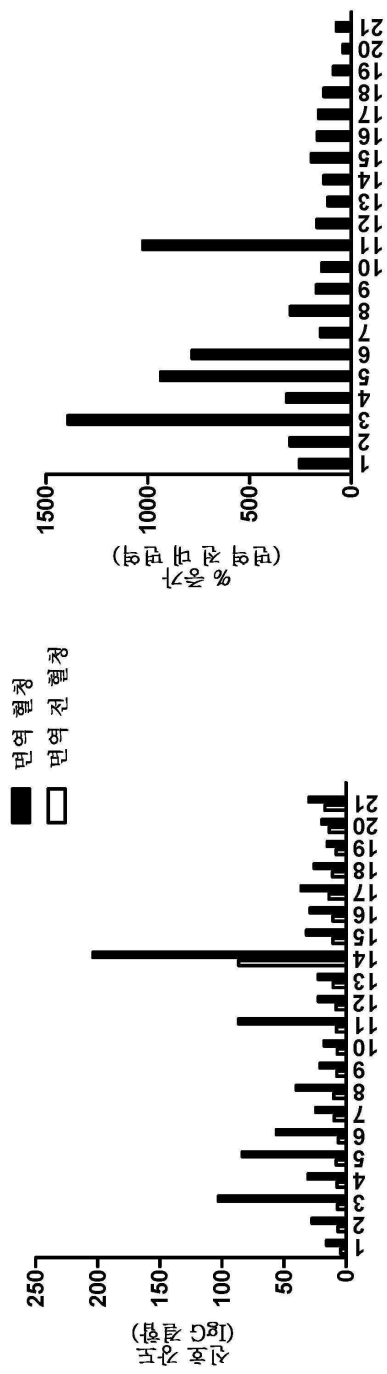


도면2

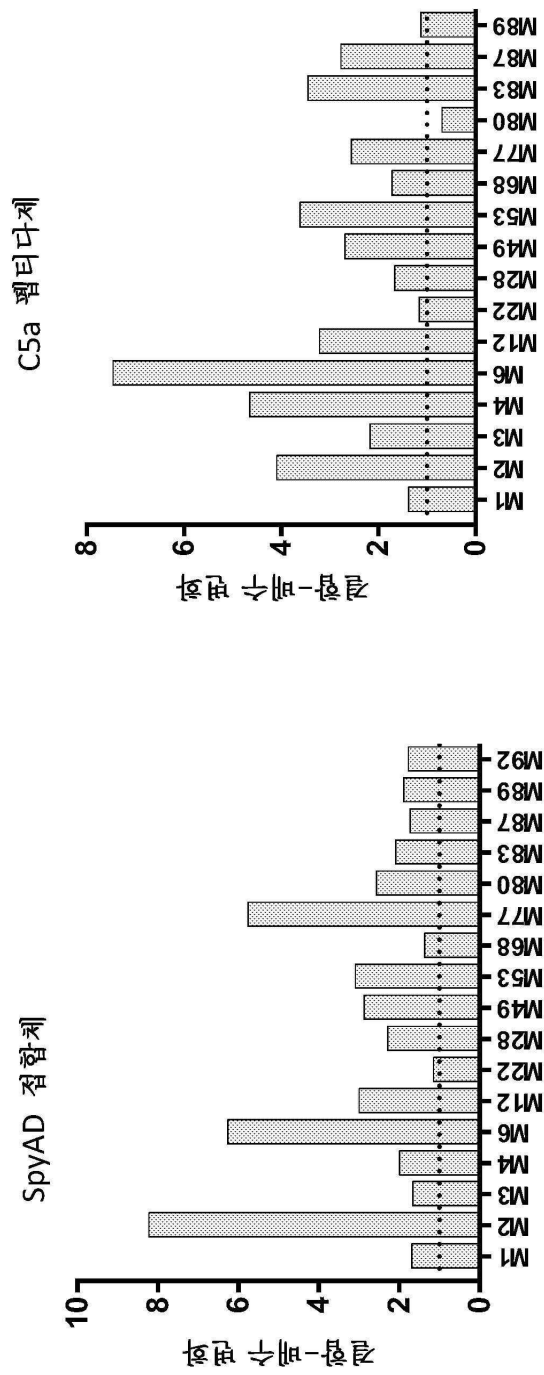
도면3a



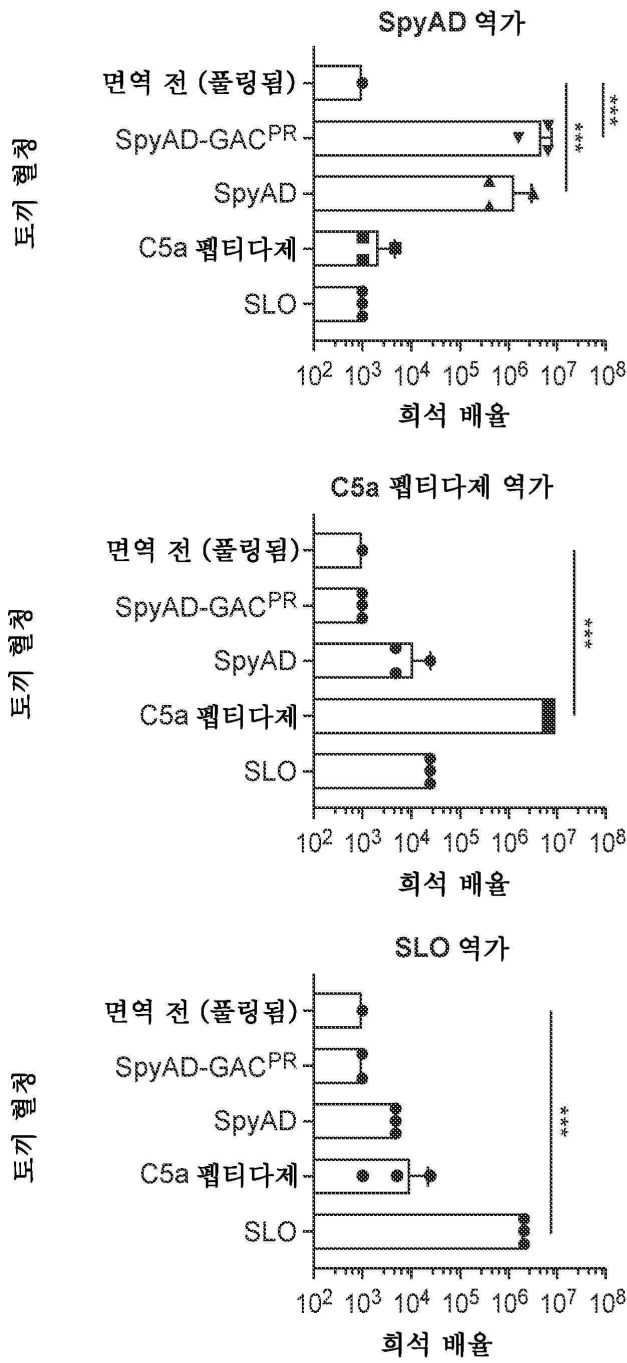
도면 3b



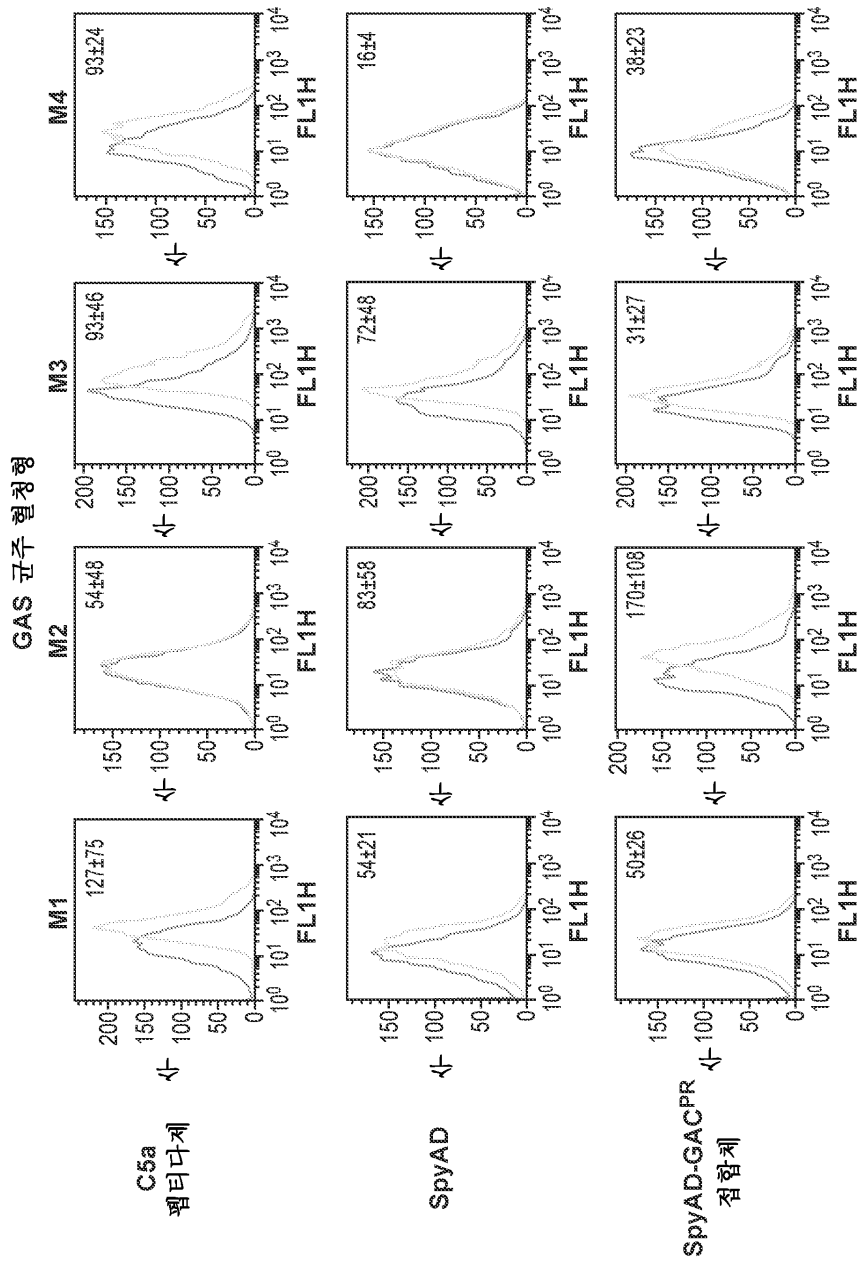
도면3c



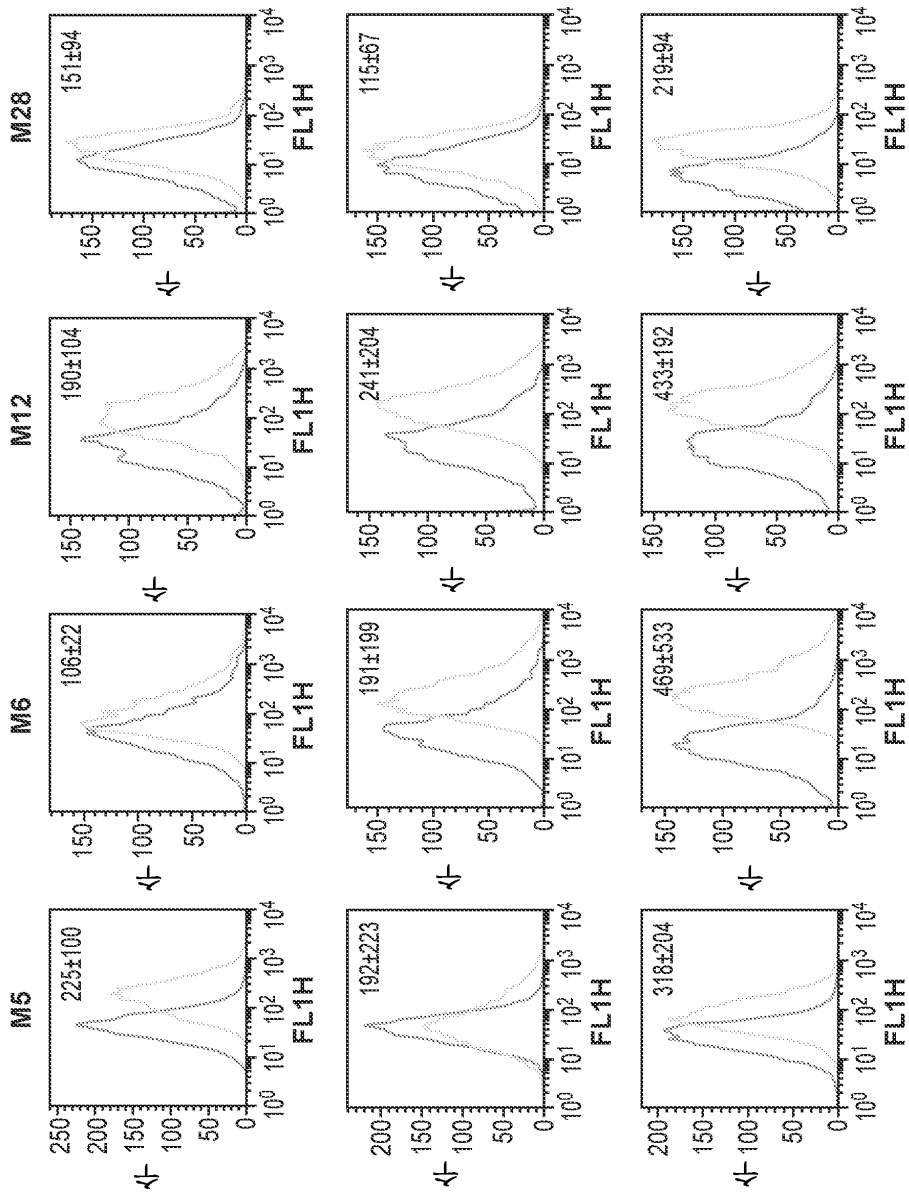
도면3d



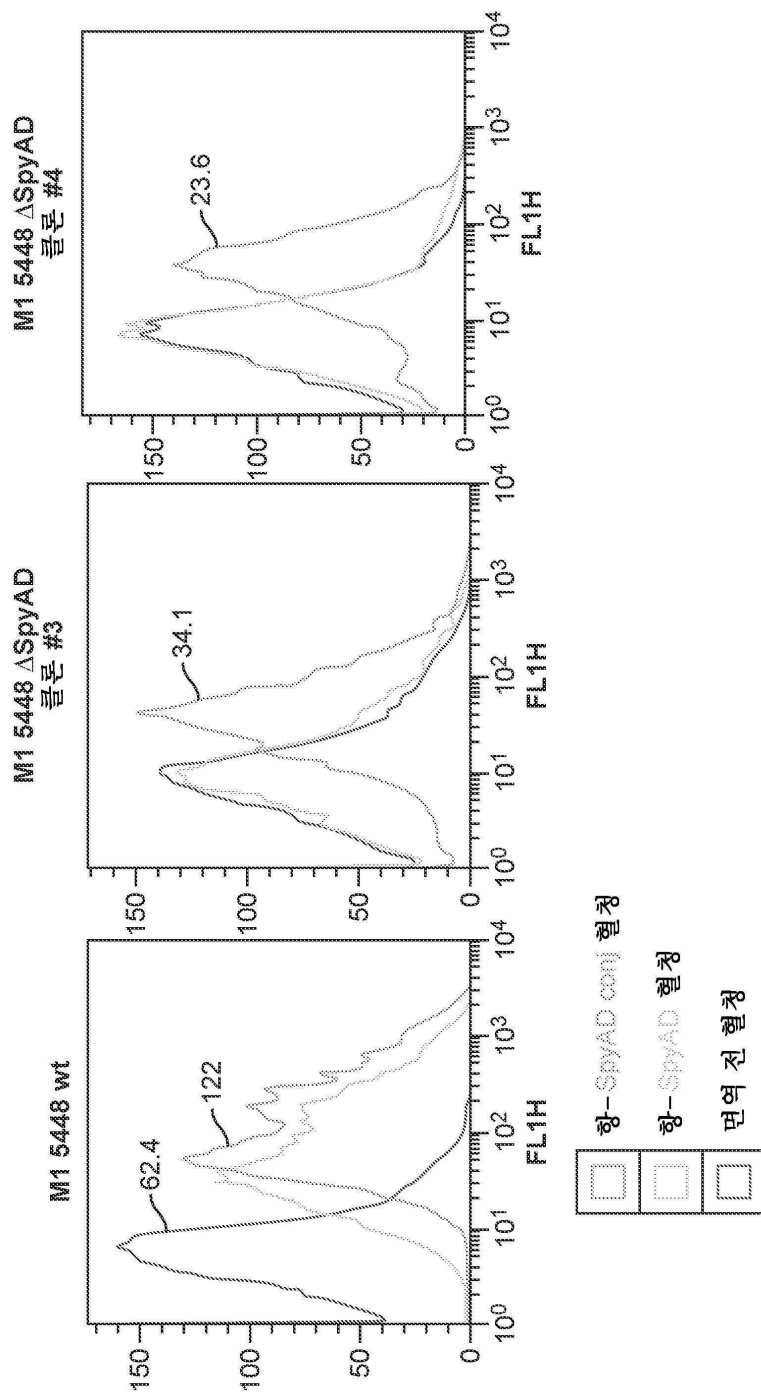
도면3e



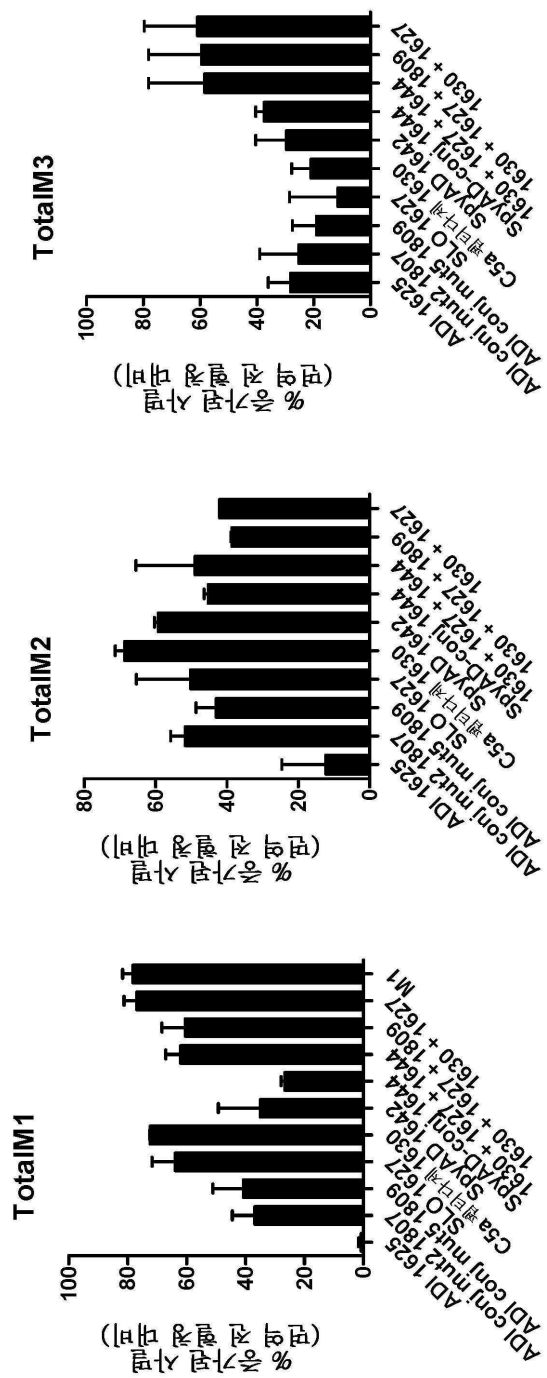
도면3ea



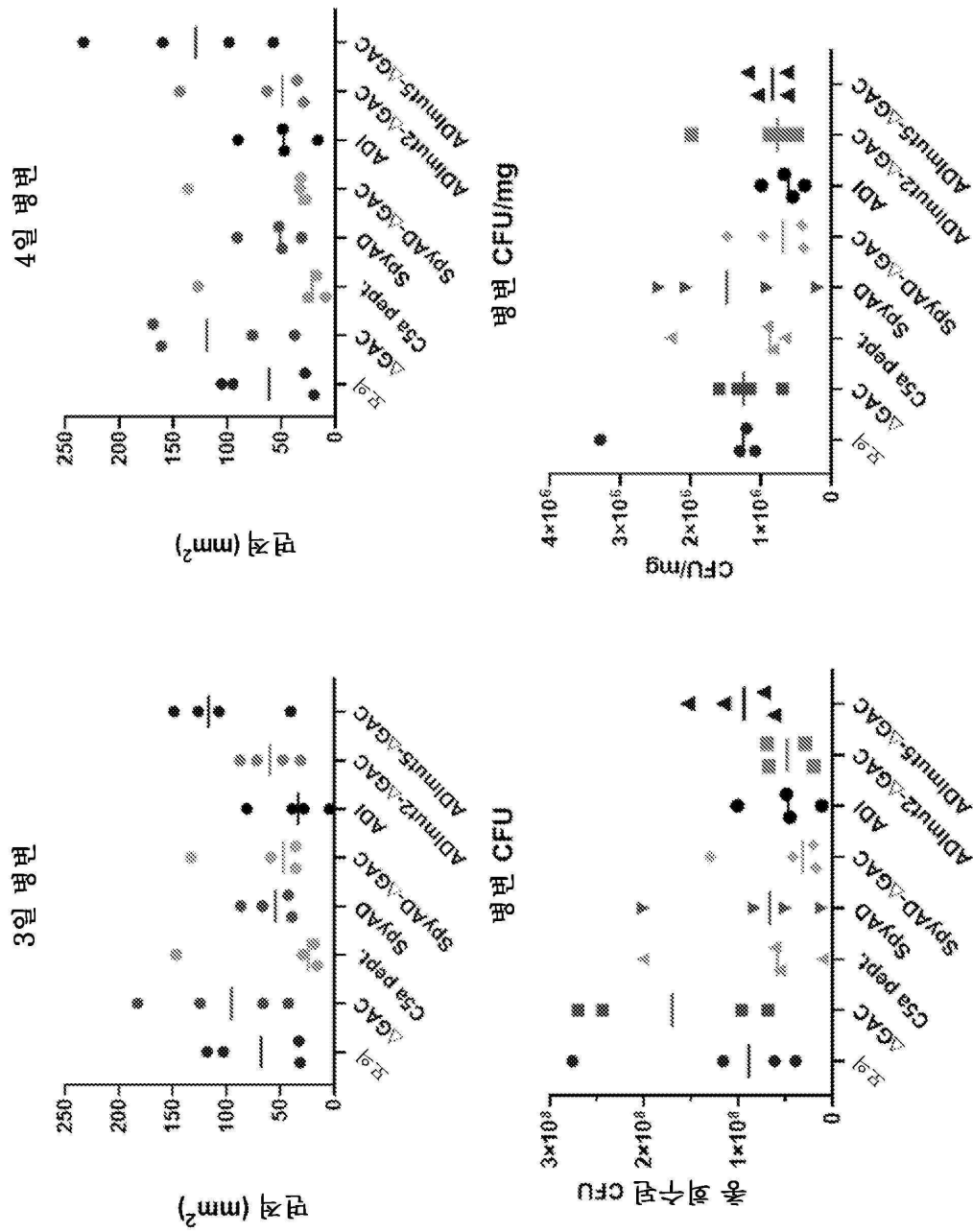
도면3f



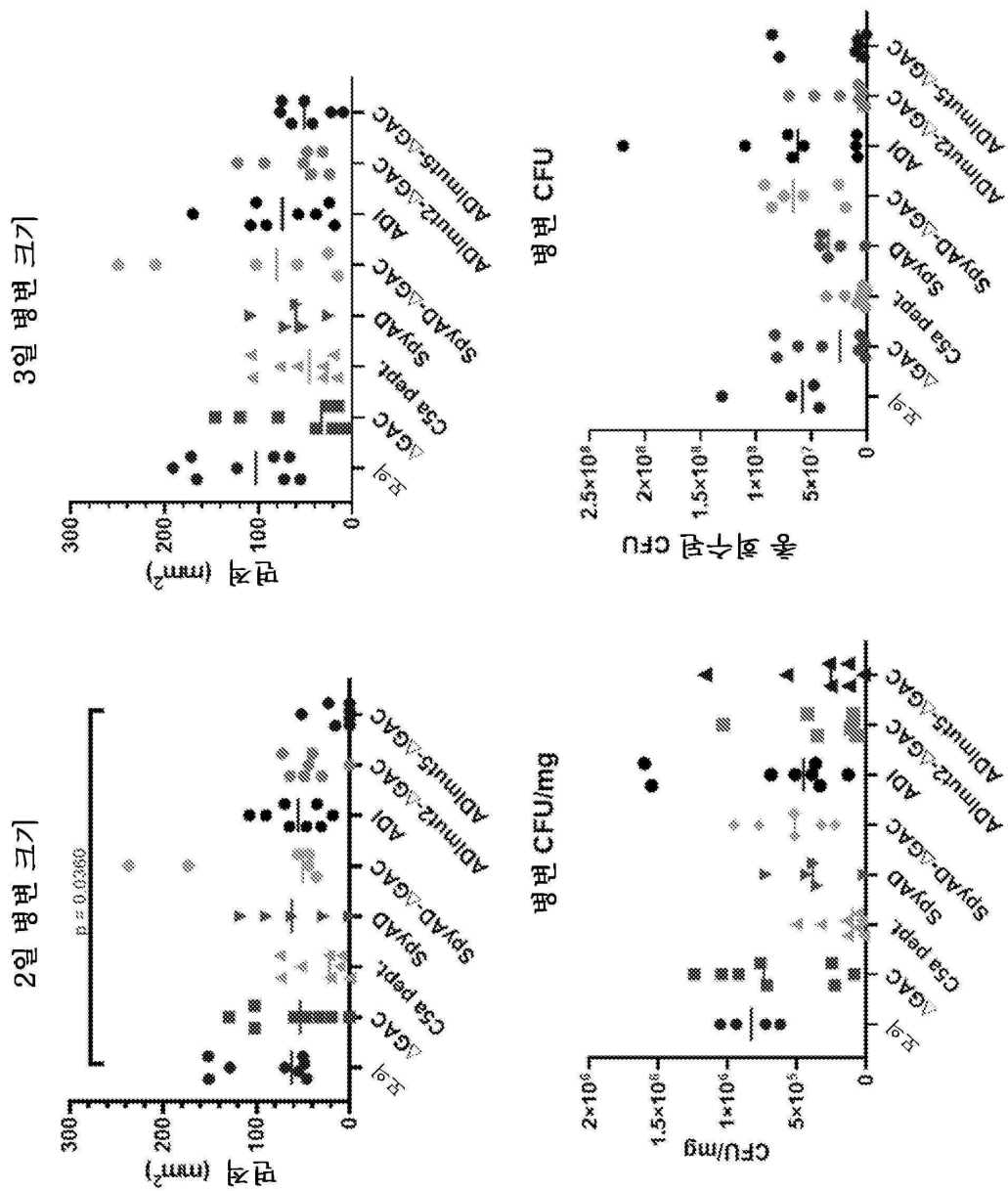
도면4



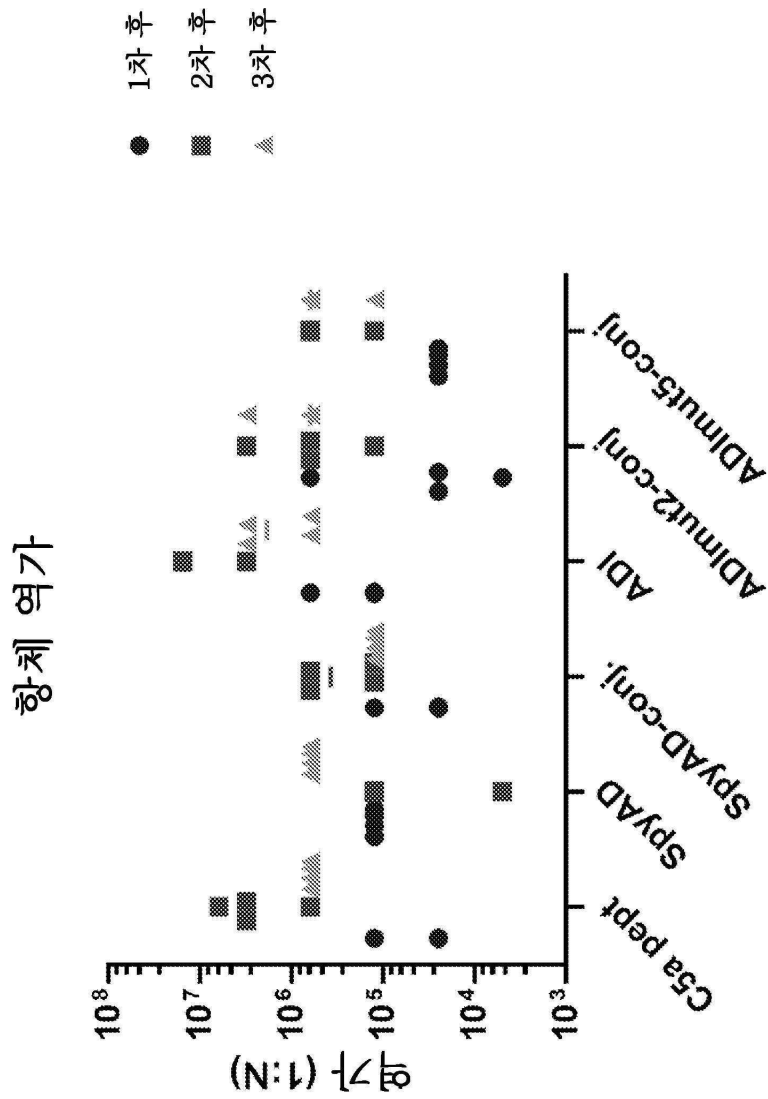
도면5a



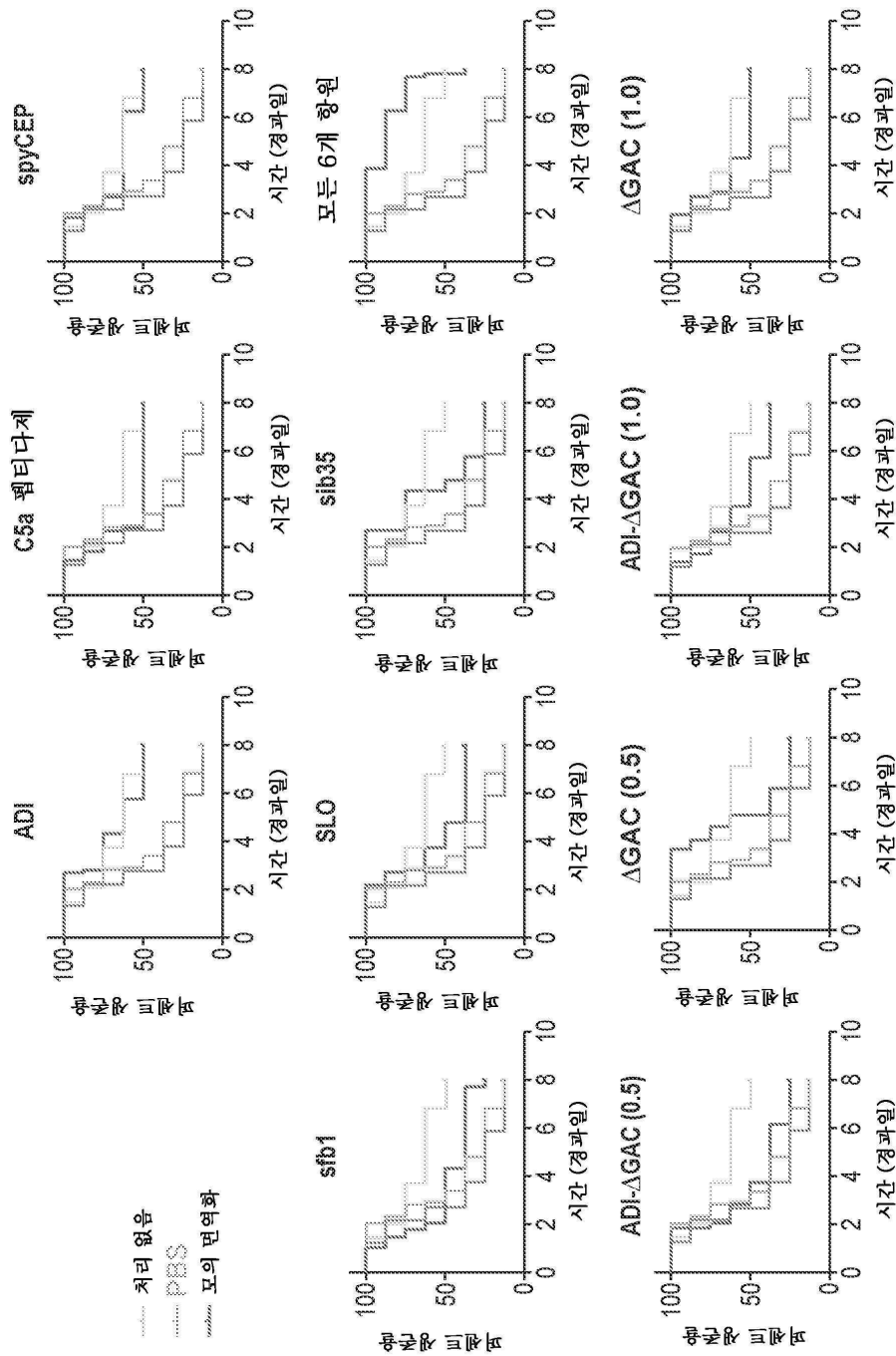
도면5b



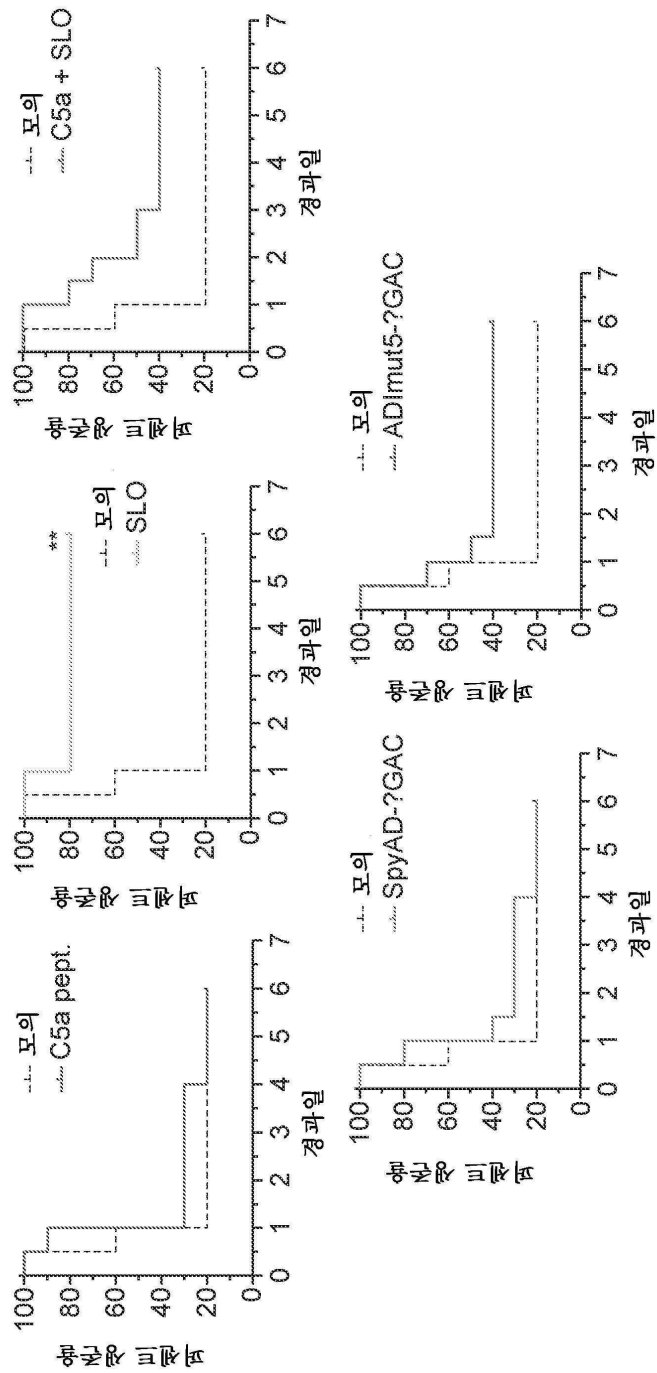
도면5c



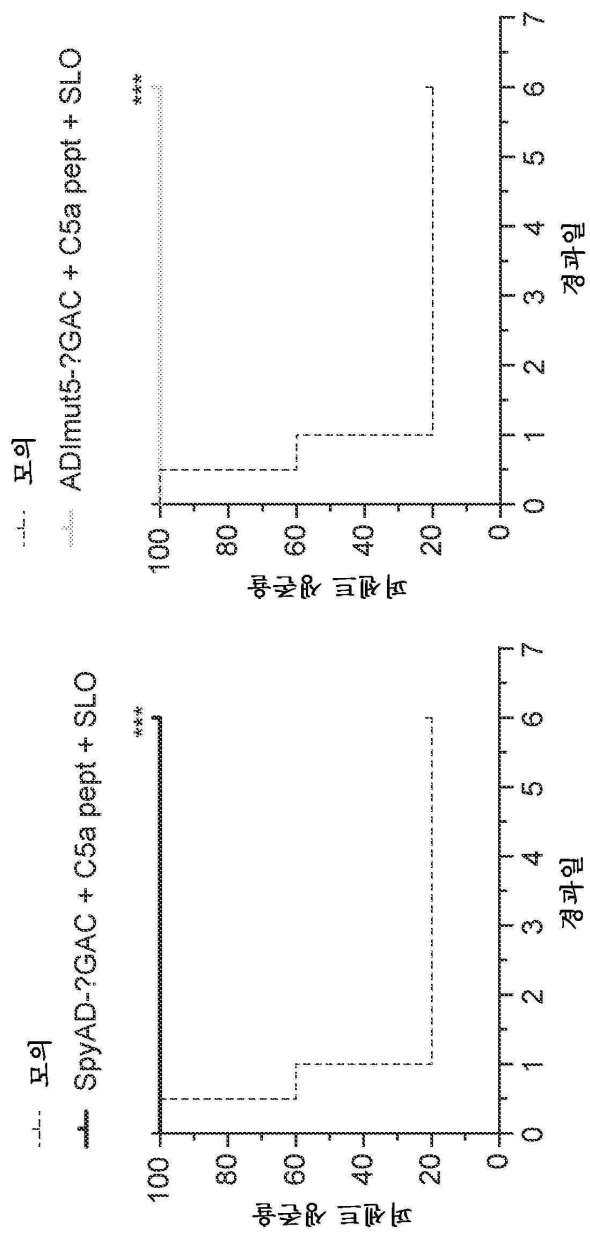
도면5d



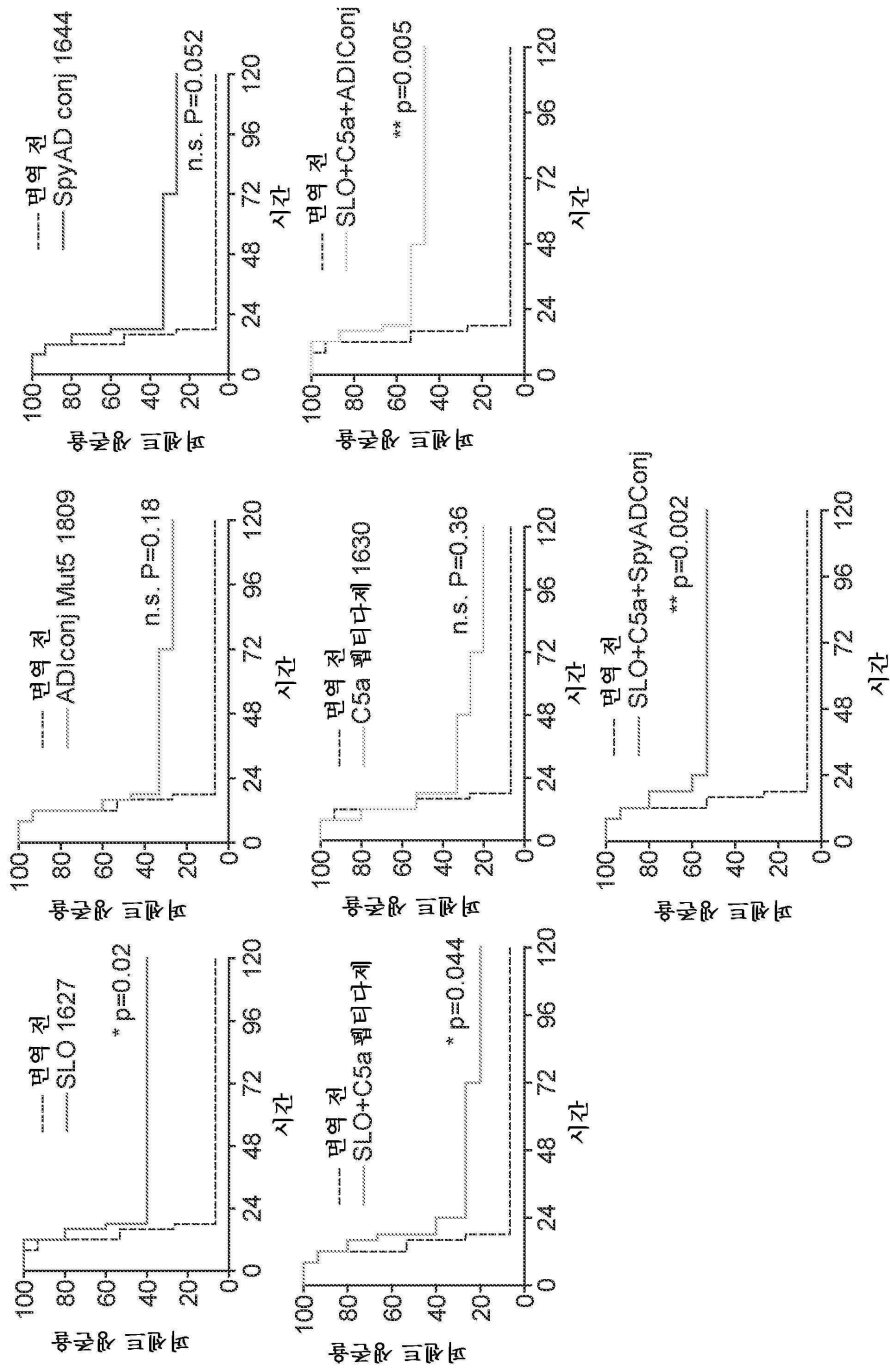
도면5e



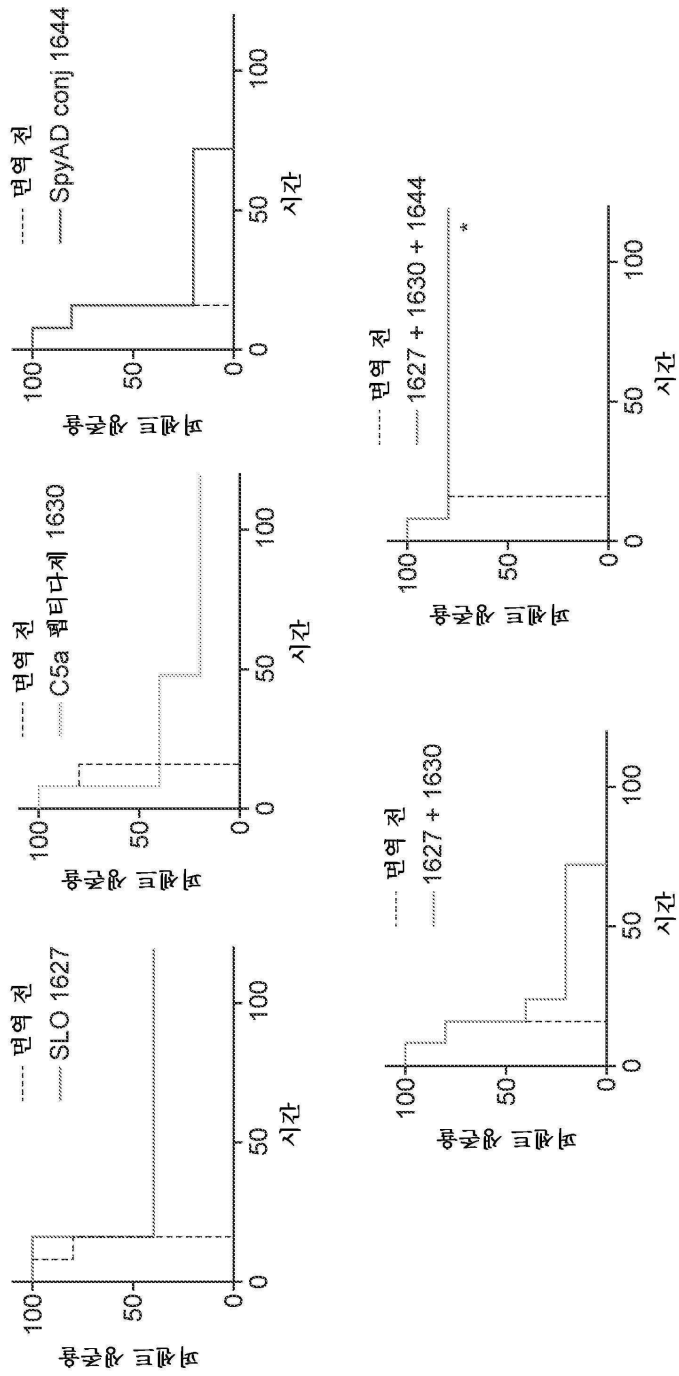
도면5f



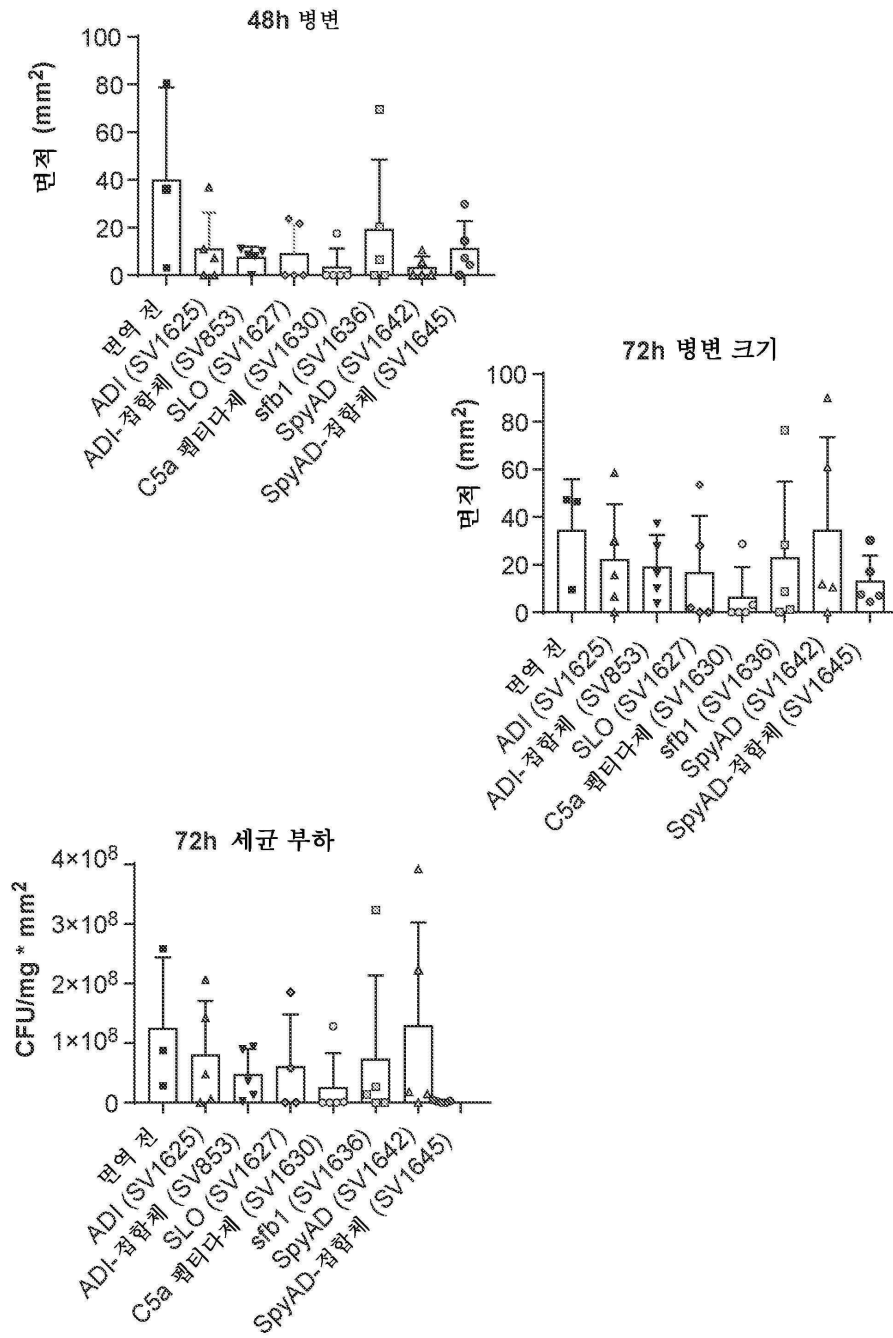
도면6a



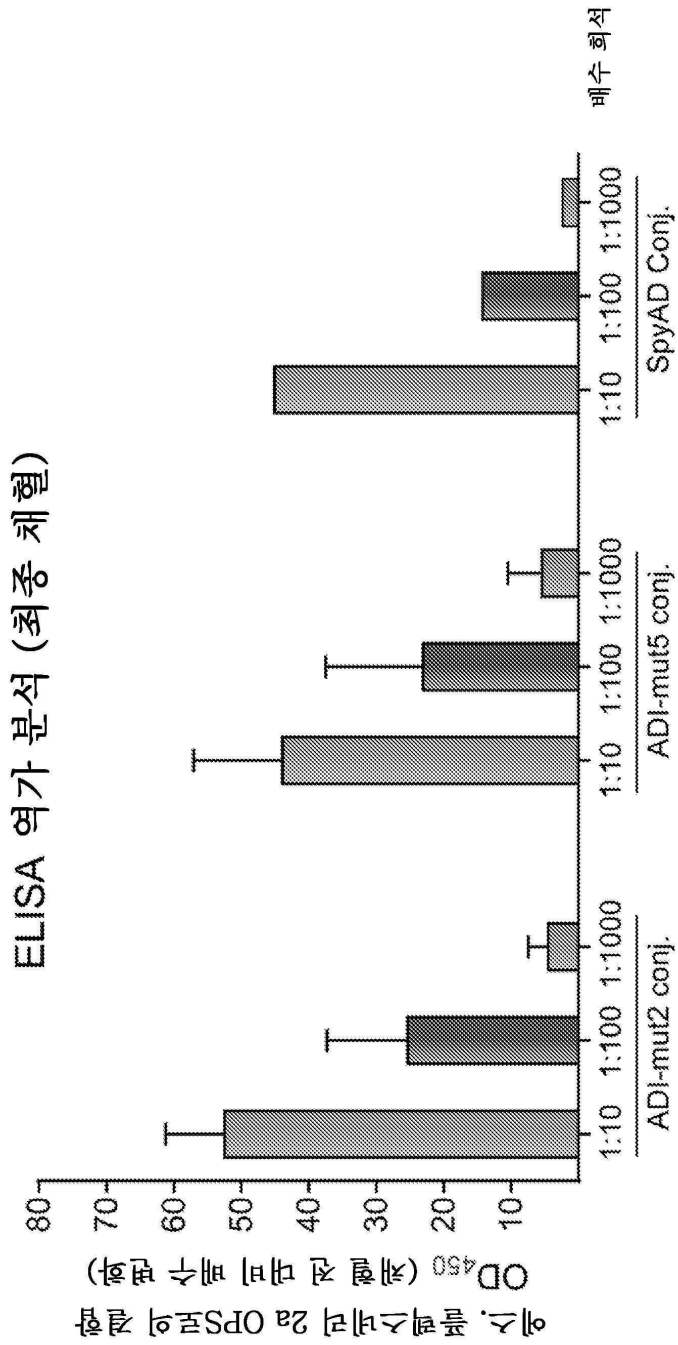
도면6b



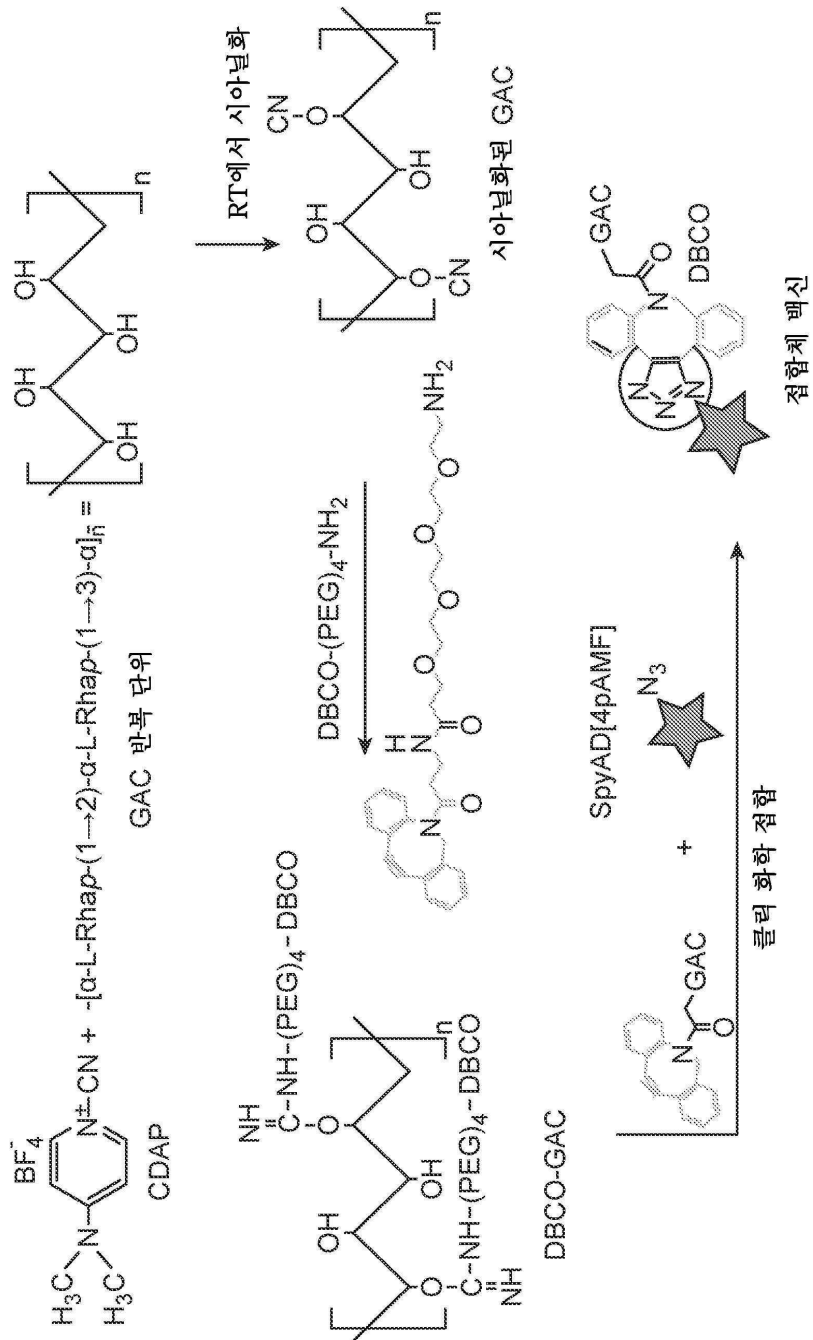
도면7



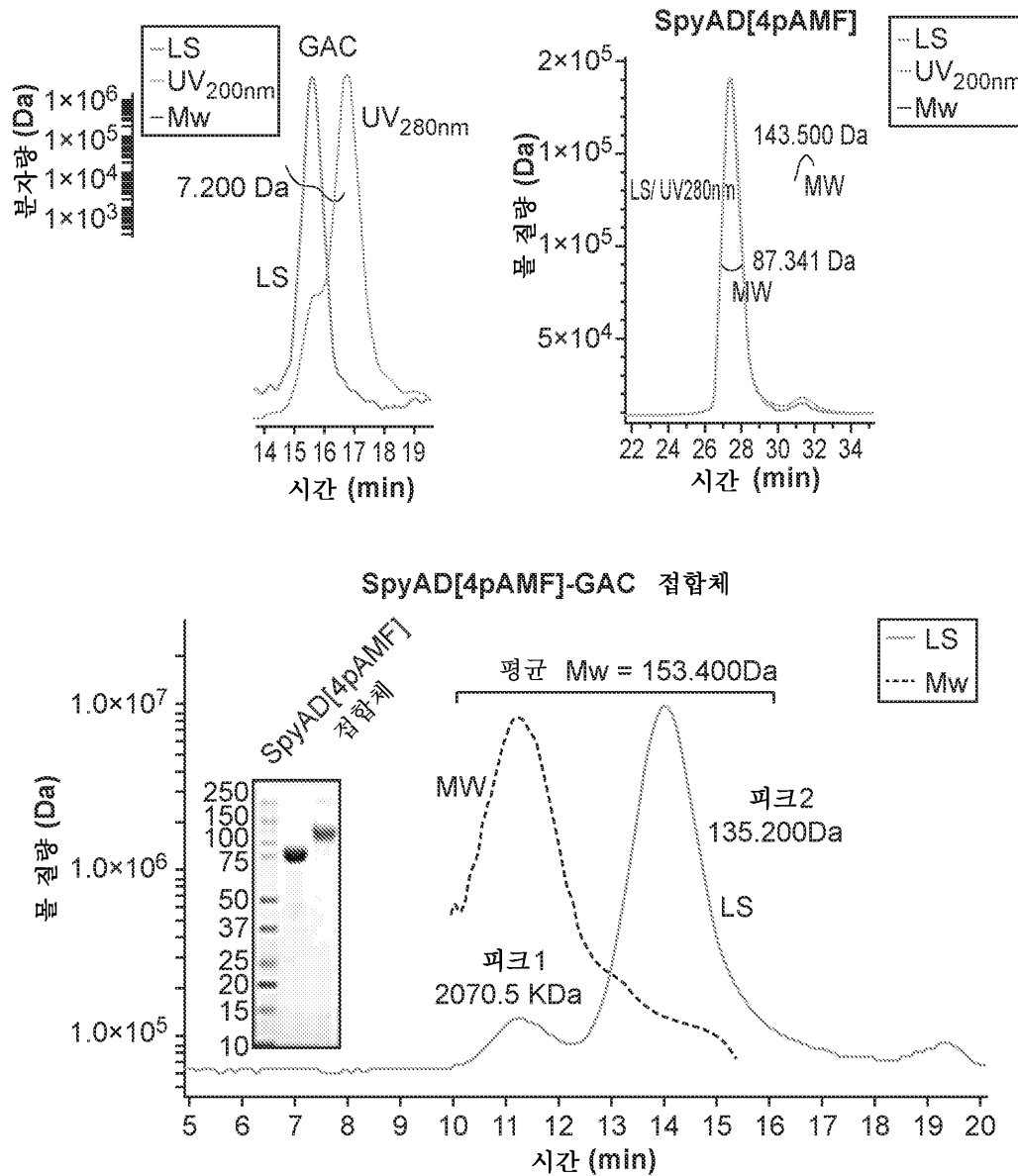
도면8



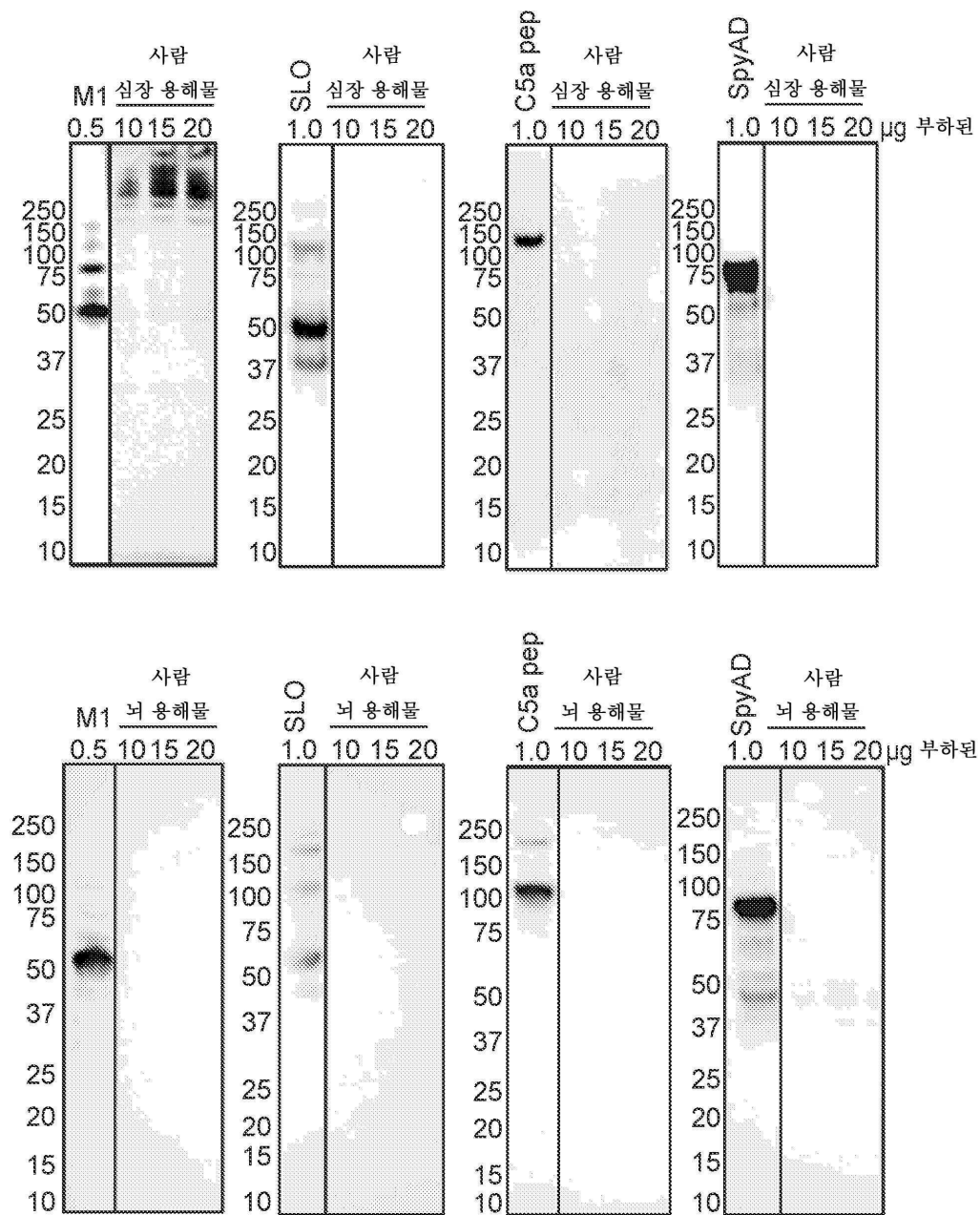
도면9



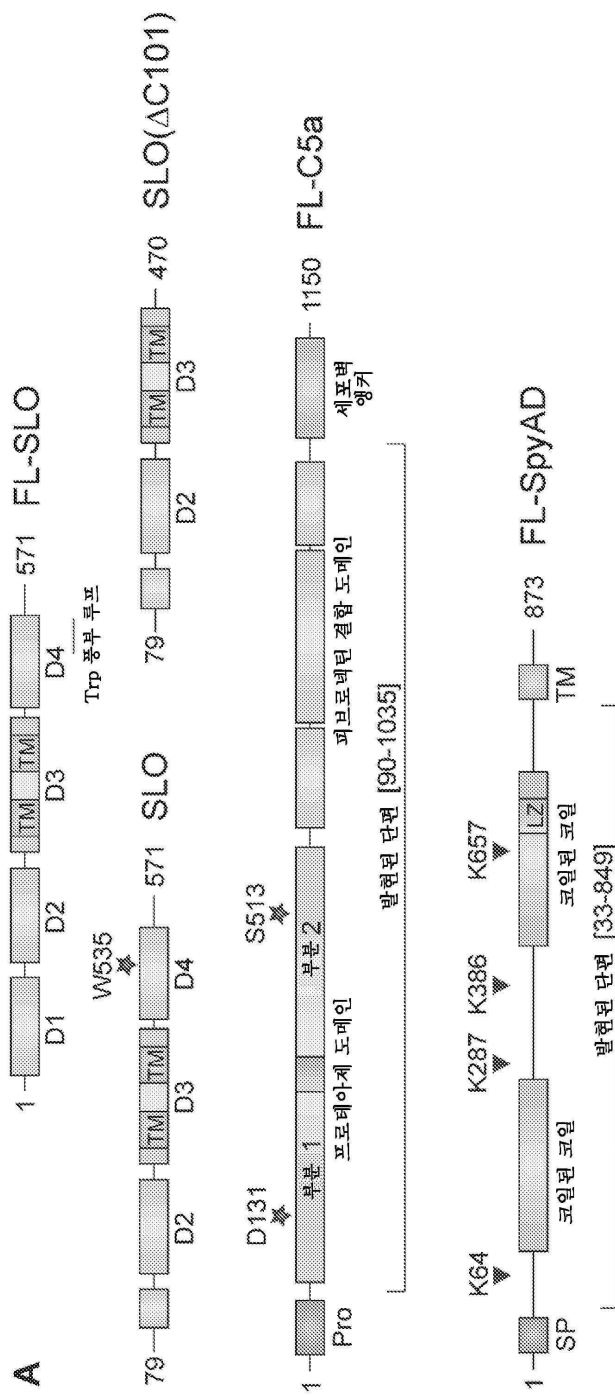
도면10



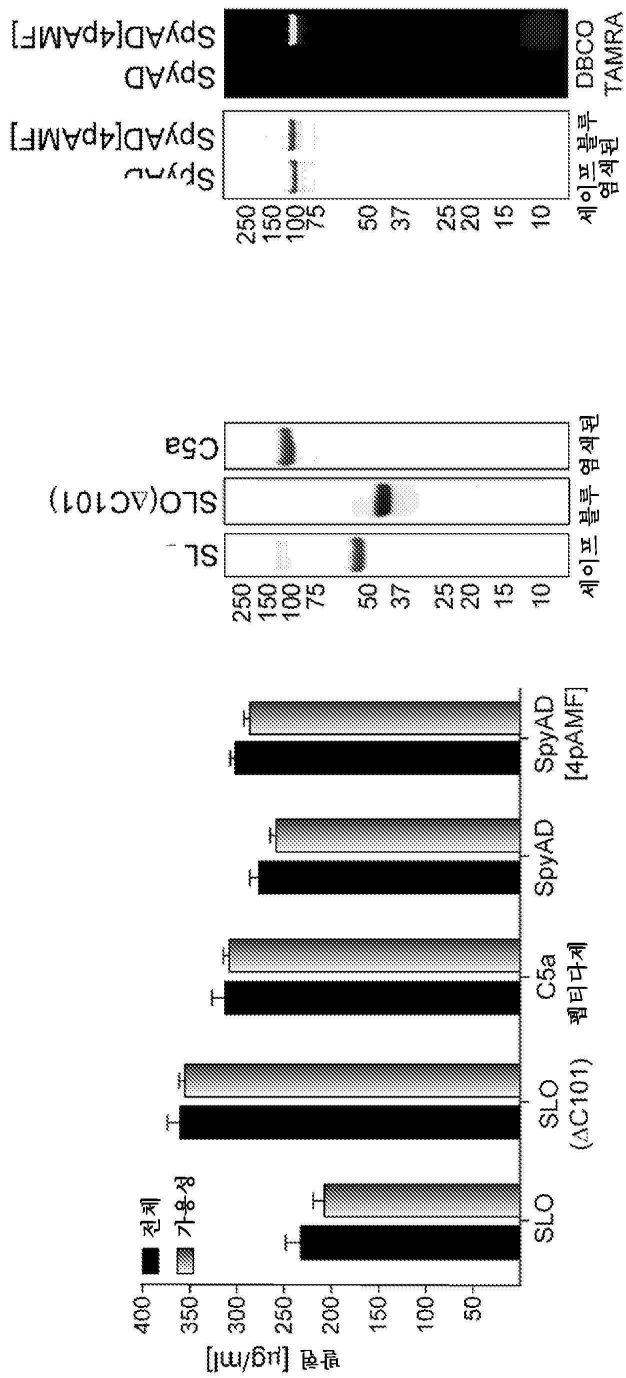
도면11



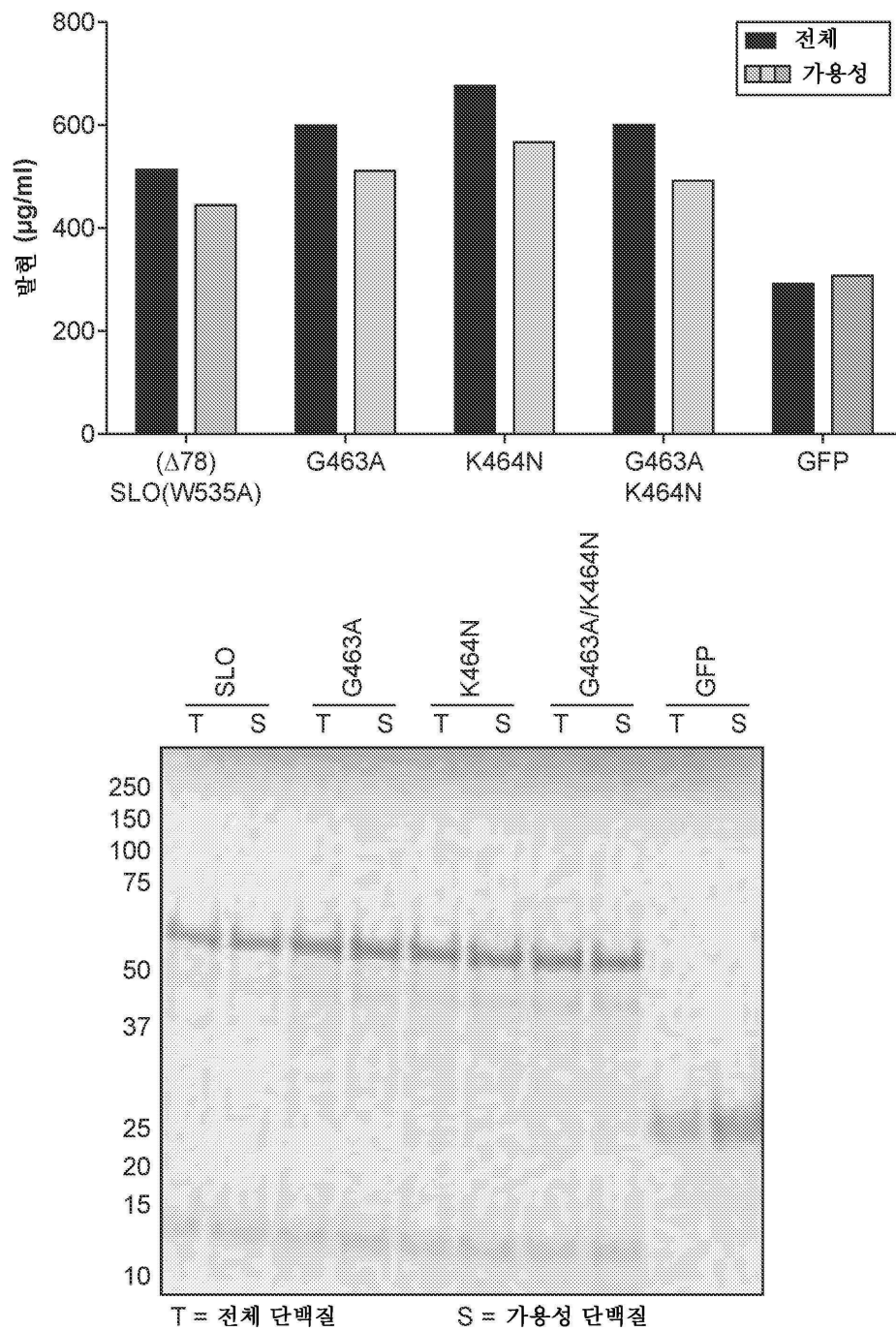
도면 12



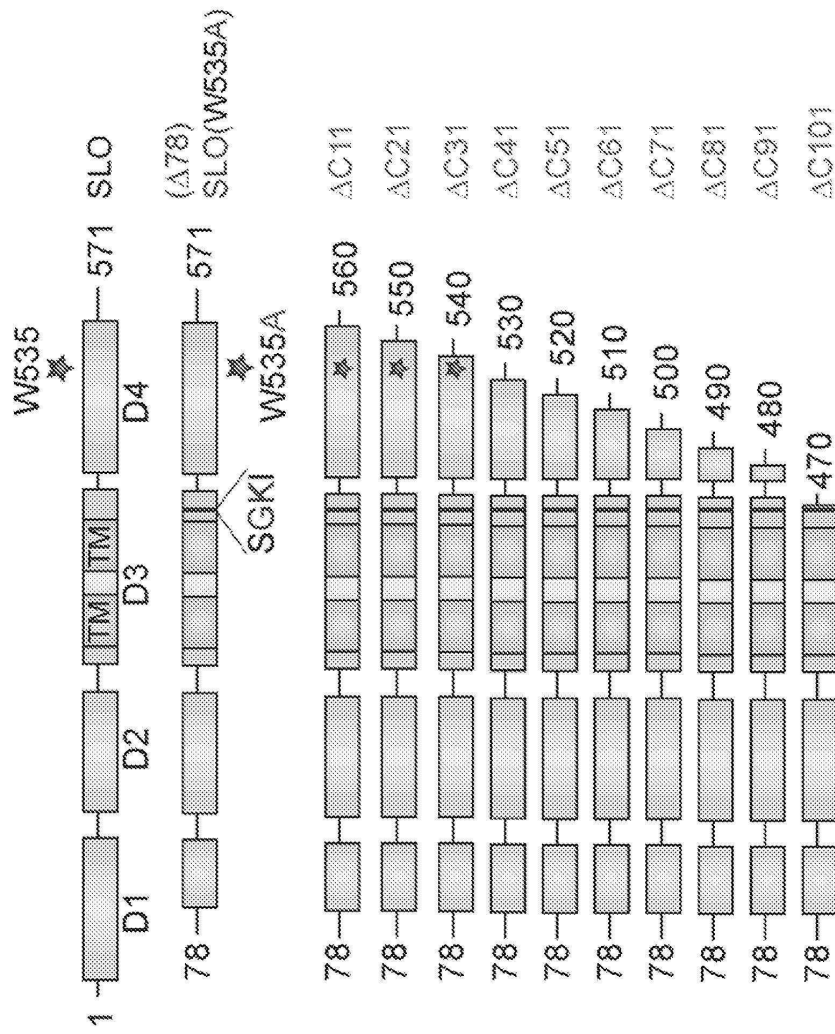
도면13



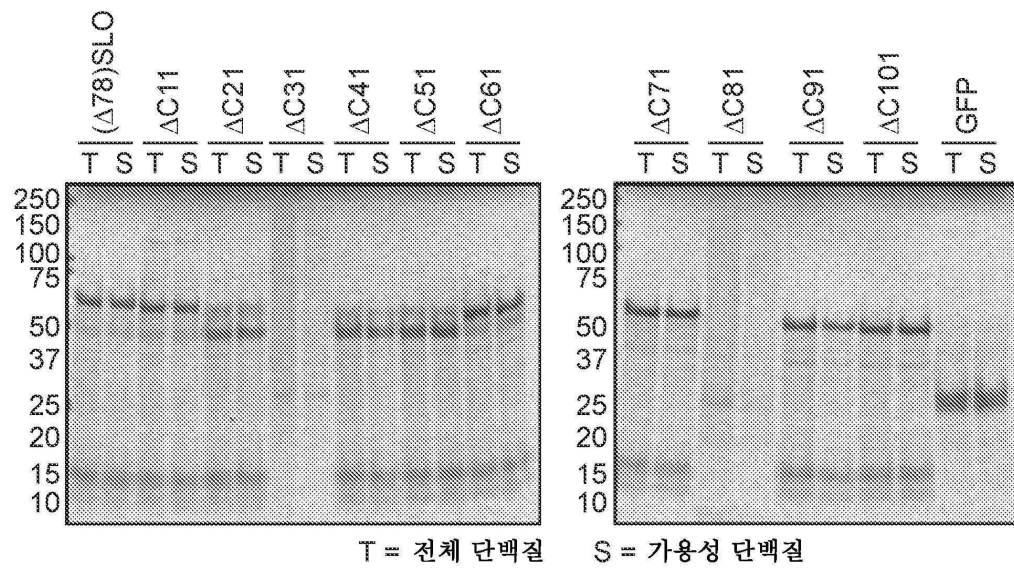
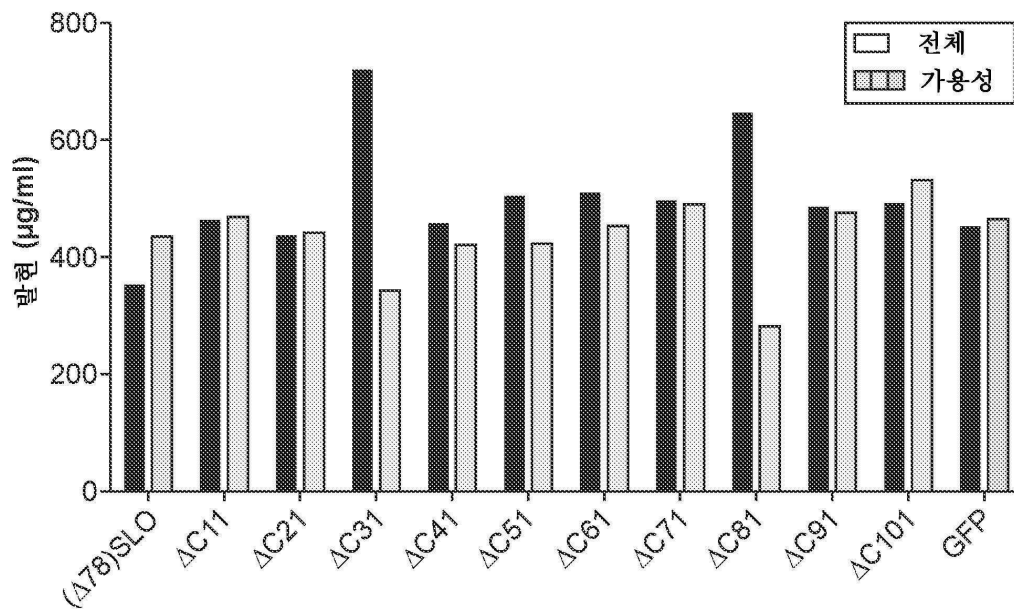
도면14



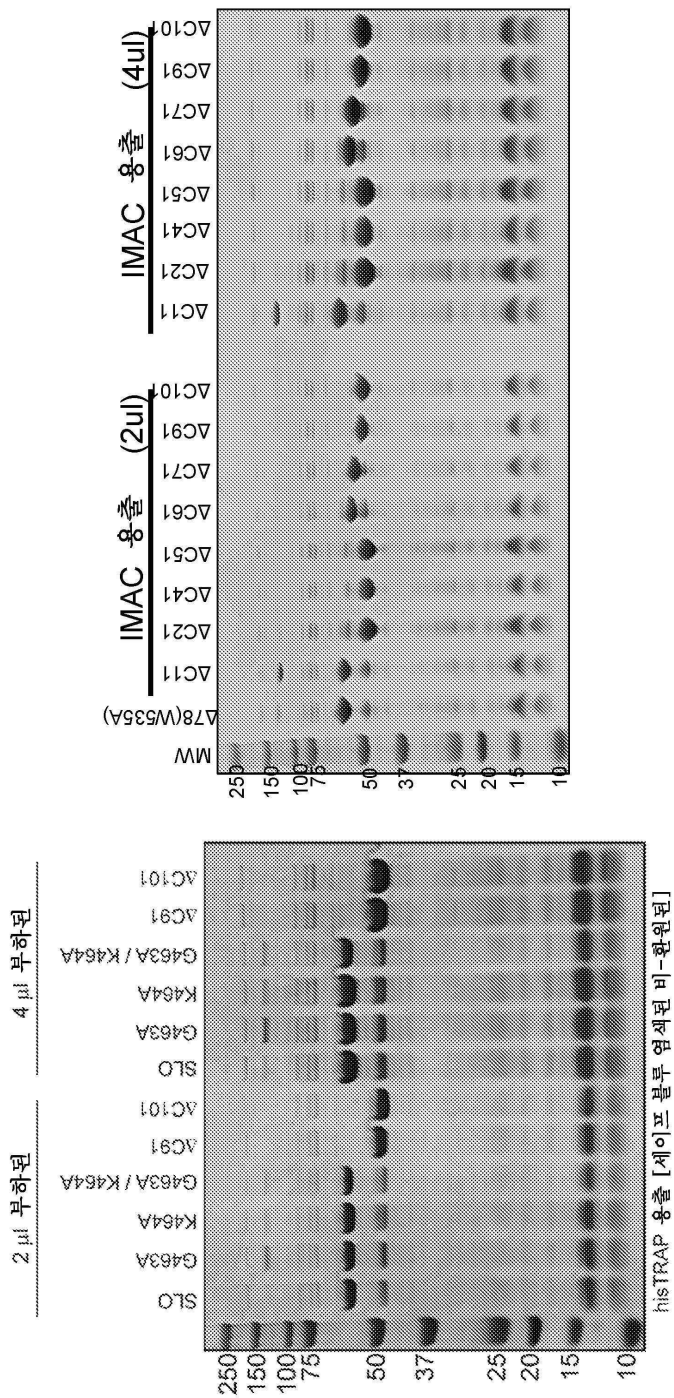
도면15



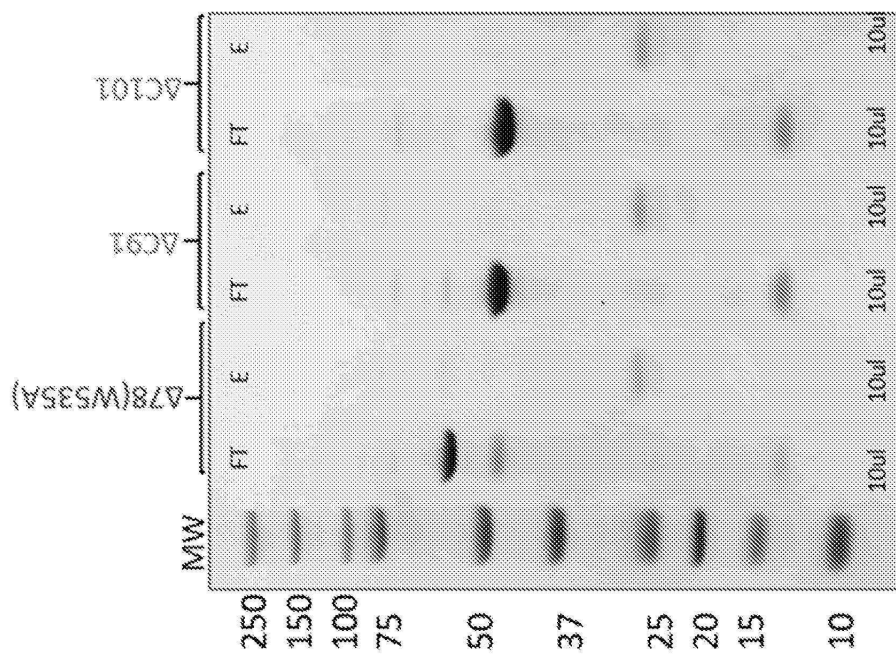
도면16



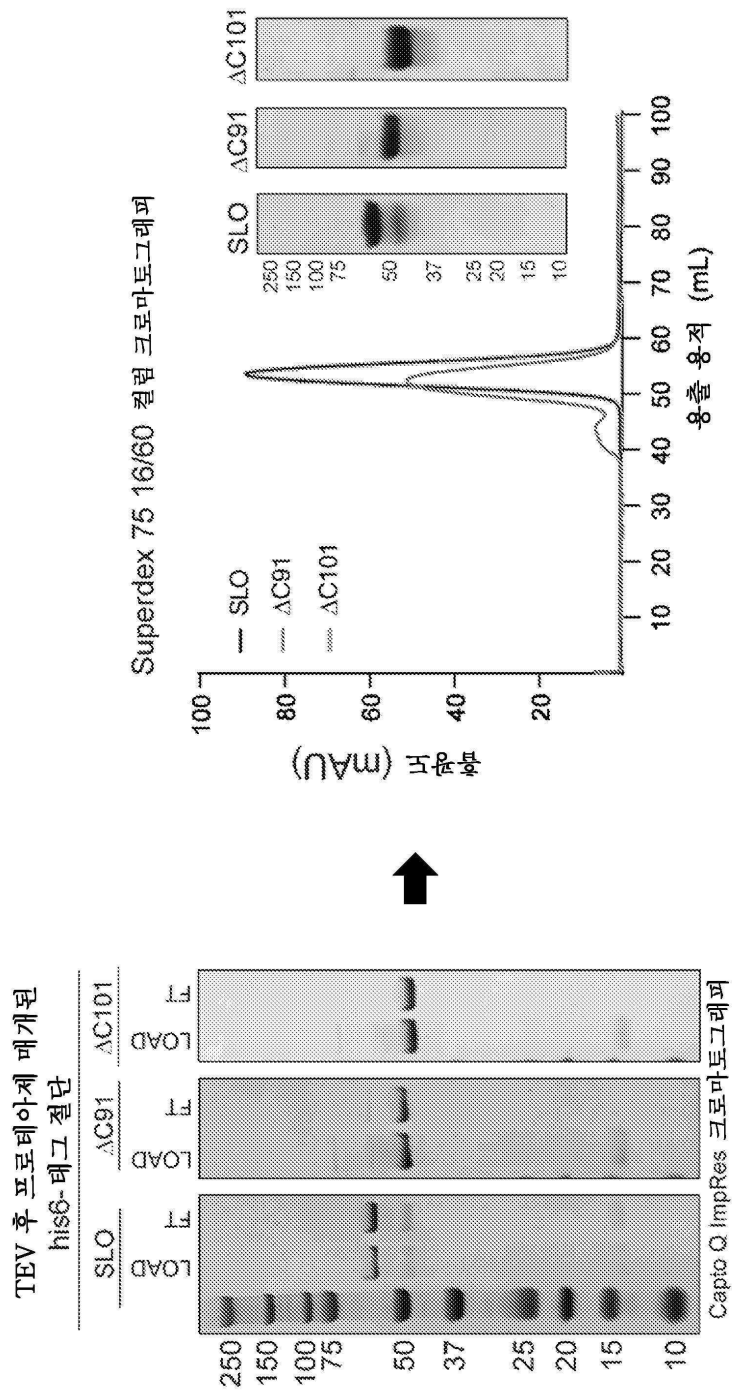
도면17



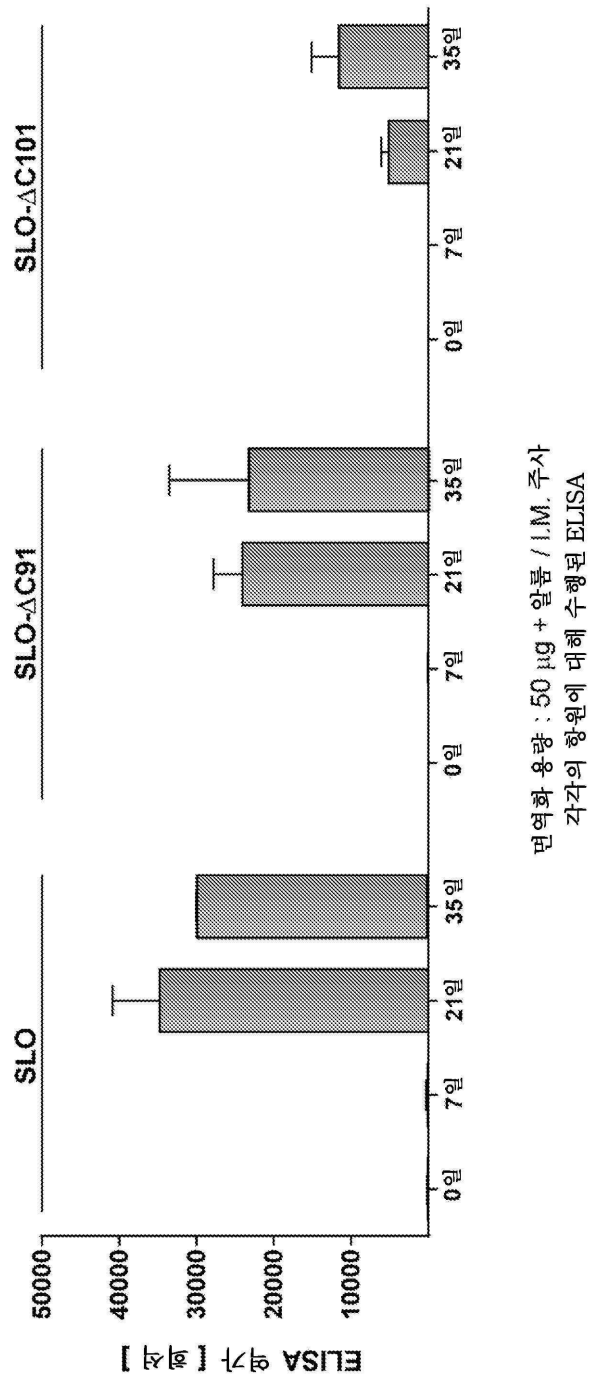
도면18



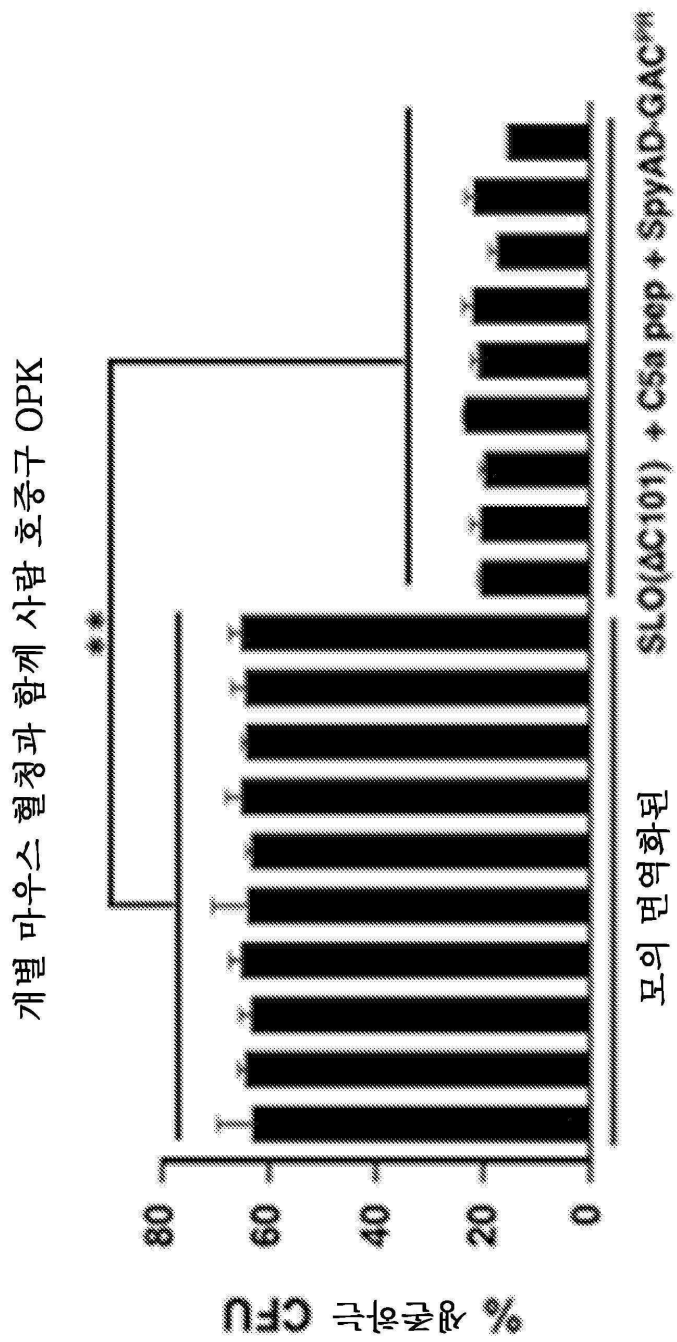
도면19



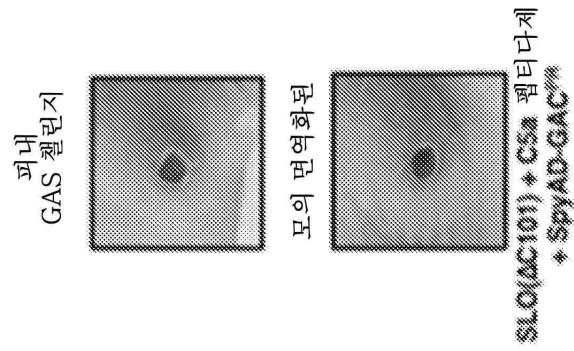
도면20



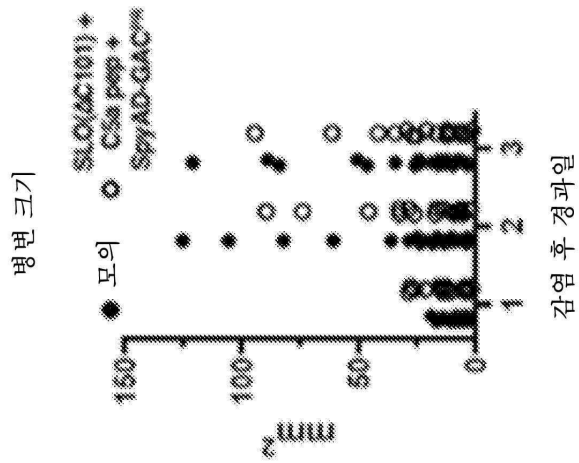
도면21



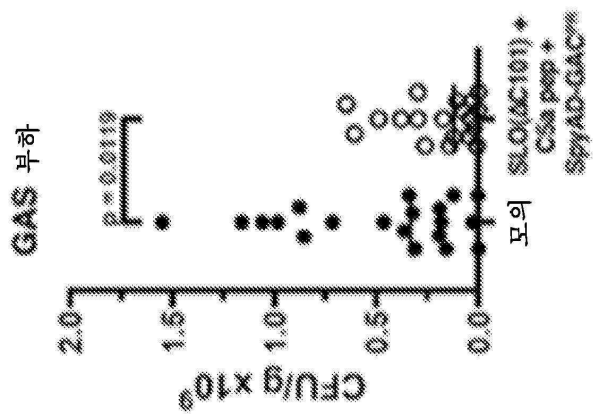
도면22a



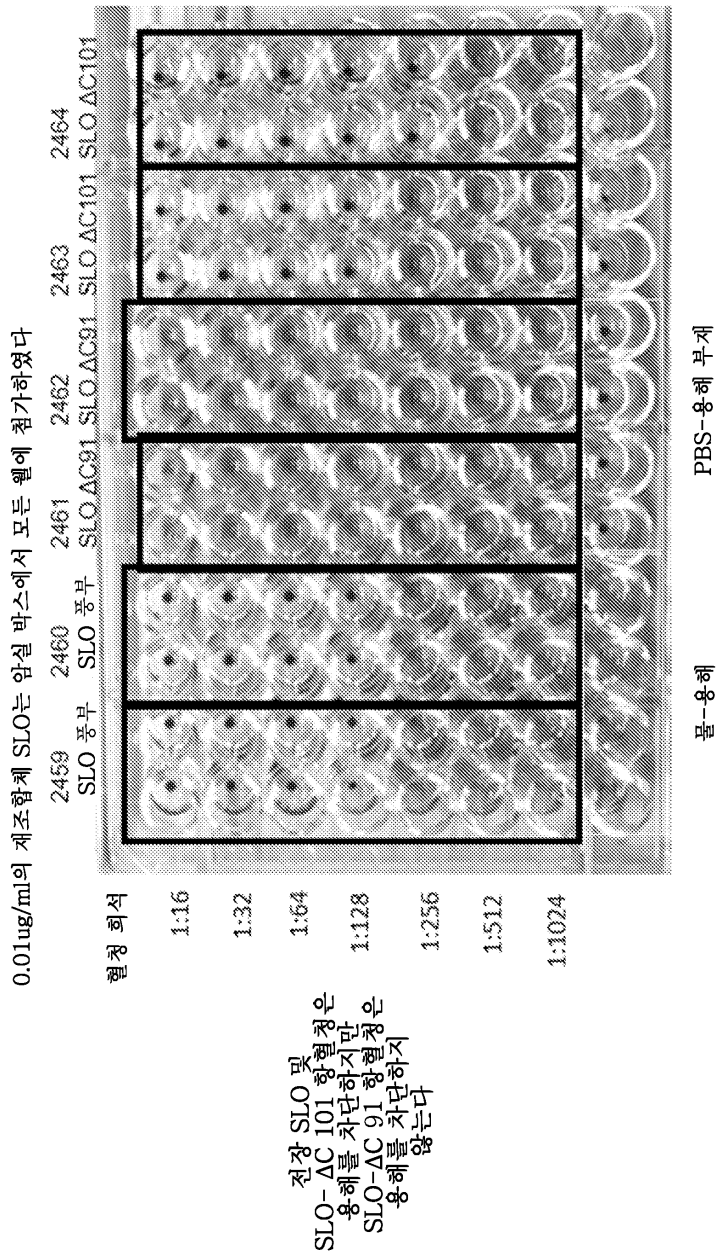
도면22b



도면22c

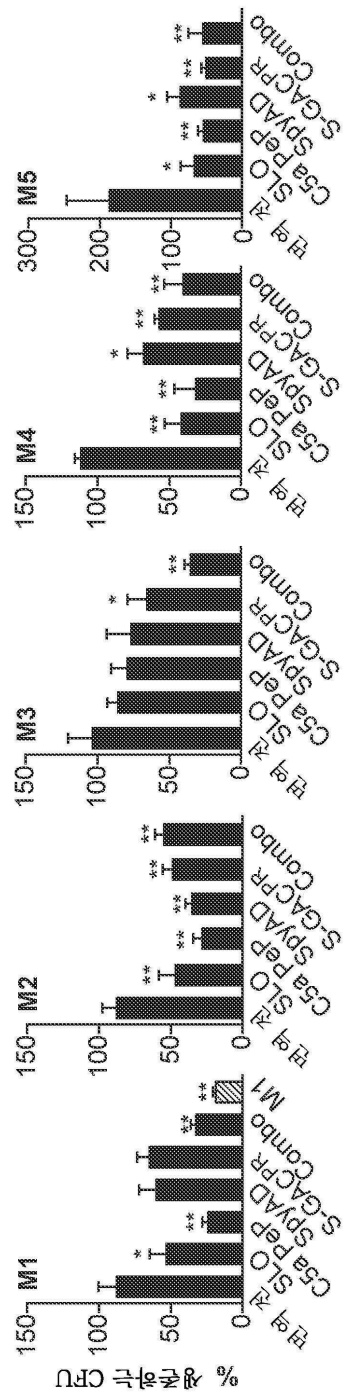


도면23

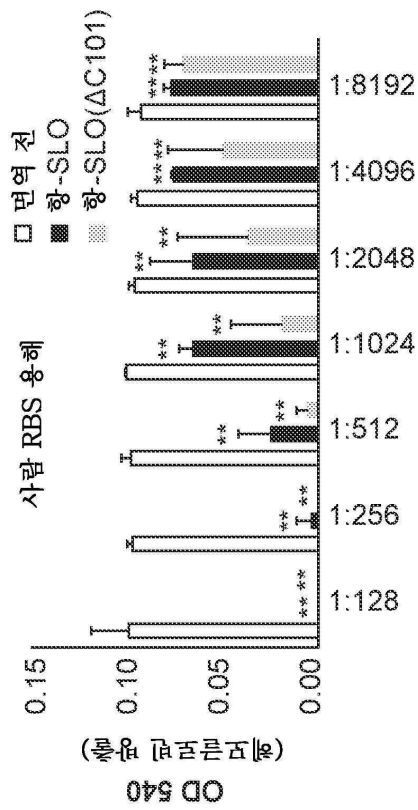


도면24a

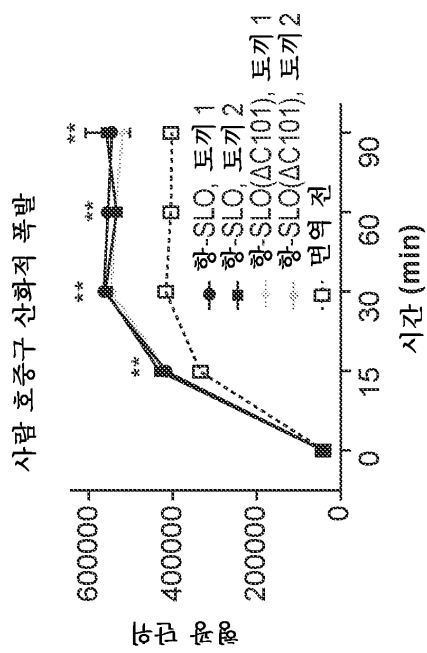
사람 호중구 음소노식세포작용 사멸



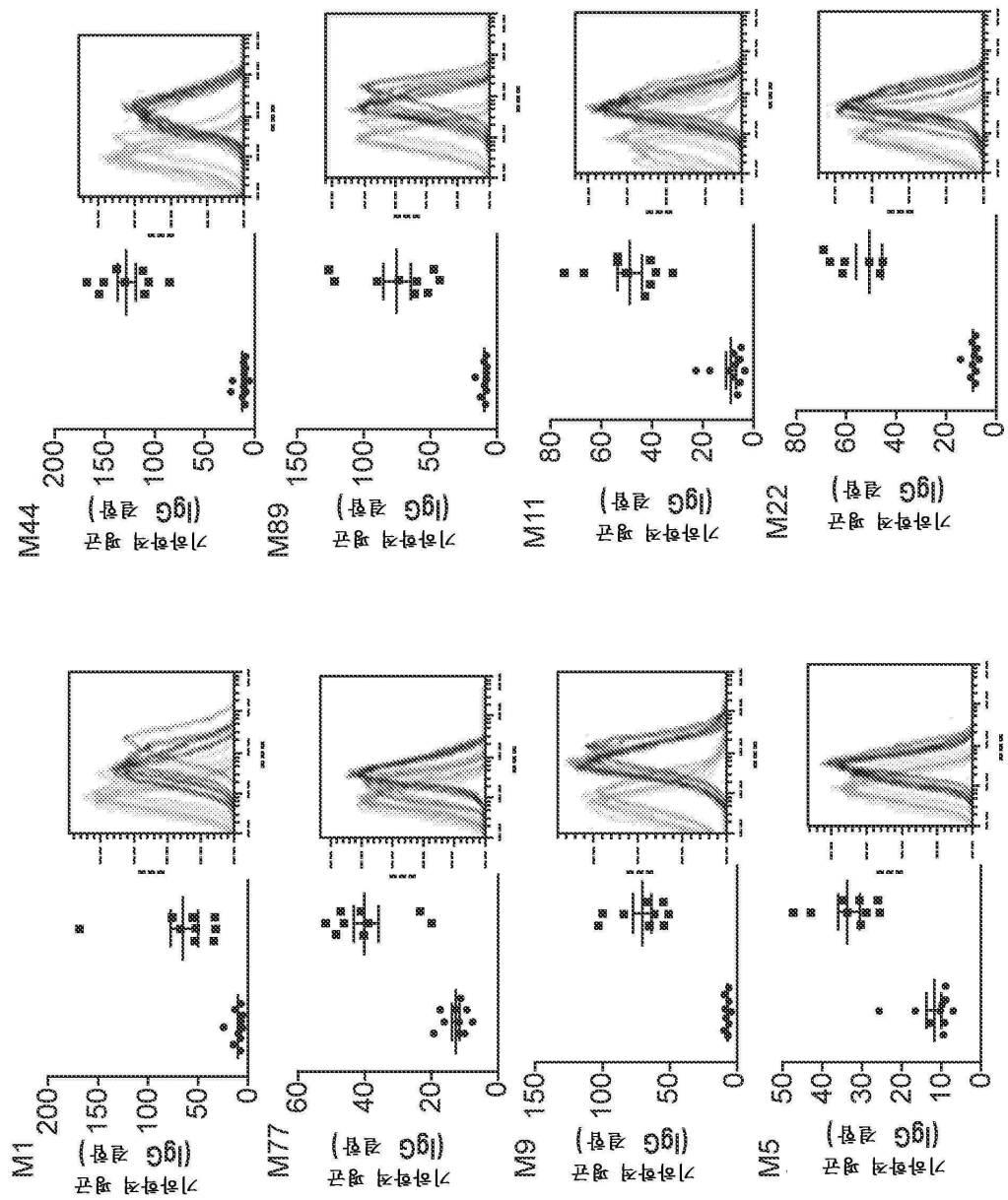
도면24b



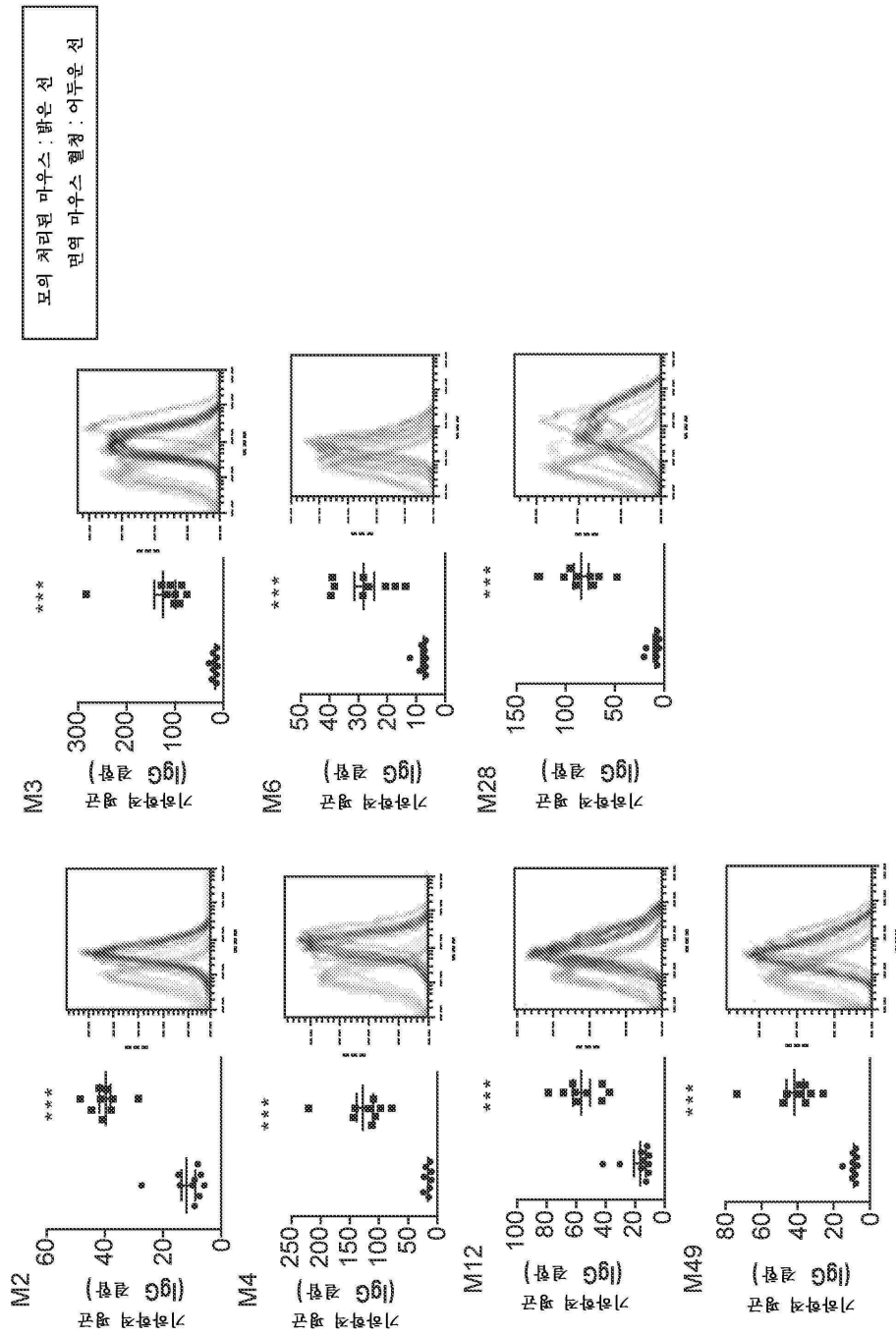
도면24c

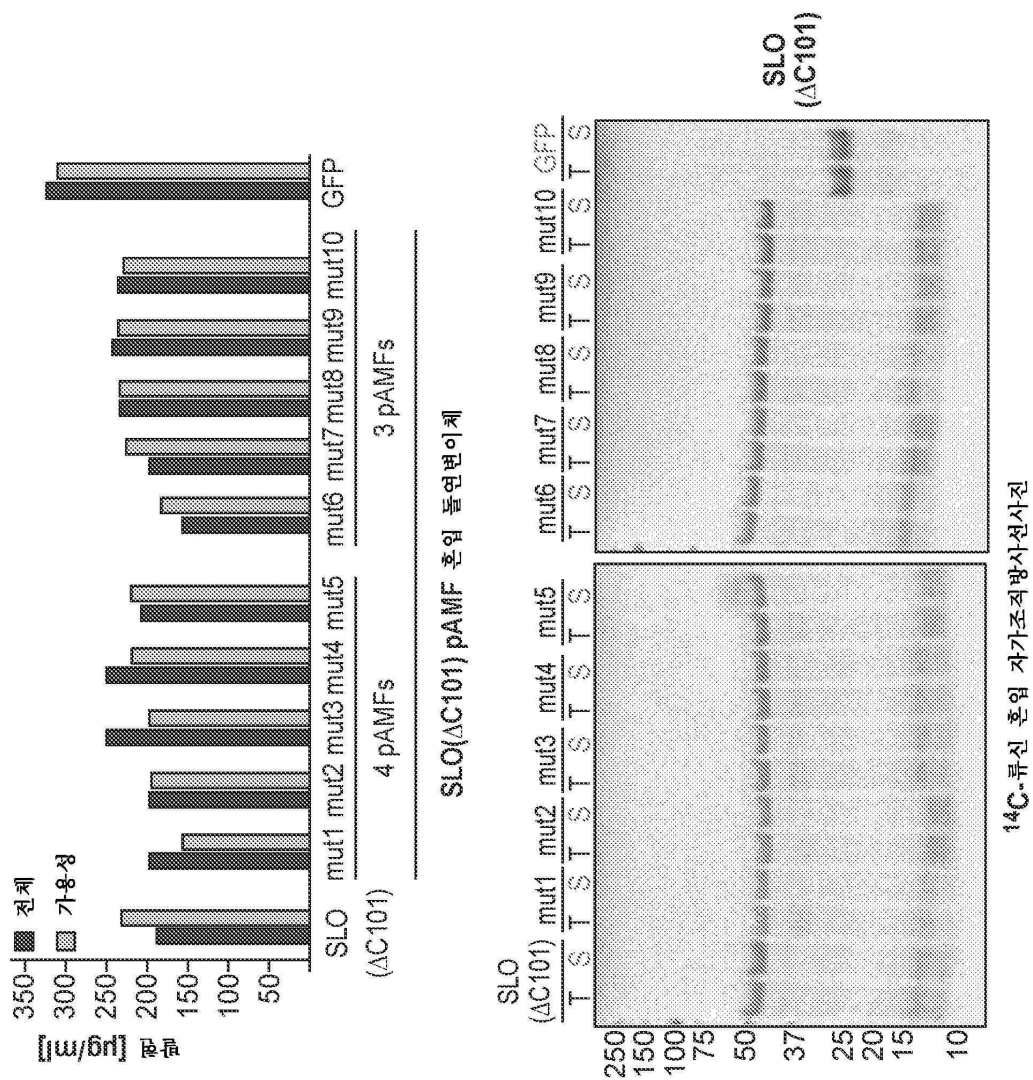


도면25a

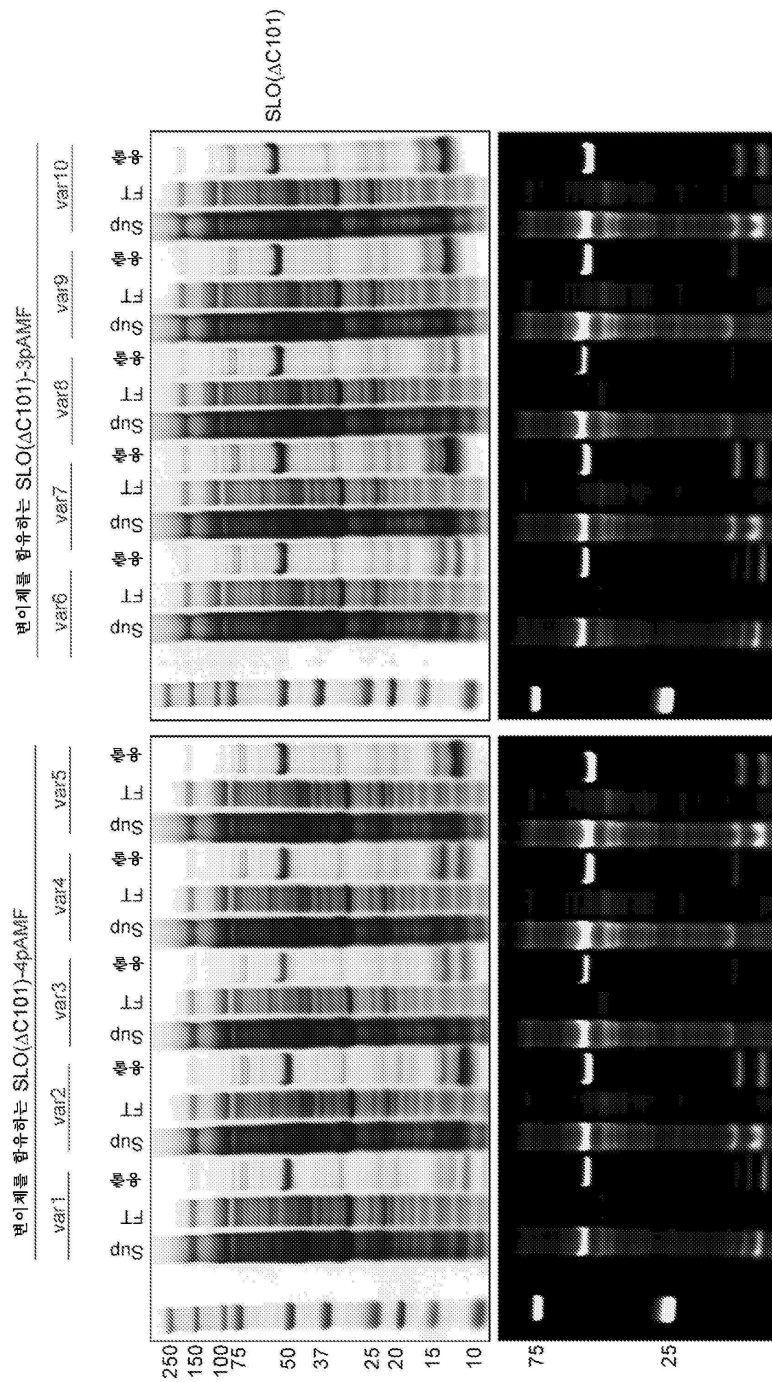


도면25b

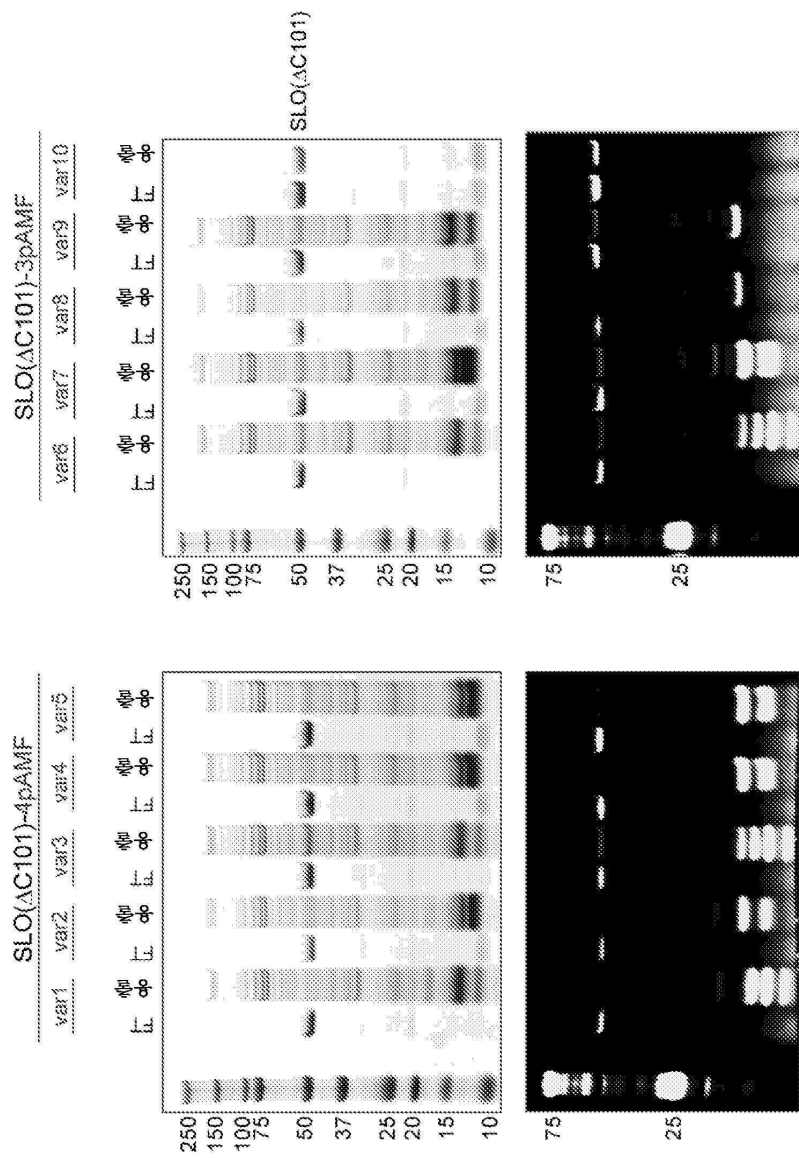




도면27a



도면27b



도면28

점합을 위해 밤새 25℃에서 DBCO 유도체화된 GAC를 SLO 변이체와 함께 항온처리한다

반응	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
단백질	60.0	48.0	80.0	48.0	40.0	17.8	20.9	48.0	21.8	30.0
PS-DBCO	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5	42.5
완충액 (10x PBS)	6.0	12.0	6.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0
물	11.5	17.5	-8.5	17.5	25.5	47.7	44.7	17.5	43.7	35.5
전체	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0	120.0

424.8

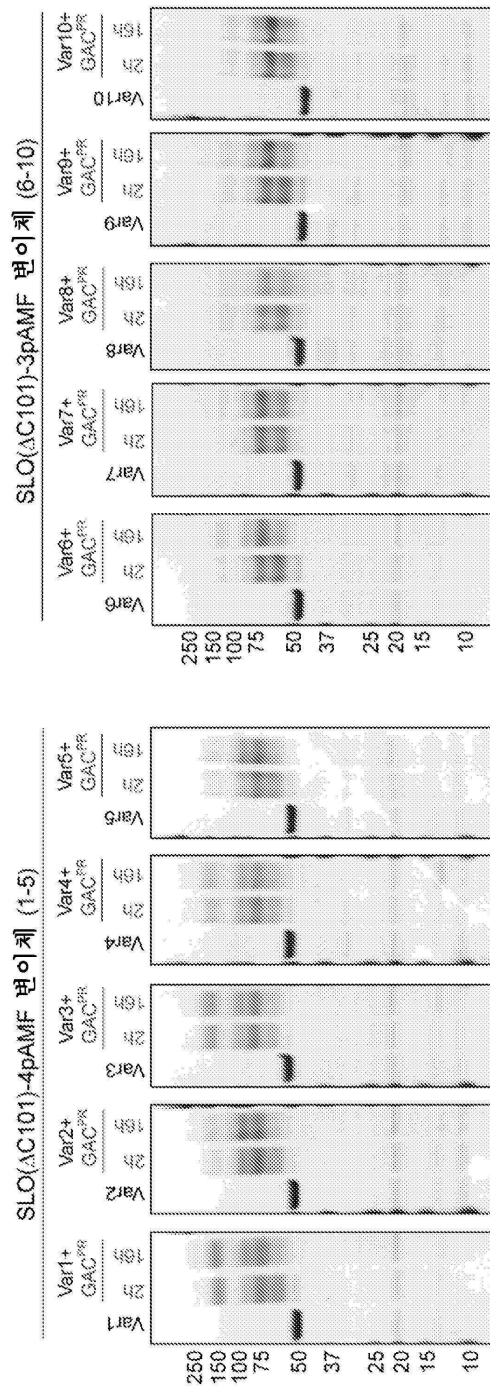
단백질 스펙	var1	var2	var3	var4	var5	var6	var7	var8	var9	var10
	0.8	1.0	0.6	1.0	1.2	2.7	2.3	1.0	2.2	1.6

mg/ml

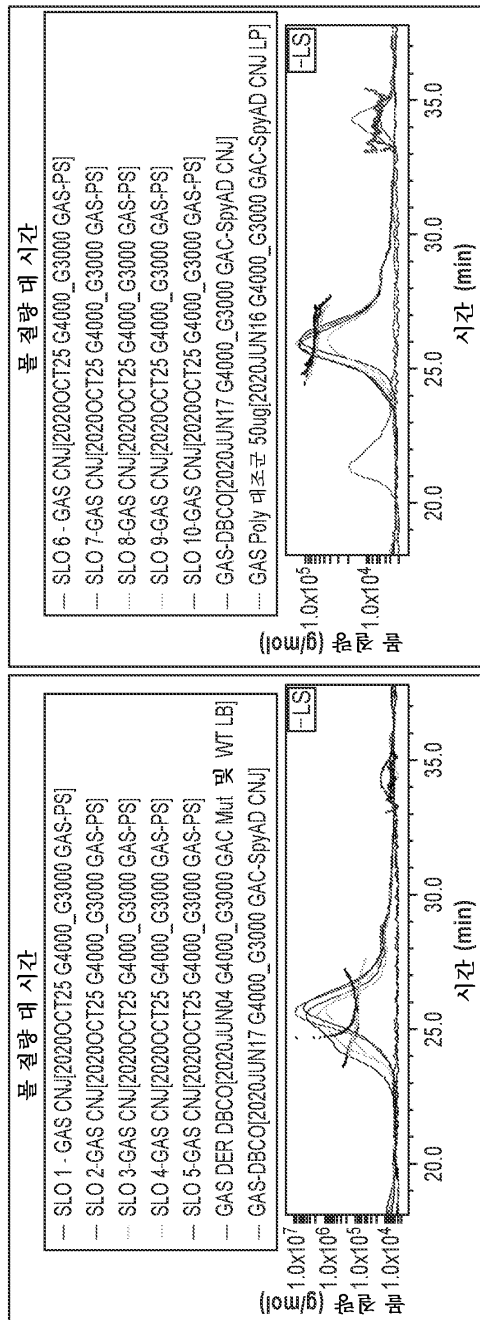
PS-DBCO 스펙	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13	1.13
------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

mg/ml

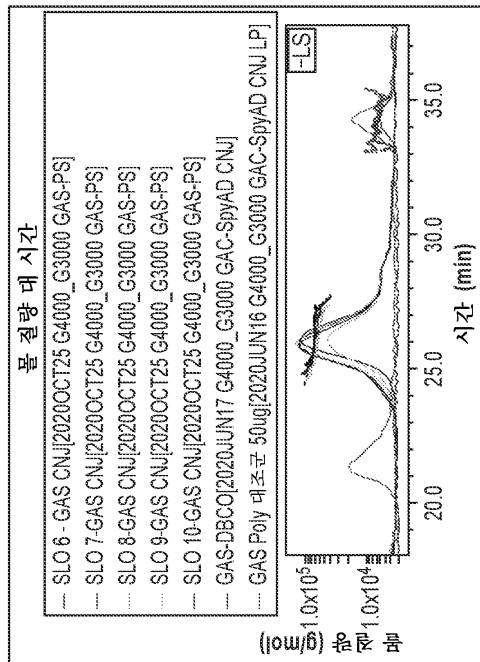
도면29



도면30

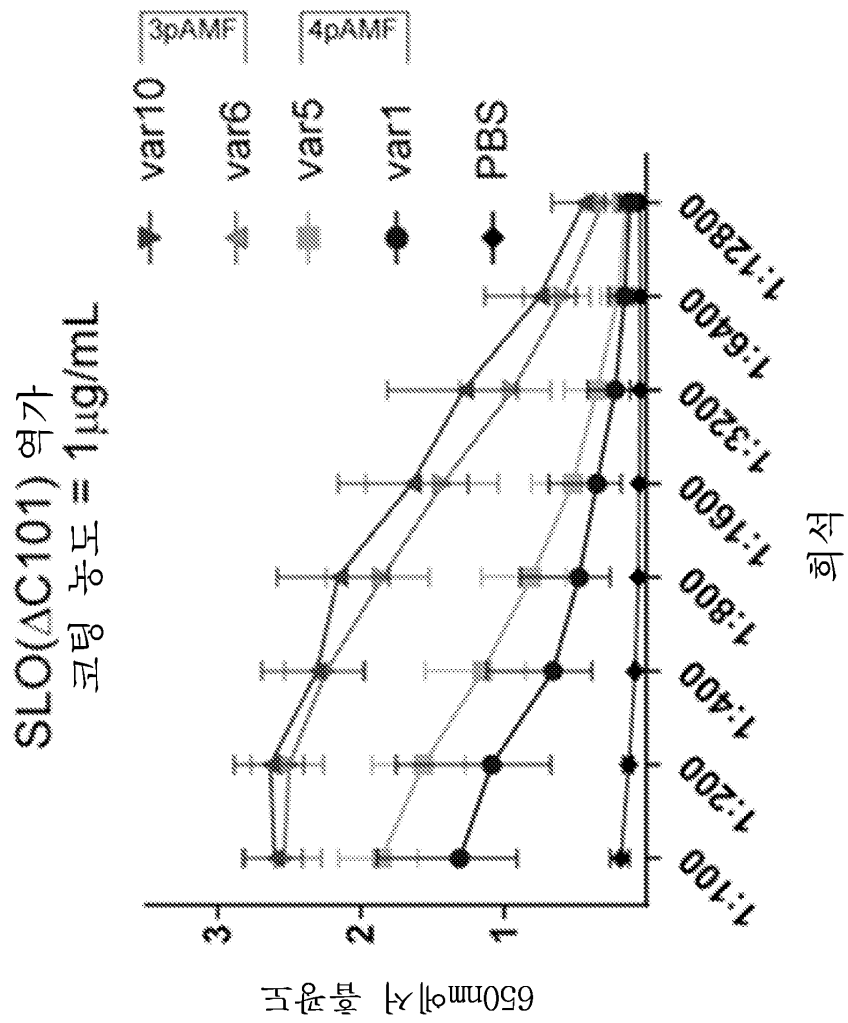


샘플 ID	Mw (kDa)
SLO 1 - GAC CNJ	97.1
SLO 2 - GAC CNJ	78.5
SLO 3 - GAC CNJ	90.4
SLO 4 - GAC CNJ	79.1
SLO 5 - GAC CNJ	116
GAC DER DBCO	6.2
GAC-DBCO	6.6

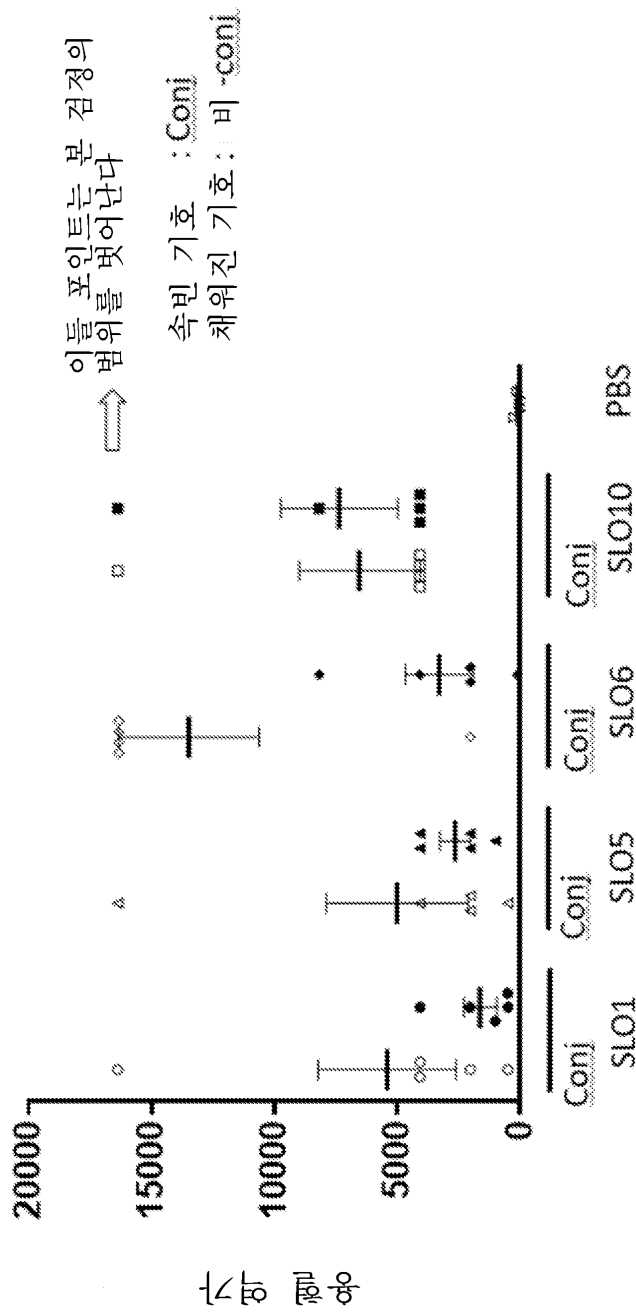


샘플 ID	Mw (kDa)
SLO 6 - GAC CNJ	67.4
SLO 7 - GAC CNJ	72.6
SLO 8 - GAC CNJ	62.6
SLO 9 - GAC CNJ	69.6
SLO 10 - GAC CNJ	73.3
GAC DER DBCO	6.6
GAC-Mut no Der	6.9

도면31a

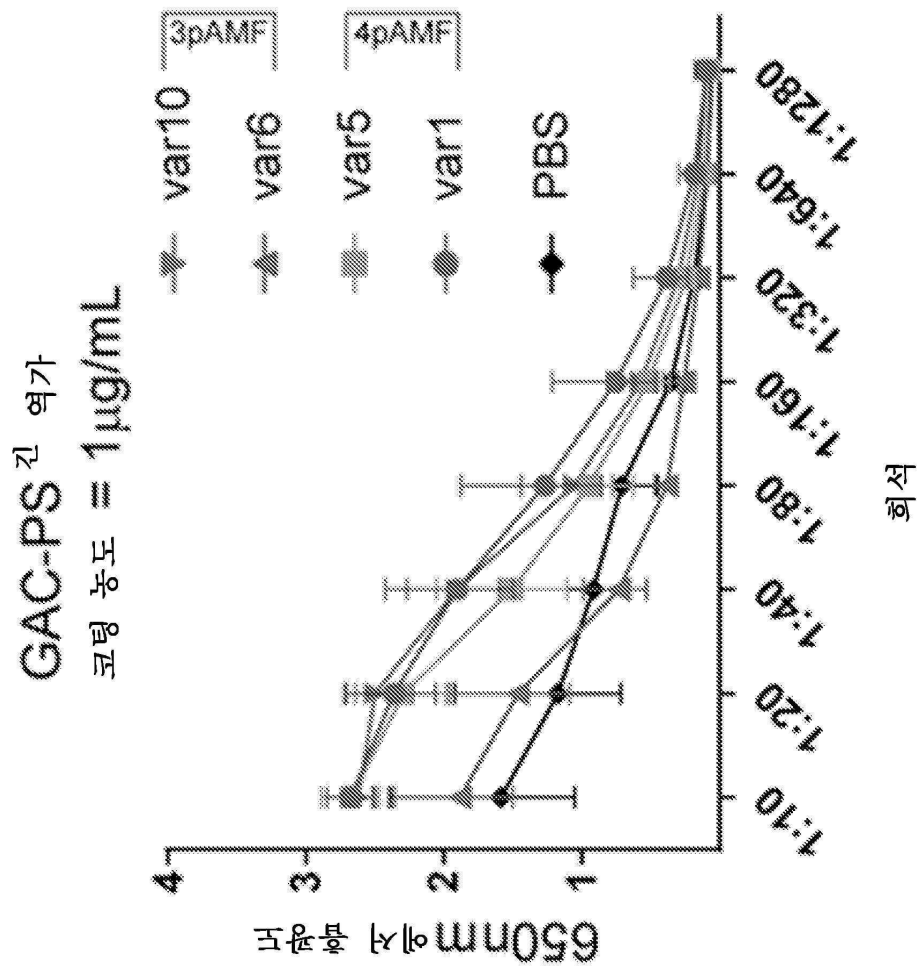


도면31b

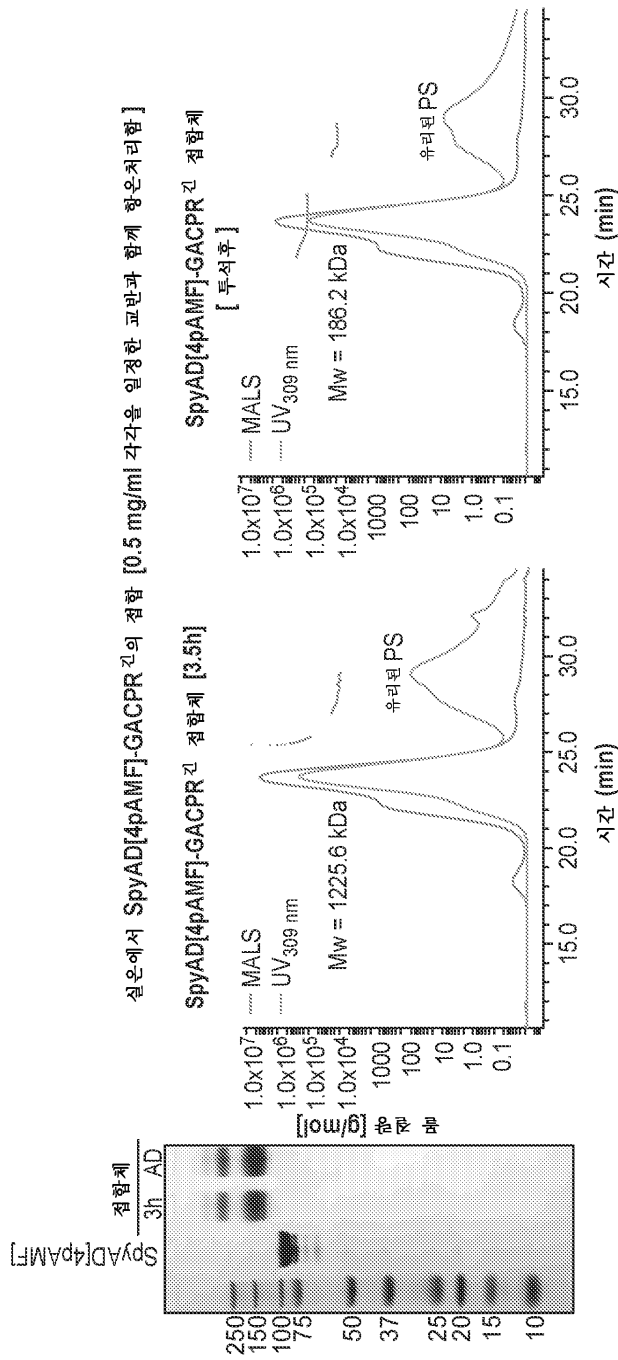


각각의 역가는 용혈이 100% RBC 용해 (H₂O) 대조군의 절반에 도달하는 포인트로써 기록하였다

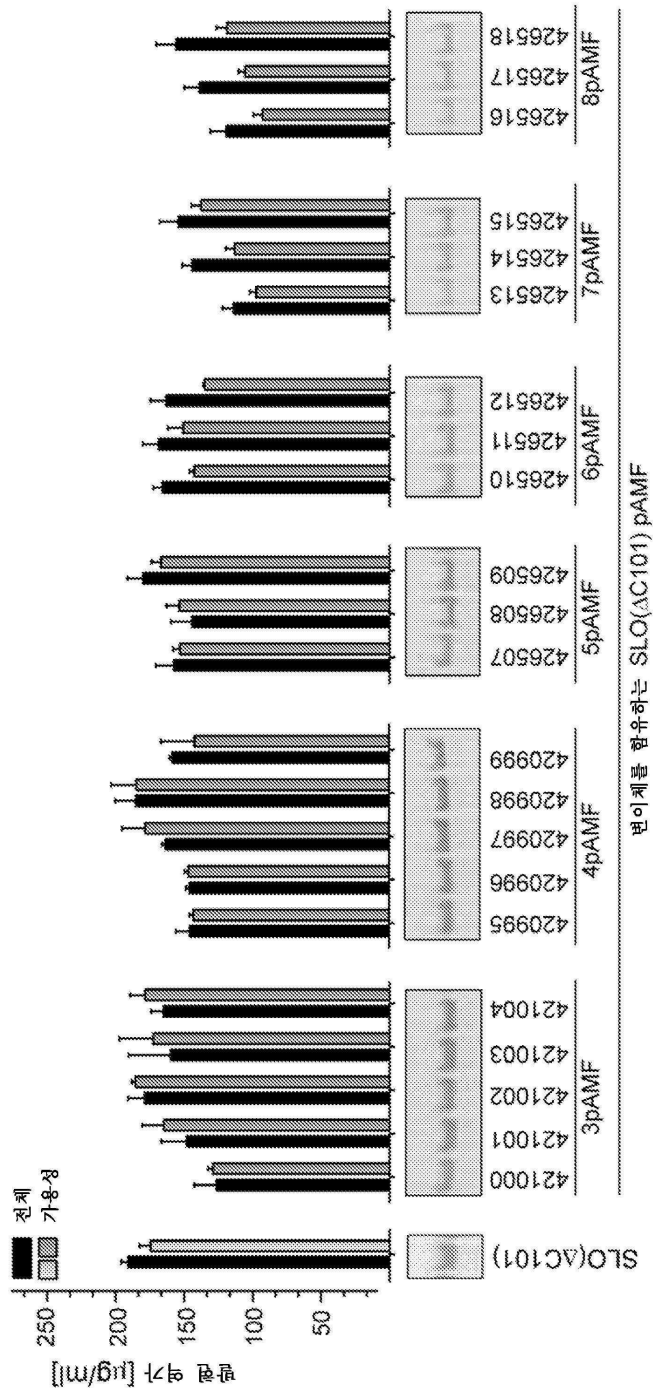
도면31c



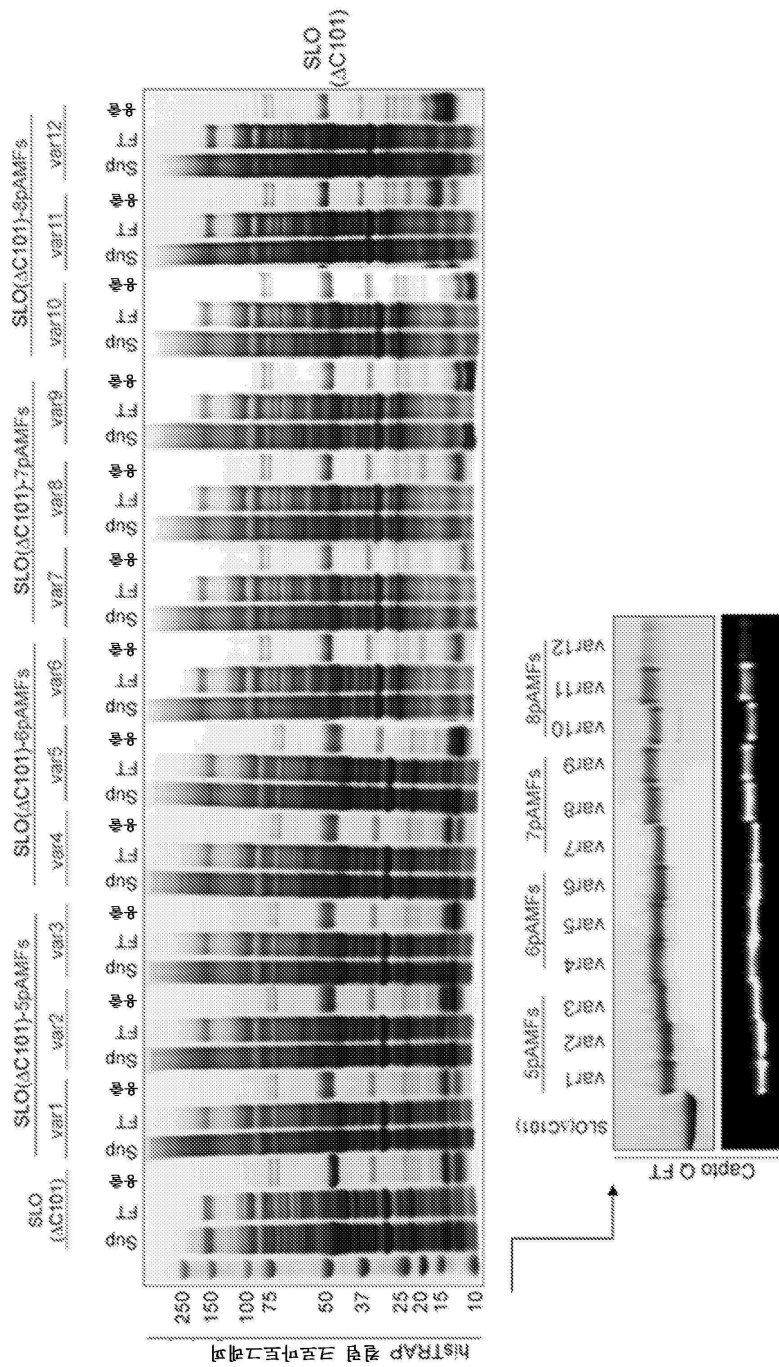
도면32



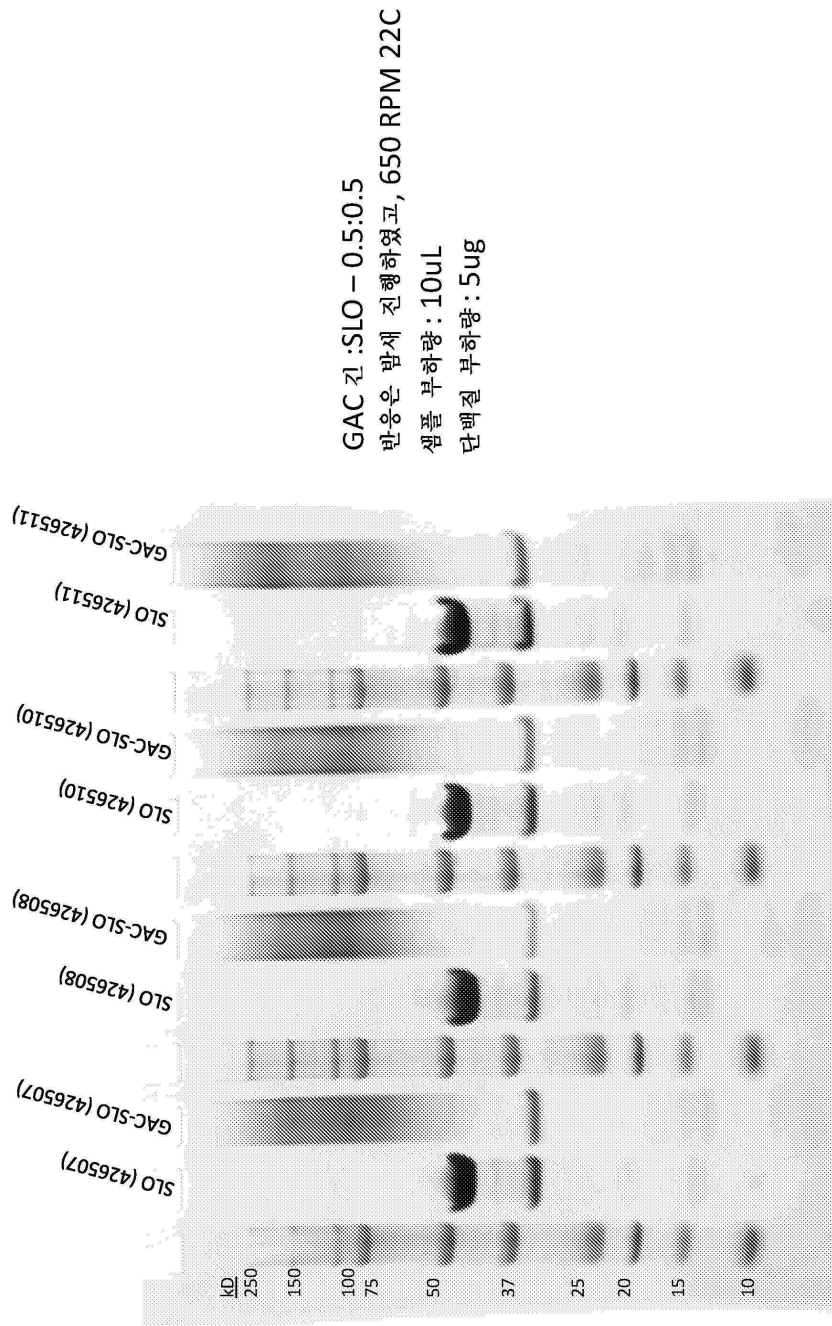
도면33a



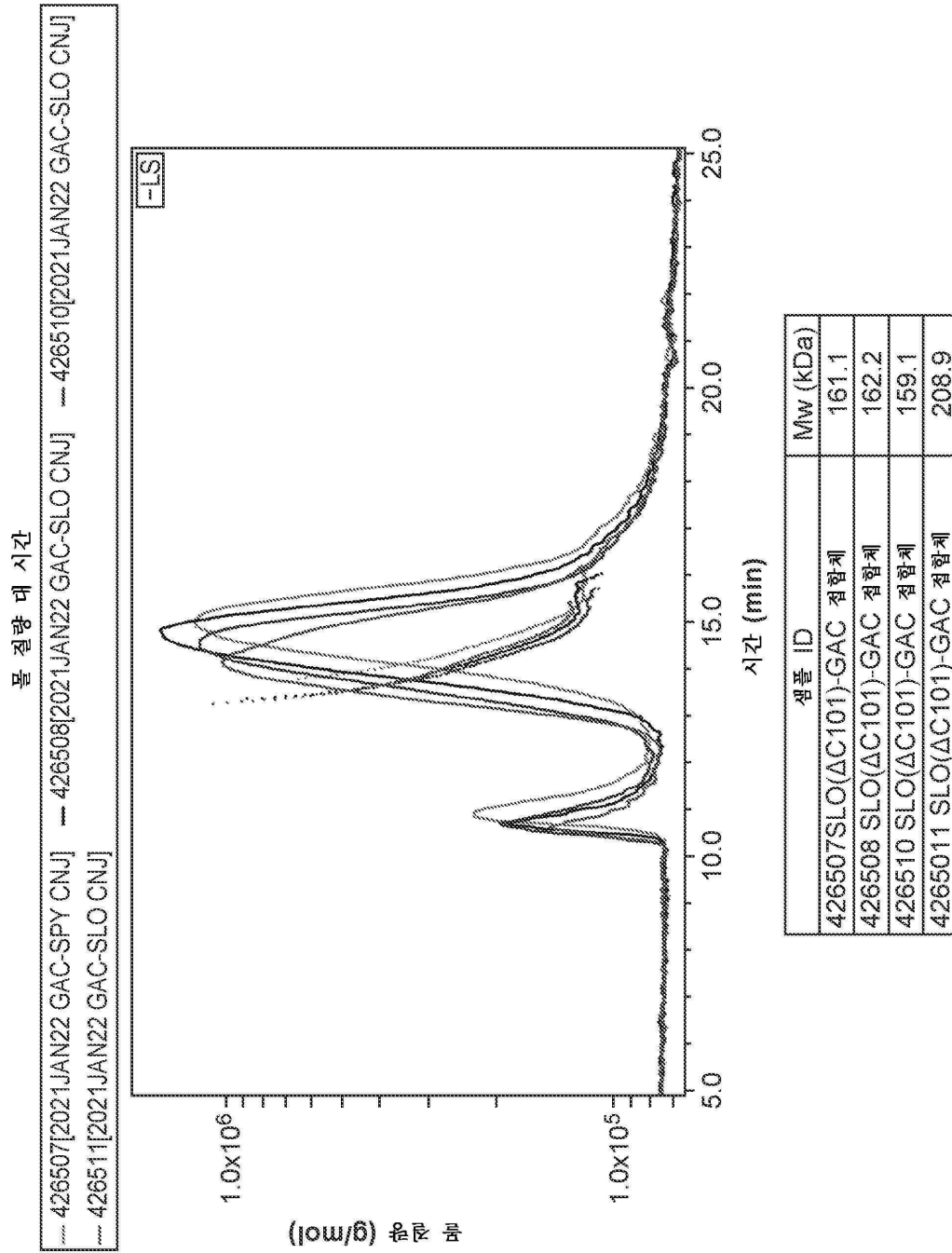
도면33b



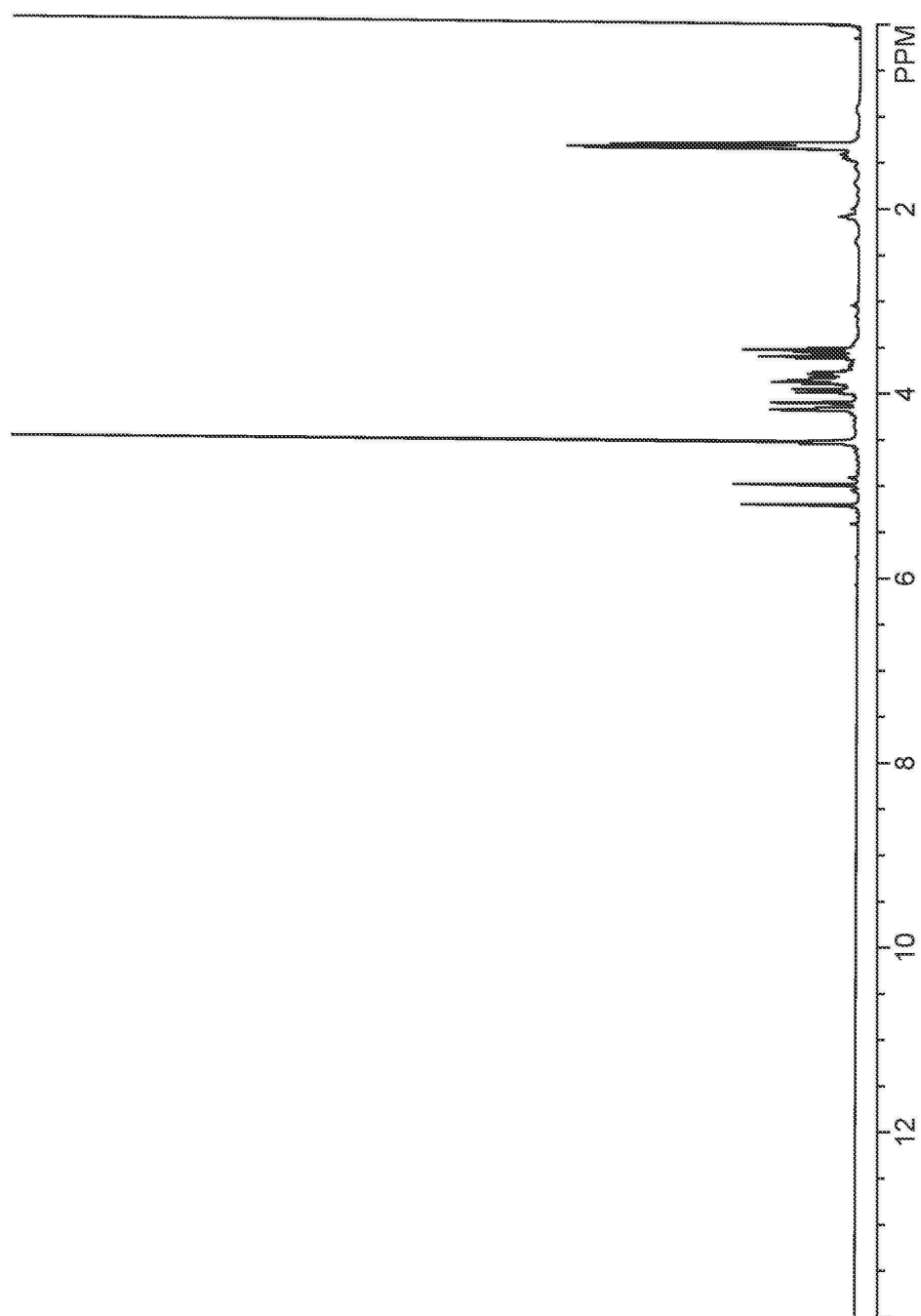
도면34



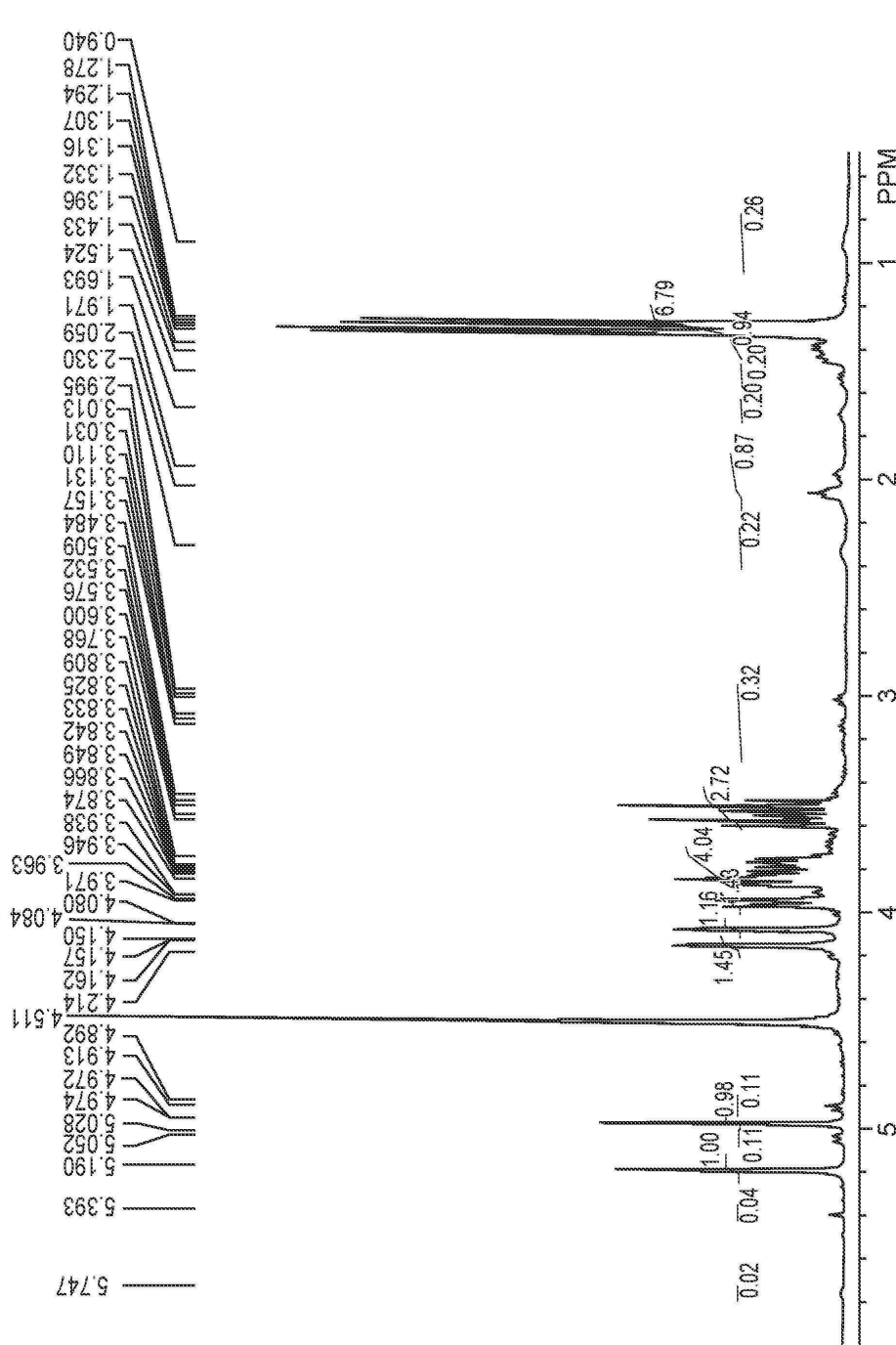
도면35



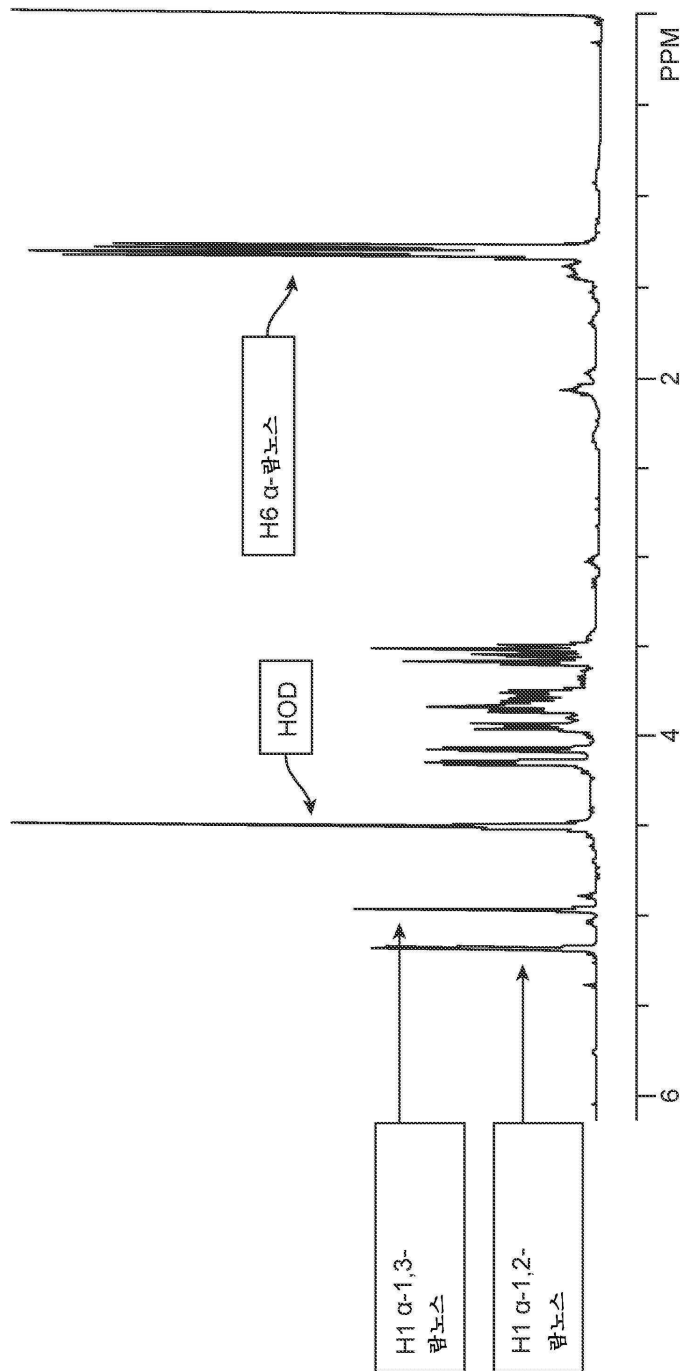
도면36a



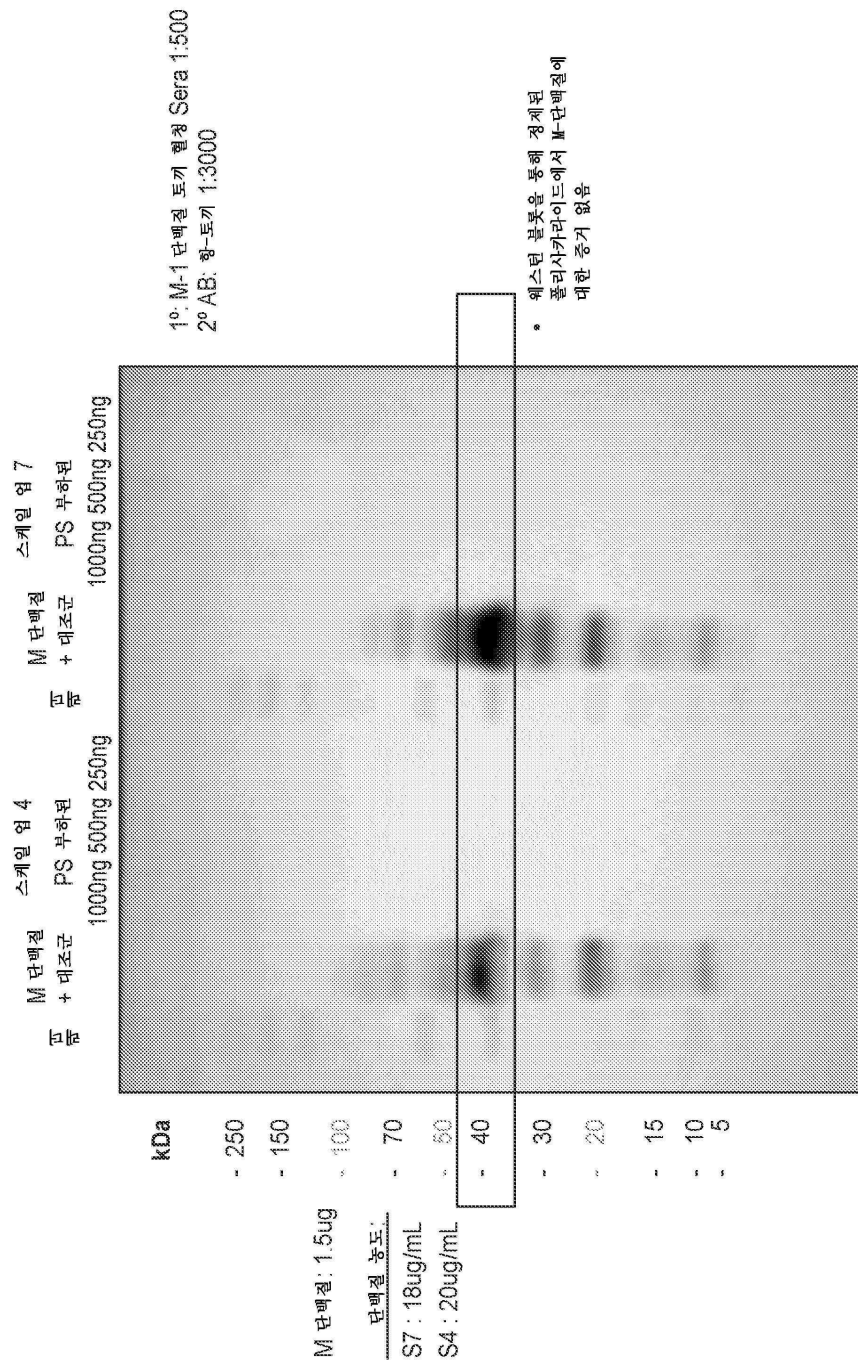
도면36b



도면36c



도면37



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Vaxcyte, INC.

<120> GROUP A STREP IMMUNOGENIC COMPOSITIONS WITH
POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES

<130> STRO-011/04W0 331540-2094

<150> US 62/977,886

<151> 2020-02-18
 <150> US 63/013,924
 <151> 2020-04-22
 <150> US 63/090,069
 <151> 2020-10-09
 <150> US 63/123,293
 <151> 2020-12-09
 <160> 76
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 962
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> C5a [90-1035 fragment] - WT w/ leader

<400> 1
 Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
 20 25 30
 Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
 35 40 45
 Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn
 50 55 60

His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser
 65 70 75 80
 Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
 85 90 95
 Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp
 100 105 110
 Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile
 115 120 125

Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu

130	135	140	
Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val			
145	150	155	160
Asn Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp			
	165	170	175
Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala			
	180	185	190
Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp			
	195	200	205
Tyr Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp			
	210	215	220
Ser Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp			
225	230	235	240
Tyr Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val			
	245	250	255
Ala Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys			
	260	265	270
Thr Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg			
	275	280	285
Phe Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met			
	290	295	300
Lys Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu			
305	310	315	320
Arg Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala			
	325	330	335
Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro			
	340	345	350
Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg			
	355	360	365
Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe			
	370	375	380

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
 385 390 395 400
 Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
 405 410 415
 Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
 420 425 430
 Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
 435 440 445

 Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
 450 455 460
 Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
 465 470 475 480
 Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
 485 490 495
 Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
 500 505 510

 Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
 515 520 525
 Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
 530 535 540
 Asp Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys
 545 550 555 560
 Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr
 565 570 575

 Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr
 580 585 590
 Val Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met
 595 600 605
 Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro
 610 615 620
 Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp

625					630					635					640				
Phe	Gly	Asn	Leu	Ser	Ala	Leu	Glu	Lys	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ser	Lys	Asp				
					645					650					655				
Gly	Ser	Ser	Tyr	Tyr	His	Glu	Ala	Asn	Ser	Asp	Ala	Lys	Asp	Gln	Leu				
					660					665					670				
Asp	Gly	Asp	Gly	Leu	Gln	Phe	Tyr	Ala	Leu	Lys	Asn	Asn	Phe	Thr	Ala				
					675					680					685				
Leu	Thr	Thr	Glu	Ser	Asn	Pro	Trp	Thr	Ile	Ile	Lys	Ala	Val	Lys	Glu				
690					695					700									
Gly	Val	Glu	Asn	Ile	Glu	Asp	Ile	Glu	Ser	Ser	Glu	Ile	Thr	Glu	Thr				
705					710					715					720				
Ile	Phe	Ala	Gly	Thr	Phe	Ala	Lys	Gln	Asp	Asp	Asp	Ser	His	Tyr	Tyr				
					725					730					735				
Ile	His	Arg	His	Ala	Asn	Gly	Lys	Pro	Tyr	Ala	Ala	Ile	Ser	Pro	Asn				
					740					745					750				
Gly	Asp	Gly	Asn	Arg	Asp	Tyr	Val	Gln	Phe	Gln	Gly	Thr	Phe	Leu	Arg				
755					760					765									
Asn	Ala	Lys	Asn	Leu	Val	Ala	Glu	Val	Leu	Asp	Lys	Glu	Gly	Asn	Val				
770					775					780									
Val	Trp	Thr	Ser	Glu	Val	Thr	Glu	Gln	Val	Val	Lys	Asn	Tyr	Asn	Asn				
785					790					795					800				
Asp	Leu	Ala	Ser	Thr	Leu	Gly	Ser	Thr	Arg	Phe	Glu	Lys	Thr	Arg	Trp				
					805					810					815				
Asp	Gly	Lys	Asp	Lys	Asp	Gly	Lys	Val	Val	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Thr				
					820					825					830				
Tyr	Arg	Val	Arg	Tyr	Thr	Pro	Ile	Ser	Ser	Gly	Ala	Lys	Glu	Gln	His				
835					840					845									
Thr	Asp	Phe	Asp	Val	Ile	Val	Asp	Asn	Thr	Thr	Pro	Glu	Val	Ala	Thr				
850					855					860									
Ser	Ala	Thr	Phe	Ser	Thr	Glu	Asp	Arg	Arg	Leu	Thr	Leu	Ala	Ser	Lys				
865					870					875					880				

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
885 890 895

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
900 905 910

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
915 920 925

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
930 935 940

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser
945 950 955 960

Asn Lys

<210> 2

<211> 945

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 2

Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp Leu
1 5 10 15

Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys Gly
20 25 30

Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn His
35 40 45

Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser Lys

50 55 60

Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly Glu
65 70 75 80

Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp Gly
85 90 95

Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile Leu
100 105 110

Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu Gly

115 120 125

Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val Asn

130 135 140

Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp Ala

145 150 155 160

Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala Ala

165 170 175

Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp Tyr

180 185 190

Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp Ser

195 200 205

Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp Tyr

210 215 220

Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val Ala

225 230 235 240

Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys Thr

245 250 255

Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg Phe

260 265 270

Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met Lys

275 280 285

Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu Arg

290 295 300

Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala Gly

305 310 315 320

Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro Ile

325 330 335

Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg Lys

340 345 350

Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe Asn

355 360 365
 Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser Arg

 370 375 380
 Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp Ile
 385 390 395 400
 Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys Tyr
 405 410 415
 Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly Ile
 420 425 430
 Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met Thr

 435 440 445
 Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala
 450 455 460
 Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln
 465 470 475 480
 Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met
 485 490 495
 Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn

 500 505 510
 Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp
 515 520 525
 Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys Val
 530 535 540
 Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr Ser
 545 550 555 560
 Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val

 565 570 575
 Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys
 580 585 590
 Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro Thr
 595 600 605

Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp Phe
 610 615 620
 Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp Gly

 625 630 635 640
 Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu Asp
 645 650 655
 Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala Leu
 660 665 670
 Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu Gly
 675 680 685
 Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr Ile

 690 695 700
 Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr Ile
 705 710 715 720
 His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Gly
 725 730 735
 Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg Asn
 740 745 750
 Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val Val

 755 760 765
 Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn Asp
 770 775 780
 Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp Asp
 785 790 795 800
 Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr Tyr
 805 810 815
 Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His Thr

 820 825 830
 Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr Ser
 835 840 845
 Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys Pro

850 855 860
Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr Met
865 870 875 880
Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp Gly

885 890 895
Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr Val
900 905 910
Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala Gly
915 920 925
Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser Asn
930 935 940

Lys

945

<210> 3

<211> 962

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a [90-1035 fragment] D131A/S513A mutant w/ leader

<400> 3

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
1 5 10 15
Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
20 25 30
Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
35 40 45
Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn

50 55 60
His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser
65 70 75 80
Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
85 90 95
Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp

100 105 110
 Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile

 115 120 125
 Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu
 130 135 140
 Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val
 145 150 155 160
 Asn Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp
 165 170 175
 Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala

 180 185 190
 Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp
 195 200 205
 Tyr Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp
 210 215 220
 Ser Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp
 225 230 235 240
 Tyr Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val

 245 250 255
 Ala Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys
 260 265 270
 Thr Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg
 275 280 285
 Phe Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met
 290 295 300
 Lys Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu

 305 310 315 320
 Arg Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala
 325 330 335
 Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro
 340 345 350

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
355 360 365
Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
370 375 380
Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
385 390 395 400
Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
405 410 415
Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
420 425 430
Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
435 440 445
Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
450 455 460
Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
465 470 475 480
Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
485 490 495
Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
500 505 510
Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
515 520 525
Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
530 535 540
Asp Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys
545 550 555 560
Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr
565 570 575
Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr
580 585 590
Val Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met

595 600 605
 Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro
 610 615 620
 Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp

 625 630 635 640
 Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp
 645 650 655
 Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu
 660 665 670
 Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
 675 680 685
 Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu

 690 695 700
 Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr
 705 710 715 720
 Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr
 725 730 735
 Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn
 740 745 750
 Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg

 755 760 765
 Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
 770 775 780
 Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
 785 790 795 800
 Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
 805 810 815
 Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr

 820 825 830
 Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
 835 840 845

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
850 855 860

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
865 870 875 880

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr

885 890 895
Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
900 905 910

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
915 920 925

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
930 935 940

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser

945 950 955 960
Asn Lys

<210> 4

<211> 945

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a [90-1035 fragment] D131A/S513A mutant w/o leader

<400> 4

Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp Leu
1 5 10 15

Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys Gly
20 25 30

Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn His

35 40 45
Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser Lys
50 55 60

Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly Glu
65 70 75 80

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

325 330 335
 Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg Lys
 340 345 350
 Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe Asn

355 360 365
 Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser Arg
 370 375 380
 Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp Ile
 385 390 395 400
 Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys Tyr
 405 410 415
 Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly Ile

420 425 430
 Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met Thr
 435 440 445
 Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala
 450 455 460
 Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln
 465 470 475 480
 Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met

485 490 495
 Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn
 500 505 510
 Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp
 515 520 525
 Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys Val
 530 535 540
 Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr Ser

545 550 555 560
 Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val
 565 570 575

Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys
580 585 590

Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro Thr
595 600 605

Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp Phe
610 615 620

Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp Gly
625 630 635 640

Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu Asp
645 650 655

Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala Leu
660 665 670

Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu Gly
675 680 685

Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr Ile
690 695 700

Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr Ile
705 710 715 720

His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Gly
725 730 735

Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg Asn
740 745 750

Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val Val
755 760 765

Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn Asp
770 775 780

Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp Asp
785 790 795 800

Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr Tyr
805 810 815

Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His Thr

820 825 830
 Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr Ser
 835 840 845
 Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys Pro
 850 855 860
 Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr Met

 865 870 875 880
 Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp Gly
 885 890 895
 Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr Val
 900 905 910
 Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala Gly
 915 920 925
 Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser Asn

 930 935 940
 Lys
 945
 <210> 5
 <211> 510
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SLO [79-571] fragment w/ leader
 <400> 5
 Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 20 25 30
 Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

 35 40 45
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 50 55 60
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

65 70 75 80
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 85 90 95
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

 100 105 110
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 115 120 125
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 130 135 140
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 145 150 155 160
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

 165 170 175
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 180 185 190
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 195 200 205
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 210 215 220
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

 225 230 235 240
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 245 250 255
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 260 265 270
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 275 280 285
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

 290 295 300
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 305 310 315 320

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 325 330 335
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 340 345 350
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 355 360 365
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 370 375 380
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 385 390 395 400
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 405 410 415
 Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
 420 425 430
 Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
 435 440 445
 Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
 450 455 460
 Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Trp Glu Trp Trp Arg Lys Val
 465 470 475 480
 Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
 485 490 495
 Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
 500 505 510
 <210> 6
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Streptococcus pyogenes
 <400> 6
 Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys Lys
 1 5 10 15
 Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile Asn

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

Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe Ser
275 280 285

Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser Asp
290 295 300

Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp Ala
305 310 315 320

Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg Asn
325 330 335

Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr Pro
340 345 350

Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly Val
355 360 365

Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr Ser
370 375 380

Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr Glu
385 390 395 400

Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val Ile
405 410 415

Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro Phe
420 425 430

Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile Met
435 440 445

Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Trp Glu Trp Trp Arg Lys Val Ile
450 455 460

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

Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
485 490

<210> 7

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO [79-571 fragment] - W535 mutant w/ leader

<400> 7

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

20 25 30

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

35 40 45

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

50 55 60

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

65 70 75 80

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

85 90 95

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

100 105 110

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

115 120 125

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

130 135 140

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

145 150 155 160

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

165 170 175

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

180 185 190

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

195 200 205

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

210 215 220

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

225 230 235 240

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

245 250 255

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

260 265 270

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

275 280 285

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

290 295 300

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

305 310 315 320

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

325 330 335

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

340 345 350

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

355 360 365

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

370 375 380

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

385 390 395 400

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

405 410 415

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

420 425 430

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

435 440 445

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile

450 455 460

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val

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

485 490 495

Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys

500 505 510

<210> 8

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SL0 [79-571 fragment] - W535 mutant w/o leader

<400> 8

Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys Lys
1 5 10 15
Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile Asn

20					25					30									
Asp	Lys	Ile	Tyr	Ser	Leu	Asn	Tyr	Asn	Glu	Leu	Glu	Val	Leu	Ala	Lys				
35					40					45									
Asn	Gly	Glu	Thr	Ile	Glu	Asn	Phe	Val	Pro	Lys	Glu	Gly	Val	Lys	Lys				
50					55					60									
Ala	Asp	Lys	Phe	Ile	Val	Ile	Glu	Arg	Lys	Lys	Lys	Asn	Ile	Asn	Thr				
65					70					75					80				
Thr	Pro	Val	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Asp	Arg	Thr	Tyr				

				85				90				95			
Pro	Ala	Ala	Leu	Gln	Leu	Ala	Asn	Lys	Gly	Phe	Thr	Glu	Asn	Lys	Pro
				100				105				110			
Asp	Ala	Val	Val	Thr	Lys	Arg	Asn	Pro	Gln	Lys	Ile	His	Ile	Asp	Leu
				115				120				125			
Pro	Gly	Met	Gly	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Glu	Val	Asn	Asp	Pro	Thr	Tyr
				130				135				140			
Ala	Asn	Val	Ser	Thr	Ala	Ile	Asp	Asn	Leu	Val	Asn	Gln	Trp	His	Asp

145 150 155 160

Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr Glu
 165 170 175
 Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val Asn
 180 185 190
 Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile Ser
 195 200 205
 Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe Tyr
 210 215 220
 Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp Lys
 225 230 235 240
 Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu Ala
 245 250 255
 Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe Val
 260 265 270
 Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe Ser
 275 280 285
 Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser Asp
 290 295 300
 Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp Ala
 305 310 315 320
 Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg Asn
 325 330 335
 Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr Pro
 340 345 350
 Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly Val
 355 360 365
 Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr Ser
 370 375 380
 Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr Glu
 385 390 395 400
 Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val Ile

405 410 415
 Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro Phe
 420 425 430
 Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile Met
 435 440 445
 Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val Ile
 450 455 460
 Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile Ser

 465 470 475 480
 Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
 485 490

 <210> 9
 <211> 834
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SpyAD [33-849 fragment] WT w/ leader
 <400> 9
 Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
 20 25 30

 Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
 35 40 45
 Lys Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
 50 55 60
 Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
 65 70 75 80
 Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
 85 90 95

 Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
 100 105 110
 Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr

115	120	125	
Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu			
130	135	140	
Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp			
145	150	155	160
Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn			
165	170	175	
Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala			
180	185	190	
Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala			
195	200	205	
Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu			
210	215	220	
Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser			
225	230	235	240
Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn			
245	250	255	
Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys			
260	265	270	
Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr			
275	280	285	
Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln			
290	295	300	
Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp			
305	310	315	320
Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala			
325	330	335	
Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val			
340	345	350	
Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser			
355	360	365	

Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
 370 375 380
 Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
 385 390 395 400
 Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
 405 410 415

 Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
 420 425 430
 Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
 435 440 445
 His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
 450 455 460
 Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
 465 470 475 480

 Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn
 485 490 495
 Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly
 500 505 510
 Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
 515 520 525
 Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
 530 535 540

 Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
 545 550 555 560
 Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
 565 570 575
 Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
 580 585 590
 Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
 595 600 605

 Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr

610 615 620
 Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
 625 630 635 640
 Lys Lys Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
 645 650 655
 Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
 660 665 670

 Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
 675 680 685
 Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
 690 695 700
 His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
 705 710 715 720
 His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
 725 730 735

 Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
 740 745 750
 Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
 755 760 765
 Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
 770 775 780
 Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
 785 790 795 800

 Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
 805 810 815
 Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
 820 825 830
 Gln Arg

<210> 10
 <211> 817
 <212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 10

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn

1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Lys

20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu

35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn

50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala

65 70 75 80

Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu

85 90 95

Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu

100 105 110

Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser

115 120 125

Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu

130 135 140

Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala

145 150 155 160

Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn

165 170 175

Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp

180 185 190

Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu

195 200 205

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg

210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn

225 230 235 240
 Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Leu
 245 250 255
 Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
 260 265 270
 Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu

 275 280 285
 Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
 290 295 300
 Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
 305 310 315 320
 His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
 325 330 335
 Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr

 340 345 350
 Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
 355 360 365
 Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
 370 375 380
 Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
 385 390 395 400
 Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile

 405 410 415
 Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His
 420 425 430
 Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp
 435 440 445
 Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn
 450 455 460
 Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile

 465 470 475 480

Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser
485 490 495

Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala
500 505 510

Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile
515 520 525

His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu
530 535 540

Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu
545 550 555 560

Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu
565 570 575

Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln
580 585 590

Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr Glu
595 600 605

Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys
610 615 620

Lys Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn Arg
625 630 635 640

Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu Ala
645 650 655

Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala Leu
660 665 670

Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu His
675 680 685

Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His
690 695 700

Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro
705 710 715 720

Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro

725 730 735
 Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala Ser
 740 745 750
 Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu Val
 755 760 765
 Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys Ile
 770 775 780
 Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser Gly

785 790 795 800
 Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr Gln
 805 810 815

Arg

<210> 11

<211> 834

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] nnAA (e.g. pAMF) K64/K287/K386/K657
 mutant w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (49)..(49)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (272)..(272)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (371)..(371)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (642)..(642)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 11

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

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

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa
 260 265 270
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
 275 280 285
 Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
 290 295 300

 Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
 305 310 315 320
 Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
 325 330 335
 Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
 340 345 350
 Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
 355 360 365

 Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
 370 375 380
 Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
 385 390 395 400
 Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
 405 410 415
 Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
 420 425 430

 Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
 435 440 445
 His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
 450 455 460
 Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
 465 470 475 480
 Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn
 485 490 495

 Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly

500 505 510
 Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
 515 520 525
 Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
 530 535 540
 Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
 545 550 555 560

 Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
 565 570 575
 Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
 580 585 590
 Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
 595 600 605
 Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
 610 615 620

 Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
 625 630 635 640
 Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
 645 650 655
 Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
 660 665 670
 Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
 675 680 685

 Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
 690 695 700
 His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
 705 710 715 720
 His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
 725 730 735
 Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
 740 745 750

Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala

755 760 765

Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu

770 775 780

Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys

785 790 795 800

Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser

805 810 815

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr

820 825 830

Gln Arg

<210> 12

<211> 817

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] nnAA (e.g. pAMF) K64/K287/K386/K657
mutant w/o leader

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (255)..(255)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (354)..(354)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (625)..(625)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 12

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn

1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa

20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu

35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn

50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala

65 70 75 80

Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu

85 90 95

Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu

100 105 110

Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser

115 120 125

Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu

130 135 140

Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala

145 150 155 160

Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn

165 170 175

Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp

180 185 190

Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu

195 200 205

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg

210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn

225 230 235 240

Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu
245 250 255

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270

Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu
275 280 285

Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300

Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
305 310 315 320

His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
325 330 335

Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr
340 345 350

Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
355 360 365

Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
385 390 395 400

Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile
405 410 415

Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His
420 425 430

Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp
435 440 445

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

Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile
465 470 475 480

Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser

485 490 495
 Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala
 500 505 510
 Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile
 515 520 525
 His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu
 530 535 540
 Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu

 545 550 555 560
 Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu
 565 570 575
 Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln
 580 585 590
 Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr Glu
 595 600 605
 Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys

 610 615 620
 Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn Arg
 625 630 635 640
 Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu Ala
 645 650 655
 Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala Leu
 660 665 670
 Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu His

 675 680 685
 Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His
 690 695 700
 Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro
 705 710 715 720
 Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro
 725 730 735

Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala Ser

740 745 750

Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu Val

755 760 765

Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys Ile

770 775 780

Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser Gly

785 790 795 800

Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr Gln

805 810 815

Arg

<210> 13

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] WT w/ leader

<400> 13

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu

20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met

35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu

50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu

65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val

85 90 95

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

100	105	110	
Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met			
115	120	125	
Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val			
130	135	140	
Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr			
145	150	155	160
Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn			
	165	170	175
Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser			
180	185	190	
Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly			
195	200	205	
Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro			
210	215	220	
Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu			
225	230	235	240
Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr			
245	250	255	
Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn			
260	265	270	
Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys			
275	280	285	
Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe			
290	295	300	
Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr			
305	310	315	320
Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala			
325	330	335	
Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg			
340	345	350	

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp

355 360 365
Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn

370 375 380
Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu

385 390 395 400
Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg

405 410 415
Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420 425

<210> 14

<211> 410

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 14

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu Lys
1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly

50 55 60
Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr

65 70 75 80

Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala Asn
85 90 95

Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala
100 105 110

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln

115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
 130 135 140
 Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
 145 150 155 160
 Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
 165 170 175
 Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Lys
 180 185 190
 Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
 195 200 205
 Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
 210 215 220
 Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
 245 250 255
 Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
 260 265 270
 Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
 275 280 285
 Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
 290 295 300
 Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala Glu
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
 325 330 335
 Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
 340 345 350
 Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
 355 360 365
 Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile

370 375 380
 Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
 385 390 395 400
 Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
 405 410
 <210> 15
 <211> 427
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ADI [full length] D277A mut w/ leader
 <400> 15
 Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
 1 5 10 15

 Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
 20 25 30
 Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
 35 40 45
 Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
 50 55 60
 Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
 65 70 75 80

 Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
 85 90 95
 Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
 100 105 110
 Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
 115 120 125
 Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
 130 135 140

 Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
 145 150 155 160
 Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn

165	170	175
Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser		
180	185	190
Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly		
195	200	205
Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro		
210	215	220
Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu		
225	230	235
Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr		
245	250	255
Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn		
260	265	270
Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys		
275	280	285
Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe		
290	295	300
Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr		
305	310	315
Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala		
325	330	335
Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg		
340	345	350
Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp		
355	360	365
Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn		
370	375	380
Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu		
385	390	395
Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg		
405	410	415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420

425

<210> 16

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] D277A mut w/o leader

<400> 16

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu Lys

1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro

20

25

30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp

35

40

45

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly

50

55

60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr

65

70

75

80

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

85

90

95

Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala

100

105

110

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln

115

120

125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp

130

135

140

Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu

145

150

155

160

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu

165

170

175

Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Lys

180

185

190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
 195 200 205
 Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
 210 215 220
 Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
 245 250 255
 Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
 260 265 270
 Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
 275 280 285
 Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
 290 295 300
 Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala Glu
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
 325 330 335
 Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
 340 345 350
 Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
 355 360 365
 Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile
 370 375 380
 Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
 385 390 395 400
 Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
 405 410

<210> 17
 <211> 427
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] WT nnAA (e.g. pAMF) K15/K193/K316 w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (209)..(209)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 17

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu

20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met

35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu

50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu

65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val

85 90 95

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

100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met

115 120 125

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val

130 135 140

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr

145 150 155 160

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
 165 170 175
 Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
 180 185 190
 Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
 195 200 205
 Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
 210 215 220
 Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
 245 250 255
 Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
 260 265 270
 Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
 275 280 285
 Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
 290 295 300
 Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
 305 310 315 320
 Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
 325 330 335
 Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
 340 345 350
 Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
 355 360 365
 Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
 370 375 380
 Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
 385 390 395 400
 Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg

405 410 415
Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425
<210> 18
<211> 410
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ADI [full length] WT nnAA (e.g. pAMF) K15/K193/K316 w/o leader
<220><221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (192)..(192)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (315)..(315)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 18
Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu Lys
1 5 10 15
Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro
20 25 30
Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp
35 40 45
Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80
Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala Asn
85 90 95
Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met Ala
100 105 110
Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln

115 120 125
 Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
 130 135 140
 Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
 145 150 155 160
 Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
 165 170 175
 Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Xaa
 180 185 190

 Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
 195 200 205
 Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
 210 215 220
 Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
 245 250 255

 Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
 260 265 270
 Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
 275 280 285
 Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
 290 295 300
 Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala Glu
 305 310 315 320

 Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
 325 330 335
 Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
 340 345 350
 Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg
 355 360 365

Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile
370 375 380

Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
385 390 395 400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 19

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) K15/K193/K316 w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (209)..(209)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220>

><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 19

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
1 5 10 15

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
65 70 75 80

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val

85 90 95
 Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
 100 105 110
 Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
 115 120 125
 Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
 130 135 140
 Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
 145 150 155 160
 Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
 165 170 175
 Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
 180 185 190
 Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
 195 200 205
 Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
 210 215 220
 Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
 245 250 255
 Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
 260 265 270
 Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
 275 280 285
 Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
 290 295 300
 Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
 305 310 315 320
 Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala
 325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg

340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp

355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn

370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu

385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg

405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420 425

<210> 20

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) K15/K193/K316 w/o leader

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (192)..(192)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (315)..(315)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 20

Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu Lys

1 5 10 15

Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met Pro

20 25 30

Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu Asp

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

 100 105 110
 Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln
 115 120 125
 Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
 130 135 140
 Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn Leu
 145 150 155 160
 Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu

 165 170 175
 Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Xaa
 180 185 190
 Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
 195 200 205
 Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
 210 215 220
 Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp

 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
 245 250 255
 Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
 260 265 270
 Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
 275 280 285

Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr

290

295

300

Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala Glu

305

310

315

320

Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys

325

330

335

Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly

340

345

350

Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn Arg

355

360

365

Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu Ile

370

375

380

Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys

385

390

395

400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

405

410

<210> 21

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFerritin [full length] WT w/ leader

<400> 21

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Ile Arg Gln

1

5

10

15

Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu

20

25

30

Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp

35

40

45

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu

50

55

60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn

65	70					75					80				
Gln	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Leu	Phe	Gln	Asp	Ile	Lys	Lys	Pro	Ala	Glu
85					90					95					
Asp	Glu	Trp	Gly	Lys	Thr	Pro	Asp	Ala	Met	Lys	Ala	Ala	Met	Ala	Leu
100					105					110					
Glu	Lys	Lys	Leu	Asn	Gln	Ala	Leu	Leu	Asp	Leu	His	Ala	Leu	Gly	Ser
115					120					125					

Ala	Arg	Thr	Asp	Pro	His	Leu	Cys	Asp	Phe	Leu	Glu	Thr	His	Phe	Leu
130				135				140							
Asp	Glu	Glu	Val	Lys	Leu	Ile	Lys	Lys	Met	Gly	Asp	His	Leu	Thr	Asn
145				150				155						160	
Leu	His	Arg	Leu	Gly	Gly	Pro	Glu	Ala	Gly	Leu	Gly	Glu	Tyr	Leu	Phe
165							170					175			
Glu	Arg	Leu	Thr	Leu	Lys	His	Asp								
180															

<210> 22

<211> 174

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Ser	Ser	Gln	Ile	Arg	Gln	Asn	Tyr	Ser	Thr	Asp	Val	Glu	Ala	Ala	Val
1				5					10					15	
Asn	Ser	Leu	Val	Asn	Leu	Tyr	Leu	Gln	Ala	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Ser
			20					25					30		
Leu	Gly	Phe	Tyr	Phe	Asp	Arg	Asp	Asp	Val	Ala	Leu	Glu	Gly	Val	Ser
		35					40					45			
His	Phe	Phe	Arg	Glu	Leu	Ala	Glu	Glu	Lys	Arg	Glu	Gly	Tyr	Glu	Arg
	50					55					60				

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80
Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp
100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160

Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
165 170

<210> 23

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFerritin [full length] nnAA (e.g. pAMF) mutant I5 w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 23

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Xaa Arg Gln
1 5 10 15

Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu
20 25 30

Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp
35 40 45

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu

50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn
65 70 75 80

Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Ile Lys Lys Pro Ala Glu
85 90 95

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu

100 105 110
Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser

115 120 125
Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu

130 135 140
Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn

145 150 155 160
Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe

165 170 175
Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

180

<210> 24

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFerritin [full length] nnAA (e.g. pAMF) mutant I5 w/o leader

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 24

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val

1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser

20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser

35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg

50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp

65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met

85 90 95

Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp

100 105 110
 Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
 115 120 125
 Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
 130 135 140
 Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
 145 150 155 160
 Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

165 170
 <210> 25
 <211> 536
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> eCRM - nnAA (e.g. pAMF) mutant
 <220><221> MOD_RES
 <222> (34)..(34)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (213)..(213)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (245)..(245)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (265)..(265)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (386)..(386)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (527)..(527)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 25

Met Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu

1 5 10 15

Asn Phe Ser Ser Tyr His Gly Thr Lys Pro Gly Tyr Val Asp Ser Ile

20 25 30

Gln Xaa Gly Ile Gln Lys Pro Lys Ser Gly Thr Gln Gly Asn Tyr Asp

35 40 45

Asp Asp Trp Lys Glu Phe Tyr Ser Thr Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Ala

50 55 60

Gly Tyr Ser Val Asp Asn Glu Asn Pro Leu Ser Gly Lys Ala Gly Gly

65 70 75 80

Val Val Lys Val Thr Tyr Pro Gly Leu Thr Lys Val Leu Ala Leu Lys

85 90 95

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

100 105 110

Glu Pro Leu Met Glu Gln Val Gly Thr Glu Glu Phe Ile Lys Arg Phe

115 120 125

Gly Asp Gly Ala Ser Arg Val Val Leu Ser Leu Pro Phe Ala Glu Gly

130 135 140

Ser Ser Ser Val Glu Tyr Ile Asn Asn Trp Glu Gln Ala Lys Ala Leu

145 150 155 160

Ser Val Glu Leu Glu Ile Asn Phe Glu Thr Arg Gly Lys Arg Gly Gln

165 170 175

Asp Ala Met Tyr Glu Tyr Met Ala Gln Ala Cys Ala Gly Asn Arg Val

180 185 190

Arg Asn Ser Val Gly Ser Ser Leu Ser Cys Ile Asn Leu Asp Trp Asp

195 200 205

Val Ile Arg Asp Xaa Thr Lys Thr Lys Ile Glu Ser Leu Lys Glu His

210 215 220

Gly Pro Ile Lys Asn Lys Met Ser Glu Ser Pro Asn Lys Thr Val Ser

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

Gly Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser
485 490 495

Ser Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val
500 505 510

Leu Gly Tyr Gln Lys Thr Val Asp His Thr Lys Val Asn Ser Xaa Leu
515 520 525

Ser Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser
530 535

<210> 26

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI (mut2) [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) mutant w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (139)..(139)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (263)..(263)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 26

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
1 5 10 15

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
20 25 30

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
35 40 45

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
50 55 60

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu

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

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala

325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg

340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp

355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Tyr Asn

370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu

385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg

405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420 425

<210> 27

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI (mut2) [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (123)..(123)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (247)..(247)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 27

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu

1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
 20 25 30
 Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
 35 40 45
 Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
 50 55 60
 Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
 65 70 75 80

 Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
 85 90 95
 Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
 100 105 110
 Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Xaa Thr Met Ala Gly Val
 115 120 125
 Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
 130 135 140

 Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
 145 150 155 160
 Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
 165 170 175
 Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
 180 185 190
 Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
 195 200 205

 Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
 210 215 220
 Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
 225 230 235 240
 Asp Ala Ala Ser Ile Glu Xaa Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
 245 250 255
 Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

[illegible]

Glu Thr Glu Asp Thr Lys Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser
 50 55 60
 Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Gln
 65 70 75 80
 Thr Ala Ser Gln Val Glu Thr Glu Asp Thr Lys Glu Pro Gly Val Leu
 85 90 95
 Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr

100 105 110
 Gly Met Ser Gly Gln Thr Thr Pro Gln Val Glu Thr Glu Asp Thr Lys
 115 120 125
 Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr
 130 135 140
 Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Phe Ser Glu Thr
 145 150 155

<210> 29

<211> 946

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> C5a [90-1035 fragment] WT w/o leader, with G overhang from
 cleavage

<400> 29

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
 1 5 10 15
 Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
 20 25 30
 Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn
 35 40 45
 His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser

50 55 60
 Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
 65 70 75 80
 Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp

85 90 95
 Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile
 100 105 110
 Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu
 115 120 125
 Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val
 130 135 140
 Asn Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp
 145 150 155 160
 Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala
 165 170 175
 Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp
 180 185 190
 Tyr Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp
 195 200 205
 Ser Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp
 210 215 220
 Tyr Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val
 225 230 235 240
 Ala Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys
 245 250 255
 Thr Ala Asp Lys Gln Asp Lys Glu Met Pro Val Leu Ser Thr Asn Arg
 260 265 270
 Phe Glu Pro Asn Lys Ala Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ala Asn Arg Gly Met
 275 280 285
 Lys Glu Asp Asp Phe Lys Asp Val Lys Gly Lys Ile Ala Leu Ile Glu
 290 295 300
 Arg Gly Asp Ile Asp Phe Lys Asp Lys Ile Ala Asn Ala Lys Lys Ala
 305 310 315 320
 Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro
 325 330 335

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
340 345 350
Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
355 360 365
Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
370 375 380
Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
385 390 395 400
Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
405 410 415
Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
420 425 430
Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
435 440 445
Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
450 455 460
Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
465 470 475 480
Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
485 490 495
Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
500 505 510
Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
515 520 525
Asp Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys
530 535 540
Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr
545 550 555 560
Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr
565 570 575
Val Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met

580 585 590
 Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro
 595 600 605
 Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp
 610 615 620
 Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp

 625 630 635 640
 Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu
 645 650 655
 Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
 660 665 670
 Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu
 675 680 685
 Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr

 690 695 700
 Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr
 705 710 715 720
 Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn
 725 730 735
 Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
 740 745 750
 Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val

 755 760 765
 Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
 770 775 780
 Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
 785 790 795 800
 Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
 805 810 815
 Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His

 820 825 830

Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr

835 840 845

Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys

850 855 860

Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr

865 870 875 880

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp

885 890 895

Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr

900 905 910

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala

915 920 925

Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser

930 935 940

Asn Lys

945

<210> 30

<211> 946

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a [90-1035 fragment] D131A/S513A w/o leader, with G overhang
from cleavage

<400> 30

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp

1 5 10 15

Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys

20 25 30

Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn

35 40 45

His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser

50 55 60

Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly

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

Gly Ala Val Gly Val Leu Ile Tyr Asp Asn Gln Asp Lys Gly Phe Pro
325 330 335

Ile Glu Leu Pro Asn Val Asp Gln Met Pro Ala Ala Phe Ile Ser Arg
340 345 350

Lys Asp Gly Leu Leu Leu Lys Asp Asn Pro Lys Lys Thr Ile Thr Phe
355 360 365

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
370 375 380

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
385 390 395 400

Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys
405 410 415

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
420 425 430

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met
435 440 445

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser
450 455 460

Ala Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg
465 470 475 480

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr
485 490 495

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn
500 505 510

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser
515 520 525

Asp Lys Pro Gln Glu Leu Tyr Tyr Gln Ala Thr Val Gln Thr Asp Lys
530 535 540

Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr
545 550 555 560

Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr

565	570	575
Val Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met		
580	585	590
Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro		
595	600	605
Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp		
610	615	620
Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp		
625	630	635
Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu		
645	650	655
Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala		
660	665	670
Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu		
675	680	685
Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr		
690	695	700
Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr		
705	710	715
Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn		
725	730	735
Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg		
740	745	750
Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val		
755	760	765
Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn		
770	775	780
Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp		
785	790	795
Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr		
805	810	815

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
820 825 830
Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
835 840 845
Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
850 855 860
Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
865 870 875 880

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
885 890 895
Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
900 905 910
Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
915 920 925
Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser
930 935 940

Asn Lys

945

<210> 31

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO [79-571 fragment] WT w/o leader, with G overhang from
cleavage

<400> 31

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

 290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 385 390 395 400
 Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
 405 410 415
 Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

420 425 430
 Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
 435 440 445
 Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Trp Glu Trp Trp Arg Lys Val
 450 455 460
 Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
 465 470 475 480
 Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys

485 490
 <210> 32
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SLO [79-571 fragment] W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage
 <400> 32
 Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

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

 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400
Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415
Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430
Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445
Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val
450 455 460
Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480
Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
485 490

<210> 33

<211> 818

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] WT w/o leader, with G overhang from
cleavage

<400> 33

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser

1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala

20 25 30

Lys Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala

35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile

50 55 60

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser

65 70 75 80

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu

85 90 95

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr

100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu

115 120 125

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp

130 135 140

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn

145 150 155 160

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala

165 170 175

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala

180 185 190

Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu

195 200 205

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
 210 215 220
 Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn

 225 230 235 240
 Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys
 245 250 255
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
 260 265 270
 Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
 275 280 285
 Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

 290 295 300
 Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
 305 310 315 320
 Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
 325 330 335
 Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
 340 345 350
 Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln

 355 360 365
 Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
 370 375 380
 Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
 385 390 395 400
 Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
 405 410 415
 Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

 420 425 430
 His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
 435 440 445
 Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser

450 455 460
 Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn
 465 470 475 480
 Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly

 485 490 495
 Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
 500 505 510
 Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
 515 520 525
 Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
 530 535 540
 Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn

 545 550 555 560
 Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
 565 570 575
 Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
 580 585 590
 Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
 595 600 605
 Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala

 610 615 620
 Lys Lys Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
 625 630 635 640
 Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
 645 650 655
 Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
 660 665 670
 Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu

 675 680 685
 His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
 690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
705 710 715 720
Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr
725 730 735
Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala
740 745 750
Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu
755 760 765
Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys
770 775 780
Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser
785 790 795 800
Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr

805 810 815
Gln Arg

<210> 34

<211> 818

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o leader, with
G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (256)..(256)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (355)..(355)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (626)..(626)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 34

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser

1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala

20 25 30

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala

35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile

50 55 60

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser

65 70 75 80

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu

85 90 95

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr

100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu

115 120 125

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp

130 135 140

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn

145 150 155 160

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala

165 170 175

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala

180 185 190

Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu

195 200 205

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser

210 215 220

Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn

225 230 235 240
 Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa

 245 250 255
 Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
 260 265 270
 Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
 275 280 285
 Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
 290 295 300
 Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

 305 310 315 320
 Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
 325 330 335
 Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
 340 345 350
 Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
 355 360 365
 Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile

 370 375 380
 Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
 385 390 395 400
 Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
 405 410 415
 Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
 420 425 430
 His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val

 435 440 445
 Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
 450 455 460
 Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn
 465 470 475 480

Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly
485 490 495

Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
500 505 510

Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
515 520 525

Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
545 550 555 560

Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
565 570 575

Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
580 585 590

Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
610 615 620

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
625 630 635 640

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
645 650 655

Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
660 665 670

Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu
675 680 685

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg
690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro
705 710 715 720

Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr

725 730 735
Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr Lys Gln Leu Leu Glu Ala

740 745 750
Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser Leu Val Ala Glu Ala Leu

755 760 765
Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser Asn Ala Ile Val Ser Lys

770 775 780
Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser Lys Thr Ser Tyr Gly Ser

785 790 795 800
Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr

805 810 815
Gln Arg

<210> 35

<211> 411

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] WT w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 35

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu

1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met

20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu

35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu

50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met

100 105 110
 Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
 115 120 125
 Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
 130 135 140
 Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
 145 150 155 160
 Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
 165 170 175

 Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
 180 185 190
 Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
 195 200 205
 Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
 210 215 220
 Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
 225 230 235 240

 Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
 245 250 255
 Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
 260 265 270
 Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
 275 280 285
 Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
 290 295 300

 Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
 305 310 315 320
 Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
 325 330 335
 Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
 340 345 350

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 36

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> DI [full length] D277A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 36

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
100 105 110

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr

130 135 140
 Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
 145 150 155 160
 Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
 165 170 175
 Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
 180 185 190

 Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
 195 200 205
 Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
 210 215 220
 Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
 225 230 235 240
 Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
 245 250 255

 Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
 260 265 270
 Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
 275 280 285
 Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
 290 295 300
 Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
 305 310 315 320

 Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
 325 330 335
 Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
 340 345 350
 Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
 355 360 365
 Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
 370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 37

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI [full length] nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o leader, with G
overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (193)..(193)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 37

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
85 90 95

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met

100	105	110	
Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val			
115	120	125	
Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr			
130	135	140	
Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn			
145	150	155	160
Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser			
165	170	175	
Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly			
180	185	190	
Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro			
195	200	205	
Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu			
210	215	220	
Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr			
225	230	235	240
Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn			
245	250	255	
Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys			
260	265	270	
Phe Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe			
275	280	285	
Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr			
290	295	300	
Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala			
305	310	315	320
Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg			
325	330	335	
Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp			
340	345	350	

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
355 360 365

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
370 375 380

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 38

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI (mut5) [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (193)..(193)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 38

Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu
1 5 10 15

Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30

Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu

35 40 45

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

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

305 310 315 320
 Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
 325 330 335
 Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
 340 345 350
 Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn

 355 360 365
 Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
 370 375 380
 Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
 385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
 405 410

<210> 39

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFL [full length] WT w/ leader

<400> 39

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Ile Arg Gln
 1 5 10 15
 Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu
 20 25 30
 Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp
 35 40 45
 Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
 50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn
 65 70 75 80
 Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Ile Lys Lys Pro Ala Glu
 85 90 95
 Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu

100 105 110
 Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
 115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
 130 135 140
 Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
 145 150 155 160
 Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
 165 170 175
 Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
 180

<210> 40
 <211> 174
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 40
 Ser Ser Gln Ile Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
 1 5 10 15
 Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
 20 25 30
 Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
 35 40 45
 His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
 50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
 65 70 75 80
 Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
 85 90 95
 Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp
 100 105 110
 Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe

115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met

130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly

145 150 155 160

Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

165 170

<210> 41

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFL [full length] nnAA (e.g. pAMF) mutant w/ leader

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 41

Met His His His His His His Gly Ser Gly Ser Ser Gln Xaa Arg Gln

1 5 10 15

Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val Asn Ser Leu Val Asn Leu

20 25 30

Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser Leu Gly Phe Tyr Phe Asp

35 40 45

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu

50 55 60

Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg Leu Leu Lys Met Gln Asn

65 70 75 80

Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Ile Lys Lys Pro Ala Glu

85 90 95

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu

100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser

115 120 125
Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140
Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160
Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175
Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 42

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hFL [full length] nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o leader

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 42

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15
Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30
Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser

35 40 45
His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60
Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80
Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95
Lys Ala Ala Met Ala Leu Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp

100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe
115 120 125
Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140
Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160
Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

165 170

<210> 43

<211> 535

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> eCRM-nnAA (e.g. pAMF) mutant

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (212)..(212)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (244)..(244)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (264)..(264)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (385)..(385)

<223>

> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (526)..(526)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 43

Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu Asn

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

His Pro Glu Leu Ser Glu Leu Xaa Thr Val Thr Gly Thr Asn Pro Val
260 265 270

Phe Ala Gly Ala Asn Tyr Ala Ala Trp Ala Val Asn Val Ala Gln Val
275 280 285

Ile Asp Ser Glu Thr Ala Asp Asn Leu Glu Lys Thr Thr Ala Ala Leu
290 295 300

Ser Ile Leu Pro Gly Ile Gly Ser Val Met Gly Ile Ala Asp Gly Ala
305 310 315 320

Val His His Asn Thr Glu Glu Ile Val Ala Gln Ser Ile Ala Leu Ser
325 330 335

Ser Leu Met Val Ala Gln Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu Leu Val Asp
340 345 350

Ile Gly Phe Ala Ala Tyr Asn Phe Val Glu Ser Ile Ile Asn Leu Phe
355 360 365

Gln Val Val His Asn Ser Tyr Asn Arg Pro Ala Tyr Ser Pro Gly His
370 375 380

Xaa Thr Gln Pro Phe Leu His Asp Gly Tyr Ala Val Ser Trp Asn Thr
385 390 395 400

Val Glu Asp Ser Ile Ile Arg Thr Gly Phe Gln Gly Glu Ser Gly His
405 410 415

Asp Ile Lys Ile Thr Ala Glu Asn Thr Pro Leu Pro Ile Ala Gly Val
420 425 430

Leu Leu Pro Thr Ile Pro Gly Lys Leu Asp Val Asn Lys Ser Lys Thr
435 440 445

His Ile Ser Val Asn Gly Arg Lys Ile Arg Met Arg Cys Arg Ala Ile
450 455 460

Asp Gly Asp Val Thr Phe Cys Arg Pro Lys Ser Pro Val Tyr Val Gly
465 470 475 480

Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser Ser
485 490 495

Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val Leu

500 505 510
Gly Tyr Gln Lys Thr Val Asp His Thr Lys Val Asn Ser Xaa Leu Ser

515 520 525

Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser

530 535

<210> 44

<211> 483

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC11) W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 44

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

 385 390 395 400
 Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
 405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430
Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445
Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val

450 455 460
Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480
Ser Gly Ser

<210> 45

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC21) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
cleavage

<400> 45

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140

 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205

 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270

 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335

 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
 405 410 415
 Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
 420 425 430
 Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
 435 440 445
 Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys Val
 450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser
 465 470

<210> 46

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC31) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage

<400> 46

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85

90

95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100

105

110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115

120

125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130

135

140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145

150

155

160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165

170

175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180

185

190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195

200

205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210

215

220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225

230

235

240

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

245

250

255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260

265

270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275

280

285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290

295

300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305

310

315

320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325

330

335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile
435 440 445

Met Ala Arg Glu Cys Thr Gly Leu Ala Ala Glu Trp Trp Arg Lys
450 455 460

<210> 47

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC41) fragment W535A w/o leader, with G overhang from

cleavage

<400> 47

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

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

[illegible]

35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290

295

300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305

310

315

320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325

330

335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340

345

350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355

360

365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370

375

380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385

390

395

400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405

410

415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

420

425

430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser

435

440

<210> 49

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC61) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
cleavage

<400> 49

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1

5

10

15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20

25

30

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

275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 385 390 395 400
 Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405 410 415
 Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
 420 425 430
 Phe

<210> 50

<211> 423

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC71) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage

<400> 50

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80

 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140

 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205

 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270

 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335

 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
 405 410 415
 Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp
 420

<210> 51

<211> 413

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC81) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage

<400> 51

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
 385 390 395 400
 Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly

405 410
 <210> 52
 <211> 403
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SLO(deltaC91) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage

<400> 52
 Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
385 390 395 400
Glu Ile Leu

<210> 53

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
cleavage

<400> 53

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

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

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380

 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
 385 390
 <210> 54
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A w/o leader, with G overhang from
 cleavage
 <220><221> MOD_RES
 <222> (21)..(21)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (35)..(35)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (112)..(112)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

 <220><221> MOD_RES
 <222> (195)..(195)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (246)..(246)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (280)..(280)
 <223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
 <220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 54

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 55

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 1 - w/o
 leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 55

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385

390

<210> 56

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 2 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 56

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1	5	10	15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile			
20	25	30	
Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala			
35	40	45	
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys			
50	55	60	
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn			

65	70	75	80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr			
85	90	95	

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 57

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 3 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 57

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
 385 390

<210> 58

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 4 - w/o
 leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 58

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 59

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 5 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 59

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30
Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 60

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 6 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 60

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 61

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 7 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 61

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385

390

<210> 62

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 8 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 62

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140

 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205

 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270

 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335

 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 63

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 9 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 63

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140

 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205

 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270

 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335

 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 64

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 64

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

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

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 65

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 65

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60

 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125

 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190

 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 66

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 66

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240

 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300

 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365

 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
 385 390
 <210> 67
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 67

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

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

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 68

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 68

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

 260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 69

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<

222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 69

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380
 Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
 385 390

<210> 70

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 70

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 71

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o

leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 71

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

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

245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 72

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 72

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370	375	380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln		
385	390	
<210>	73	
<211>	393	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o	

```

leader, with G overhang from cleavage
<220><221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> misc_feature
<222> (298)..(298)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
<220><221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<400> 73

```

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

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

260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 74

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 74

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205

 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255
 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270

 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335

 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365
 Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 75

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 75

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
 1 5 10 15
 Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
 20 25 30
 Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

 35 40 45
 Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
 50 55 60
 Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
 65 70 75 80
 Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
 85 90 95
 Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

 100 105 110
 Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
 115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190
 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 76

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment W535A - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o
leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 76

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125
 Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
 130 135 140
 Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
 145 150 155 160
 Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
 165 170 175
 Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
 180 185 190

 Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
 195 200 205
 Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
 210 215 220
 Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
 225 230 235 240
 Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
 245 250 255

 Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
 260 265 270
 Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
 275 280 285
 Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
 290 295 300
 Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
 305 310 315 320

 Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
 325 330 335
 Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
 340 345 350
 Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
 355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
 370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
 385 390