



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년06월28일
(11) 등록번호 10-1993714
(24) 등록일자 2019년06월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/495 (2006.01) A61K 38/18 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/495 (2013.01)
A61K 38/18 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7023041
(22) 출원일자(국제) 2014년01월27일
심사청구일자 2019년01월22일
(85) 번역문제출일자 2015년08월25일
(65) 공개번호 10-2015-0114512
(43) 공개일자 2015년10월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/013232
(87) 국제공개번호 WO 2014/120619
국제공개일자 2014년08월07일
(30) 우선권주장
61/758,456 2013년01월30일 미국(US)
61/882,542 2013년09월25일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US06521227 B1
US20020048784 A1

(73) 특허권자
엔지엠 바이오파마슈티컬스, 아이엔씨.
미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코, 오이
스터 포인트 블러바드 333
(72) 발명자
매턴 휴고
미국 캘리포니아 94403 샌 마테오 조지 애비뉴
4165 #4
린드훅 다린 앤서니
미국 캘리포니아 94040 마운틴 뷰 미라몬테 애비
뉴 1533
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 김정아

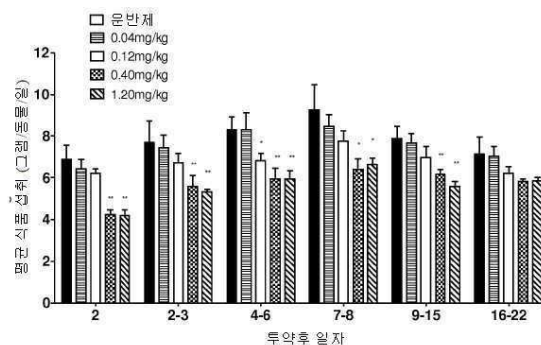
(54) 발명의 명칭 대사 장애를 치료하는데 이용하기 위한 조성물과 방법

(57) 요약

글루코오스 대사 장애 및/또는 체중 장애를 앓는 개체를 치료하는 방법, 그리고 이들과 연관된 조성물이 제공된다.

대표도

식품 섭취에 대한 성숙 인간 GDF15에 융합된 성숙 HSA를 포함하는 융합 분자의 단일 급성 분량의 효과



(52) CPC특허분류

C07K 2319/30 (2013.01)

C07K 2319/91 (2013.01)

(72) 발명자

할당카르 라즈

미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 뉴포트 서클
826

호너 제프리

미국 캘리포니아 94110 샌프란시스코 19 스트리트
3620 아파트먼트 30

명세서

청구범위

청구항 1

서열 번호:3의 아미노산을 포함하고, 다음 치환 중 하나 이상을 가지는 폴리펩티드:

G95N, P70N, R21N, 및 Q40N.

청구항 2

제1 항에 있어서, 폴리펩티드는 당화되는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 3

제1 항에 있어서, 폴리펩티드는 Fc 융합체 또는 알부민 융합체를 포함하며 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 폴리펩티드에 접합되는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 4

제3 항에 있어서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 인간 혈청 알부민, 인간 혈청 알부민 변이체, 인간 혈청 알부민 단편, 소 혈청 알부민, 소 혈청 알부민 변이체, 소 혈청 알부민 단편, 시노몰구스(cynomolgus) 혈청 알부민, 시노몰구스 혈청 알부민 변이체, 및 시노몰구스 혈청 알부민 단편으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 5

제3 항에 있어서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 카르복실 말단 또는 아미노 말단에서 폴리펩티드에 접합되는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 6

제3 항에 있어서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 링커를 통해 폴리펩티드에 접합되며, 링커는 개열가능한 링커 또는 비-개열가능한 링커인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 7

제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 GDF15 돌연변이단백질 동종 이합체.

청구항 8

제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 또는 제1 항 내지 제6 항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 GDF15 돌연변이단백질 동종 이합체, 및 제약학적으로 허용 가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하고, 임의선택적으로 최소한 하나의 추가 예방적 또는 치료적 작용제를 포함하는, 개체에서 글루코오스 대사 장애 또는 제중 장애를 치료하거나 또는 예방하기 위한 제약학적 조성물.

청구항 9

제8 항의 제약학적 조성물을 포함하는 무균 용기.

청구항 10

제8 항에 있어서, 글루코오스 대사 장애는 진성 당뇨병인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 11

제8 항에 있어서, 개체는 비만인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 12

제11 항에 있어서, 개체는 인간이고, 상기 조성물은 비경구 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 13

제12 항에 있어서, 상기 조성물은 피하 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련된 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2013년 1월 30일자 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 61/758,456, 그리고 2013년 9월 25일자 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 61/882,542에 우선권을 주장하고, 이들 출원은 각각, 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 비만, 당뇨병 및 다른 물질대사-관련된 장애를 치료하는데 유용한, 그 중에서도 특히, 성장 분화 인자 돌연변이단백질 및 이들의 변형에 관계한다.

배경 기술

[0005] 배경

[0006] 비만은 가장 흔히, 제한된 에너지 소비 및/또는 신체 운동의 결여와 연계된 과도한 식품 섭취에 의해 유발된다. 비만은 다양한 질환, 예를 들면, 진성 당뇨병, 고혈압, 죽상경화증, 관상 동맥 질환, 수면 무호흡, 통풍, 류마티즘과 관절염의 발생의 가능성을 증가시킨다. 게다가, 사망률 위험은 비만과 직접적으로 상관하고, 따라서 예로서, 40을 초과하는 체질량 지수는 평균적으로 10 년 이상의 감소된 기대 수명을 유발한다.

[0007] 현재 약리학적 치료 양상은 수용체 부류 (가령, CB1, 5-HT_{2C}, 그리고 NPY)를 표적으로 하는 식욕 억제인자; 시상하부에서 식욕 회로 및 그렐린의 분자 작용의 조절인자; 그리고 지질분해효소를 표적으로 하는 영양소-흡수 저해제를 포함한다. 유감스럽게도, 현재 양상 중에서 어느 것도 유해 효과를 유발하지 않으면서 비만을 효과적으로 치료하지 못하는 것으로 나타났고, 이들 중에서 일부는 매우 심각할 수 있다.

- [0008] 높은 혈당 수준은 췌장 베타-세포에 의한 인슐린의 분비를 자극한다. 인슐린은 차례로, 글루코오스의 근육과 지방 세포 내로의 진입을 자극하고, 글리코겐과 트리글리세리드의 보관 및 단백질의 합성을 야기한다. 다양한 세포 유형에서 인슐린 수용체의 활성화는 글루코오스 흡수와 활용을 증가시킴으로써, 그리고 간 글루코오스 출력을 감소시킴으로써, 순환하는 글루코오스 수준을 축소한다. 이러한 조절 네트워크 내에 교란은 인간 개체군의 크고 증가하는 백분율에 영향을 주는 당뇨병 및 연관된 병리학적 증후군을 유발할 수 있다.
- [0009] 글루코오스 대사 장애를 앓는 환자는 과혈당증, 고인슐린혈증, 및/또는 글루코오스 불내성을 겪을 수 있다. 이상 수준의 글루코오스 및/또는 인슐린과 종종 연관되는 장애의 실례는 인슐린 저항성인데, 여기서 간, 지방, 그리고 근육 세포는 정상적인 혈액 인슐린 수준에 반응하는 그들의 능력을 상실한다.
- [0010] 비만, 당뇨병 및 연관된 물질대사, 그리고 비-대사 장애의 우세와 심각도에 비추어, 현재 치료 옵션의 단점과 함께, 예로서 식욕, 글루코오스 및/또는 인슐린 수준을 조정하고 환자에서 변동하는 글루코오스 수준에 대한 생물학적 반응을 증강하는 대안적 치료 양상이 여전히 관심된다.
- [0011] 이에 더하여, 약학 과학에서, 관심되는 치료 양상 (가령, 단백질, 펩티드, 또는 소수성 분자)의 하나 또는 그 이상의 물리적 성질 및/또는 이것이 투여되는 방식을 향상시키는 것이 빈번하게 유익하고, 그리고 때때로 긴급하다. 물리적 성질의 향상은 예로서, 물 용해도, 생체이용률, 혈청 반감기, 및/또는 치료적 반감기를 증가시키고; 면역원성 및/또는 생물학적 활성을 조정하고; 및/또는 순환 시간을 연장하는 방법을 포함한다. 이런 향상은 치료 양상의 생물활성에 부정적인 충격을 주지 않으면서 부여되어야 한다. 따라서, 비만, 당뇨병 및 연관된 물질대사와 비-대사 장애에 대한 현재 치료 옵션에 대안은 하나 또는 그 이상의 향상된 물리적 성질을 소유하는 것이 유리할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 요약
- [0013] 본 발명은 다양한 질환, 장애와 상태, 및/또는 이들의 증상을 치료하고 및/또는 예방하기 위한, 본원에서 설명된 작용제, 그리고 이들의 조성물의 용도를 예기한다. 일부 구체예에서, 이들 질환, 장애와 상태, 및/또는 이들의 증상은 글루코오스 대사 장애 및 다른 물질대사-관련된 장애에 관계하고, 반면 다른 구체예에서 이들은 체중 장애에 관계한다. 실례로서, 하지만 제한 없이, 이들 작용제, 그리고 이들의 조성물은 진성 당뇨병 (가령, 유형 2 당뇨병), 인슐린 저항성과 질환, 인슐린 저항성에 의해 특징화되는 장애와 상태, 감소된 인슐린 생산, 과혈당증, 저인슐린혈증, 그리고 대사 증후군의 치료 및/또는 예방에 이용될 수 있다. 이들 작용제, 그리고 이들의 조성물은 또한, 예로서 식욕 억제를 실행함으로써 비만 및 다른 체중 장애의 치료 및/또는 예방에 이용될 수 있다.
- [0014] 일정한 구체예에서, 이들 작용제는 인간 성장 분화 인자 15 (GDF15) - 관련된 폴리펩티드, 그리고 이들의 동족체, 변이체 (가령, 돌연변이단백질), 단편 및 다른 변형된 형태이다. 특정 구체예에서, 본 발명에 의해 예기된 작용제는 변형된 인간 GDF15 분자이고, 반면 다른 구체예에서 이들 작용제는 변형된 GDF15 돌연변이단백질이다. 본 발명은 또한, 이들을 인코딩하는 핵산 분자를 예기한다. 편의를 위해서, 차후 설명된 변형된 인간 GDF15 분자와 변형된 GDF15 변이체 (가령, 돌연변이단백질)는 차후에, "폴리펩티드(들)"로서 총칭된다. 본 발명의 폴리펩티드와 핵산 분자와 관련하여 "인간"에 대한 임의의 언급은 폴리펩티드 또는 핵산이 획득되는 방식 또는 공급원에 대하여 제한하는 것으로 의미되지 않고, 오히려 단지 서열에 관하는 것으로 유의되어야 하는데, 그 이유는 이것이 자연적으로 발생하는 인간 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 서열에 상응할 수 있기 때문이다. 인간 폴리펩티드 및 이들을 인코딩하는 핵산 분자에 더하여, 본 발명은 다른 종으로부터 GDF15 - 관련된 폴리펩티드 및 상응하는 핵산 분자를 예기한다.
- [0015] 본 발명은 또한, 이들 폴리펩티드의 생물학적 반응에 필적하는 (또는 이보다 큰) 생물학적 반응을 이끌어낼 수 있는 다른 GDF15 - 관련된 작용제, 및/또는 이들 폴리펩티드의 활성을 증강할 수 있는 작용제를 예기한다.
- [0016] 본 발명의 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드에 의해 치료가능한 질환 또는 장애를 앓거나, 또는 앓을 위험에 처해있는 개체는 질환 또는 장애를 치료하는데 효과적인 양으로 투여된다. 일부 구체예에서, 질환 또는 장애는 고혈당 상태, 인슐린 저항성, 고인슐린혈증, 글루코오스 불내성 또는 대사 증후군이다. 다른 구체예에서, 질환 또는 장애는 체중 장애 (가령, 비만)이고, 반면 또 다른 구체예에서, 이들 폴리펩티드는 최소한

일부 정도까지, 식욕 억제를 유발한다.

- [0017] 본 발명의 다른 양상은 세포-기초된 발현 시스템, 벡터, 가공된 세포주, 그리고 이들에 관련된 방법과 용도를 포함한다.
- [0018] 차후에 상세하게 설명된 바와 같이, 본 발명의 한 구체예는 다음을 포함하는 폴리펩티드에 관계한다: a) 도면 1b에서 묘사된 서열 (서열 번호:3)에 최소한 하나의 변형을 포함하는 폴리펩티드; 여기서 상기 변형은 상기 폴리펩티드의 아미노산 서열을 변경하지 않고, 또는 b) 도면 1b에서 묘사된 서열 (서열 번호:3)의 돌연변이단백질 폴리펩티드, 여기서 돌연변이단백질 폴리펩티드는 상기 돌연변이단백질 폴리펩티드의 아미노산 서열을 변경하지 않는 최소한 하나의 변형을 포함하고; 그리고 여기서 a)와 b)에서 진술된 변형은 상기 폴리펩티드 또는 상기 돌연변이단백질 폴리펩티드의 최소한 하나의 물리적 성질을 향상시킨다.
- [0019] 본 발명의 일정한 구체예에서, 폴리펩티드는 예로서, 도면 3, 5, 6과 13에서 묘사된 서열 중에서 임의의 한 가지의 돌연변이단백질 폴리펩티드를 포함한다.
- [0020] 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 약 10개 아미노산 내지 약 113개 아미노산의 길이를 갖는다. 다른 구체예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 100개보다 적은 아미노산 잔기, 75개보다 적은 아미노산 잔기, 50개보다 적은 아미노산 잔기, 25개보다 적은 아미노산 잔기, 또는 20개보다 적은 아미노산 잔기를 가질 수 있다.
- [0021] 또 다른 추가의 구체예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도면 1b에서 묘사된 아미노산 서열 (서열 번호:3)에 최소한 85% 아미노산 동일성, 최소한 90% 아미노산 동일성, 최소한 93% 아미노산 동일성, 최소한 95% 아미노산 동일성, 최소한 97% 아미노산 동일성, 최소한 98% 아미노산 동일성, 또는 최소한 99% 아미노산 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] 본 발명에 따라서, 폴리펩티드는 재조합적으로 생산될 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일부 구체예에서, 폴리펩티드에 변형은 폐길화, 당화, 폴리시알화, 헤실레이션, 알부민 융합, 접합된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합, Fc-융합, 또는 PEG 모방체와의 융합을 포함한다.
- [0024] 특정 구체예에서, 폴리펩티드에 변형은 당화를 포함하고, 그리고 이들 구체예 중에서 일부에서 당화는 N-당화이다. N-당화는 폴리펩티드의 하나 이상의 아미노산 잔기에서 일어날 수 있다.
- [0025] 다른 구체예에서, 폴리펩티드에 변형은 알부민 융합을 포함하고, 여기서 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편이 폴리펩티드에 접합된다. 일부 구체예에서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 인간 혈청 알부민 (HSA), 인간 혈청 알부민 변이체, 또는 인간 혈청 알부민 단편이고, 반면 다른 구체예에서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 소 혈청 알부민, 소 혈청 알부민 변이체, 또는 소 혈청 알부민 단편이다.
- [0026] 전장 HSA는 18개 아미노산의 신호 펩티드 (MKWVTFISLLFLFSSAYS; 서열 번호:164), 그 이후에 6개 아미노산의 프로도메인 (RGVFR; 서열 번호:165)을 갖는다; 이러한 24개 아미노산 잔기 펩티드는 프리프로도메인으로서는 지칭될 수 있다. 성숙 HSA 폴리펩티드는 도면 1c에서 묘사된 서열 (서열 번호:5)의 잔기 D25-L609에 걸친다. 본원에서 제공된 실험적 데이터를 산출하는데 이용된 구조체에서, 내인성 신호 펩티드는 인간 IgK 신호 펩티드로 대체되고, 그리고 내인성 프로도메인은 완전히 배제되었다.
- [0027] 또 다른 추가의 구체예에서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 카르복실 말단에서, 아미노 말단에서, 카르복실과 아미노 말단 둘 모두에서, 또는 내적으로 폴리펩티드에 접합된다. 특정 구체예는 아미노 말단에서 폴리펩티드에 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편의 접합을 수반한다.
- [0028] 특정 구체예에서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 308개 아미노산 GDF15 전구체 폴리펩티드의 167개 아미노산 프로도메인 및 112개 아미노산 성숙 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 접합된다; 따라서, 본 발명은 도면 1a에서 묘사된 서열 (서열 번호:1)의 약 아미노산 잔기 30 내지 약 아미노산 잔기 308의 길이를 갖는 GDF15 폴리펩티드를 예기한다.
- [0029] 본 발명은 포유류 조직 배양으로부터 분비를 부여하는 적절한 길이의 신호 펩티드를 이용하여, 167개 아미노산 프로도메인이 부재하는, 도면 1b에서 묘사된 바와 같은 GDF15 (서열 번호:3)의 112개 아미노산 성숙 도메인의 직접적인 발현과 생산을 예기한다. 발현과 분비를 용이하게 하는 적합한 신호 펩티드의 실례는 IgK를 포함한다. 당분야는 다른 적절한 신호 펩티드가 확인될 수 있는 기전을 설명한다 [가령, Ng et al. (Jan. 2013) "Engineering Signal Peptides for Enhanced Protein Secretion from *Lactococcus lactis*.", Appl. Environ. Microbiol. 79(1):347-56; Chou (2001) "Using Subsite Coupling to Predict Signal Peptides", Protein

Engineering 14(2):75-79; Leversen et al. (July 2009) "Evaluation of Signal Peptide Prediction Algorithms for Identification of Mycobacterial Signal Peptides Using Sequence Data from Proteomic Methods" Microbiology 155(7):2357-83; 그리고 Shen et al., (2007) "Signal-3L: a 3-layer Approach for Predicting Signal Peptides", *Biochemical and Biophysical Res. Comm.* 363: 297-303].

- [0030] 본 발명은 알부민 융합 분자를 예기하고, 여기서 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 링커를 거쳐 폴리펩티드에 접합된다. 적합한 링커의 실례는 본원에서 설명된다. 실례로서, 링커는 예로서, 4-내지-6개 아미노산의 펩티드 링커일 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 비개열가능한 링커 (가령, 3x(4Gly-Ser) 링커; 서열 번호:64)이다. 다른 구체예에서, 링커는 개열가능한 링커이고, 그리고 추가의 구체예에서, 개열가능한 링커는 프로테아제 (가령, 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (GGGSGGGGSIXGR, 여기서 X는 E 또는 D일 수 있다 (서열 번호:221))에 의해 개열될 수 있다.
- [0031] 특정 구체예에서, 알부민 융합 분자의 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 알부민 융합 분자가 세포로부터 분리되기 전에 절제되고, 반면 다른 구체예에서, 알부민 융합 분자는 알부민 융합 분자가 세포로부터 분리된 다음에 절제된다.
- [0032] 본 발명은 언급된 폴리펩티드의 물리적 성질이 용해도, 생체이용률, 혈청 반감기, 치료적 반감기, 순환 시간, 그리고 면역원성으로 구성된 군에서 선택되는 구체예를 포괄한다. 특정 구체예에서, 물리적 성질은 용해도이다.
- [0033] 게다가, 본 발명은 전술한 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 분자를 예기한다. 일부 구체예에서, 핵산 분자는 시험관내에서, 세포에서 또는 생체내에서 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 분자의 발현을 부여하는 발현 제어 요소에 작동가능하게 연결된다.
- [0034] 일부 구체예에서, 벡터 (가령, 바이러스 벡터)는 이들 핵산 분자 중에서 하나 또는 그 이상을 내포한다.
- [0035] 일부 구체예는 전술한 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상을 발현하는 형질전환된 또는 숙주 세포를 포함한다.
- [0036] 본 발명의 특정 구체예에서, 전술한 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상은 제약학적 조성물을 산출하도록 조절되고, 여기서 상기 조성물은 또한, 하나 또는 그 이상의 제약학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 포함한다. 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물은 또한, 최소한 하나의 추가 예방적 또는 치료적 작용제를 포함한다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 구체예는 전술한 돌연변이단백질 폴리펩티드 중에서 한 가지에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 항체는 별개의 폴리펩티드 내에 또는 단일 폴리펩티드 내에 존재하는 경쇄 가변 영역과 중쇄 가변 영역을 포함한다. 본 발명의 항체는 일정한 구체예에서 약 10^7 M^{-1} 내지 약 10^{12} M^{-1} 의 친화성으로 폴리펩티드에 결합한다. 또 다른 구체예에서, 항체는 아이소타입 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 추가의 구체예에서, 항체는 검출가능하게 표지화되고, 반면 이것은 다른 구체예에서 Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, 또는 Fab'이다.
- [0038] 본 발명은 또한, 공유 연결된 비폴리펩티드 중합체 (가령, 폴리(에틸렌 글리콜) 중합체)를 포함하는 항체를 예기한다. 다른 구체예에서, 항체는 지질 모이어티, 지방산 모이어티, 다당류 모이어티, 그리고 탄수화물 모이어티에서 선택되는 공유 연결된 모이어티를 포함한다.
- [0039] 항체는 일부 구체예에서 단일 사슬 Fv (scFv) 항체이고, 그리고 다른 구체예에서 scFv가 다량체화된다.
- [0040] 본 발명의 항체는 단일클론 항체, 다중클론 항체, 또는 인간화 항체일 수 있지만 이들에 한정되지 않는다.
- [0041] 게다가, 본 발명은 최소한 하나의 제약학적으로 허용되는 부형제, 담체 또는 희석제로 조절된, 앞서 설명된 바와 같은 항체를 포함하는 제약학적 조성물을 예기한다. 이런 제약학적 조성물은 또한, 최소한 하나의 추가 예방적 또는 치료적 작용제를 내포할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 일정한 구체예는 전술한 제약학적 조성물 중에서 한 가지 및 임의선택적으로, 하나 또는 그 이상의 추가 성분을 내포하는 무균 용기를 예기한다. 실례로서, 하지만 제한 없이, 무균 용기는 주사기일 수 있다. 또 다른 추가의 구체예에서, 무균 용기는 키트의 한 가지 성분이다; 키트는 또한, 예로서 최소한 하나의 예방적 또는 치료적 작용제를 내포하는 두 번째 무균 용기를 내포할 수 있다.
- [0043] 본 발명은 또한, 치료 효과량의 폴리펩티드를 개체에 투여함으로써 개체 (가령, 인간)에서 글루코오스 대사 장

애를 치료하거나 또는 예방하는 방법을 예기한다. 일부 방법에서, 치료하거나 예방하는 것은 개체에서 혈장 글루코오스에서 감소, 개체에서 혈장 인슐린에서 감소, 체중 및/또는 식품 섭취에서 감소, 또는 개체에서 내당성에서 증가를 유발한다. 특정 구체예에서, 글루코오스 대사 장애는 진성 당뇨병이다. 일부 구체예에서, 개체는 비만하고 및/또는 체중 장애를 갖는다.

[0044] 임의의 특정 투여 루트 또는 투약 섭생에 한정되지 않지만, 일부 구체예에서 투여하는 것은 비경구 (가령, 피하) 주사에 의한다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도면의 간단한 설명

도면 1a는 인간 GDF15 전구체 아미노산 서열 및 인간 GDF15 전구체 아미노산 서열을 인코딩하는 상응하는 핵산을 묘사한다.

도면 1b는 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열 및 성숙 인간 GDF15를 인코딩하는 상응하는 핵산 서열을 묘사한다.

도면 1c는 내인성 신호 펩티드와 프로도메인을 포함하는 인간 혈청 알부민 전구체 서열, 그리고 성숙 인간 혈청 알부민 (D25-L609), 그리고 상응하는 핵산 서열; 그리고 IgK 신호 펩티드와 성숙 인간 혈청 알부민 (D25-L609)을 포함하는 인간 혈청 알부민 전구체 서열, 그리고 상응하는 핵산 서열을 묘사한다.

도면 1d는 성숙 인간 혈청 알부민 아미노산 서열 (IgK 신호 펩티드를 결여하는 도면 1c의 아미노산 서열의 하위 서열, 그리고 상응하는 핵산 서열)을 묘사한다.

도면 1e는 IgK 신호 서열을 갖는 인간 혈청 알부민 아미노산 서열이 프로테아제-민감한 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자, 그리고 상기 융합 분자를 인코딩하는 상응하는 핵산을 묘사한다.

도면 1f는 성숙 인간 혈청 알부민 아미노산 서열이 프로테아제-민감한 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자, 그리고 상기 융합 분자를 인코딩하는 상응하는 핵산을 묘사한다.

도면 1g는 IgK 신호 서열을 갖는 인간 혈청 알부민 아미노산 서열이 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자, 그리고 상기 융합 분자를 인코딩하는 상응하는 핵산을 묘사한다.

도면 1h는 성숙 인간 혈청 알부민 아미노산 서열이 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자, 그리고 상기 융합 분자를 인코딩하는 상응하는 핵산을 묘사한다.

도면 2a-2c는 지정된 농도 (PBS (운반제), 0.04 mg/kg, 0.12 mg/kg, 0.4 mg/kg, 그리고 1.2 mg/kg)에서 단일 피하 분량으로서 도면 1h에서 설명된 융합 분자의 투여 이후에, ob/ob 생쥐에서 체중 (도면 2a), 식품 섭취 (도면 2b), 그리고 혈당 (도면 2c)에 대한 효과를 묘사한다. 도면에서 지적된 바와 같이, 지정된 파라미터는 22-일 기간에 걸쳐 다양한 일에서 결정되었다. 생쥐의 각 군에서, n = 7이고 p-값 (*, p<0.05; **, p<0.01; ***, p<0.001)은 각 특정된 시점에서 다양한 농도에서 운반제 대조 군에 대해 체중, 식품 섭취 및 혈당 군을 비교하는 스튜던트 비대칭 t 검중에 의해 결정되었다.

도면 3은 성숙 인간 GDF15 내에서 예측된 용매-접근가능한 소수성 잔기의 돌연변이유발에 의해 산출된 GDF15 돌연변이단백질의 아미노산 서열을 묘사한다. 융합 분자가 산출되었는데, 여기서 각 GDF15 돌연변이단백질 서열이 도면 1h에서 묘사된 링커 (비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커; (서열 번호:64))를 통해 HSA에 융합되었다; 도면 3에서 진술된 서열은 융합 분자의 HSA 성분뿐만 아니라 링커 성분을 묘사하지 않는다.

도면 4는 도면 3에서 진술된 각 GDF15 돌연변이단백질이 이황화 연결된 동종이합체로서 분비되는 지를 요약하는 표이다.

도면 5는 GDF15에 비하여 물리적 성질에서 향상의 평가를 위해 알라닌 치환을 갖는 GDF15 돌연변이단백질의 아미노산 서열을 묘사한다.

도면 6은 GDF15에 비하여 향상된 물리적 성질의 평가를 위한 N-연결된 당화 공통 부위 (Asn-Xxx-Ser/Thr)의 도

입에 대한 단일-포인트 당화 돌연변이단백질 및 추가 이-당화 돌연변이단백질의 아미노산 서열을 묘사한다. 융합 분자가 산출되었는데, 여기서 각 GDF15 돌연변이단백질 서열이 도면 1e에서 묘사된 링커 (인자 Xa-개열가능한 링커)를 통해 HSA에 융합되었다; 도면 6에서 진술된 서열은 융합 분자의 HSA 성분뿐만 아니라 링커 성분을 묘사하지 않는다.

도면 7은 도면 6에서 진술된 각 가공된 N-당화된 인간 GDF15 돌연변이단백질에 대해, N-글리칸 부위 점유와 함께 분비와 이합체 형성 데이터의 요약을 제공한다.

도면 8a와 8b는 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 물리적 성질을 갖는, 발현과 정제 이후에 가공된 인간 GDF15 돌연변이단백질을 진술한다.

도면 9a는 0.3 mg/kg의 성숙 인간 GDF15, N-당화된 인간 GDF15 돌연변이단백질, 그리고 운반제 (PBS) 대조의 단일, 피하 급성 분량 이후에, *ob/ob* 생쥐에서 하룻밤 식품 섭취 감소에 대한 효과를 묘사한다. 생쥐의 각 군에서, $n = 7$ 이고 p -값 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)은 운반제 대조 군에 비하여 GDF15 돌연변이단백질 - 처리된 생쥐의 식품 섭취를 비교하는 스튜던트 비대칭 t 검증에 의해 결정되었다.

도면 9b는 1.0 mg/kg의 성숙 인간 GDF15, N-당화된 인간 GDF15 돌연변이단백질, 그리고 운반제 (PBS) 대조의 단일, 피하 급성 분량 이후에, DIO 생쥐에서 하룻밤 식품 섭취 감소에 대한 효과를 묘사한다. 생쥐의 각 군에서, $n = 9$ 이고 p -값 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)은 운반제 대조 군에 비하여 GDF15 돌연변이단백질 - 처리된 생쥐의 식품 섭취를 비교하는 스튜던트 비대칭 t 검증에 의해 결정되었다.

도면 10은 GDF15 N-글리칸 돌연변이단백질의 수력학적 반지름이 용리 시간을 예측하는 분석적 겔 여과 크로마토그래피에 의해 결정될 때, 성숙 인간 GDF15에 비하여 증가된다는 것을 지시한다.

도면 11a는 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 GDF15 생쥐 (*Mus musculus*)와 히말라야 원숭이 (*Macaca mulatta*)의 종 오르소로그의 N 말단에 융합된 IgK 신호 서열을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열을 묘사한다.

도면 11b는 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 인간 TGF- β 1과 성숙 인간 BMP2의 N 말단에 융합된 IgK 신호 서열을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열을 묘사한다.

도면 12는 개열가능한 링커를 통해 성숙 GDF15의 종 오르소로그의 N 말단에, 또는 성숙 인간 TGF- β 1 또는 인간 BMP2의 N 말단에 융합된 HSA를 포함하는 융합 분자에 대한 분비와 이합체 형성의 요약을 제공한다.

도면 13은 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해, 알라닌-스캔에 의해 산출된 성숙 인간 GDF15 돌연변이단백질의 N 말단에 융합된 IgK 신호 서열을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열을 제공한다.

도면 14는 비개열가능한 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합된 HSA 아미노산 서열을 포함하는 융합 분자를 이용한 GDF15의 알라닌 스캔에 대한 분비와 이합체 형성의 요약을 제공한다. 이러한 요약은 GDF15의 접힘 또는 분비 파라미터에 충격을 주지 않는 돌연변이유발이 가능한 부위에 대한 원형을 제공한다.

도면 15a-15e는 다양한 링커를 통해 성숙 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 융합을 포함하는 용해도-증강된, 반감기 연장 분자의 복수의 서열을 제공한다. 도면 15a): Fc (IgG), ABD, 그리고 MBD에 융합된 신호 서열을 포함하는 융합 분자의 계통도; 가변적 링커를 통해 성숙 GDF15의 N 말단에 융합됨; 도면 15b): 3X(Glu-3Gly-Ser) 링커를 내포하는 FcGDF15; 도면 15c): Fc(+)-3X(Glu-3Gly-Ser)-GDF15와 hFc(-)를 내포하는 Fc(+)-GDF15/Fc(-) 하전된 쌍; 도면 15d): 5XGly 링커를 내포하는 알부민 결합 도메인 (ABD) (ABD-GDF15); 그리고 도면 15e): 엔테로키나아제 개열가능한 5XGly 링커를 내포하는 말토오스 결합 도메인 (MBD) (MBD-GDF15).

도면 16은 (A) 성숙 GDF15에 비하여 도면 15에서 설명된 개별 융합 구조체 각각의 PBS 완충액에서 용해도 향상; 그리고 (B) 성숙 GDF15에 3 mg/kg 알부민 결합 도메인 융합 (ABD-GDF15)의 단일 피하 주사 이후에 *ob/ob* 생쥐 모델에서 체중에서 감소의 요약을 제공한다.

도면 17a는 재조합 오리너구리 (Oa) 성숙 GDF15를 산출하는데 활용된 아미노산 서열을 묘사한다.

도면 17b는 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3과 1.0 mg/kg의 성숙 OaGDF15의 단일, 피하 분량 이후에 DIO 생쥐 ($n=8$)에서 하룻밤 식품 섭취와 체중 감소에 대한 효과를 묘사한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0046] **상세한 설명**
- [0047] 본 발명의 방법과 조성물은 더욱 설명되기에 앞서, 본 발명은 본원에서 진술된 특정 구체예에 한정되지 않는 것으로 이해되고, 그리고 또한, 본원에서 이용된 용어는 단지 특정 구체예를 설명하는 것을 목적으로 하고 제한하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해된다.
- [0048] 값의 범위가 제공되는 경우에, 문맥에서 달리 명시되지 않으면, 상기 범위의 상한선과 하한선 사이에 하한선의 단위의 1/10까지 각 개재성 값, 그리고 언급된 범위에서 임의의 다른 언급된 또는 개재성 값은 본 발명의 범위 안에 포괄되는 것으로 이해된다. 이들 더욱 작은 범위의 상한선과 하한선은 더욱 작은 범위 내에 독립적으로 포함될 수 있고, 그리고 또한, 본 발명의 범위 안에 포괄되고, 언급된 범위 내에 임의의 특정적으로 배제된 한계에 종속된다. 언급된 범위가 한계 중에서 한쪽 또는 양쪽을 포함하는 경우에, 이들 포함된 한계의 한쪽 또는 양쪽을 배제하는 범위 역시 본 발명에서 포함된다. 달리 정의되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 본 발명이 속하는 당해 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.
- [0049] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함하는 것으로 유의되어야 한다. 따라서, 예로서, "인간 폴리펩티드"에 대한 언급은 하나 또는 그 이상의 인간 폴리펩티드에 대한 언급을 포함하고, 기타 등등이다. 청구항은 임의의 임의선택적 원소를 배제하도록 작성될 수 있는 것으로 더욱 유의된다. 따라서, 이러한 진술은 청구항 원소의 열거와 관련하여 "오로지", "단독으로" 등과 같은 배타적 용어의 이용, 또는 "부정적인" 제한의 이용에 대한 선행 기술로서 역할하는 것으로 의도된다.
- [0050] 본원에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일에 앞서 오로지 그들의 개시 목적으로만 제공된다. 본원에서 어떤 것도 본 발명이 선행 발명에 의해서 이런 공개보다 선행할 권리가 없다는 것을 시인하는 것으로 해석되지 않는다. 게다가, 제공된 공개의 일자 는 실제 공개 일자와 상이할 수 있고, 이것은 독립적으로 확증될 필요가 있을 수 있다.
- [0051] **개요**
- [0052] 본 발명은 다양한 질환, 장애와 상태, 및/또는 이들의 증상을 치료하고 및/또는 예방하기 위한, 본원에서 설명된 작용제, 그리고 이들의 조성물의 용도를 예기한다. 일부 구체예에서, 질환, 장애와 상태, 및/또는 이들의 증상은 글루코오스 대사 장애와 관련되고, 반면 다른 구체예에서 이들은 체중 장애와 관련된다. 실례로서, 하지만 제한 없이, 이들 작용제, 그리고 이들의 조성물은 유형 2 당뇨병, 인슐린 저항성과 질환, 인슐린 저항성에 의해 특징화되는 장애와 상태, 감소된 인슐린 생산, 과혈당증, 대사 증후군, 또는 비만의 치료 및/또는 예방에 이용될 수 있다.
- [0053] 특정 구체예에서, 본 발명에 의해 예기된 작용제는 변형된 인간 성장 분화 인자 15 (GDF15)이고, 반면 다른 구체예에서 이들 작용제는 변형된 GDF15 변이체 (가령, 돌연변이단백질)이다. 변형된 인간 GDF15 및 변형된 GDF15 변이체 (가령, 돌연변이단백질)는 이들이 GDF15 수용체(들)에 결합하고, 그리고 예로서, 감소된 체중 및/또는 본원에서 설명된 다른 생리학적 효과를 유발하는 신호 형질도입 경로를 개시하는 능력을 갖는 정도로 인간 GDF15에 충분한 상동성을 갖는다. 본 발명은 또한, 이들을 인코딩하는 핵산 분자를 예기한다. 앞서 지시된 바와 같이, 차후 설명된 변형된 인간 GDF15 분자 및 변형된 GDF15 변이체는 "폴리펩티드(들)"로서 총칭된다.
- [0054] 변형될 수 있는 다양한 GDF15 돌연변이단백질의 실례는 차후에 설명된다. 일부 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 GDF15 아미노산 잔기가 다른 아미노산으로 치환된다. 다른 구체예에서, 하나 또는 그 이상의 GDF15 선천적 리신 잔기가 다른 아미노산으로 치환된다 (하지만, K62Q를 수반하는 변화는 비활성이다). 본 발명의 일부 구체예에서, 알라닌 스캐닝이 GDF15 돌연변이단백질을 산출하는데 이용될 수 있고, 그리고 이들 돌연변이단백질에 변형은 이후, 돌연변이단백질 그들 자체의 하나 또는 그 이상의 바람직한 성질을 증강하는 그들의 능력에 대해 사정될 수 있다. 변형된 GDF15 분자 및 변형된 GDF15 돌연변이단백질의 실례는 차후에 설명된다.
- [0055] 본 발명은 예로서, 폐길화, 당화, 그리고 알부민 접합체를 포함하는, GDF15와 GDF15 돌연변이단백질에 변형을 예기한다. 특정 구체예에서, 폐길화가 단지 특정한 리신 잔기에서만 달성되도록 하는 전략이 이용된다 (즉, 부위 특이적 폐길화). 다른 구체예에서, 알부민 융합이 산출될 수 있는데, 여기서 성숙 알부민, 또는 이의 변형된 형태 (가령, 단편)가 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질에 직접적으로 또는 간접적으로 (가령, 링커를 거쳐) 접

합된다. 앞서 지시된 바와 같이, 변형은 예로서, 이들 폴리펩티드의 혈청 반감기 및/또는 용해도를 향상시킬 수 있다. 특정 변형된 GDF15 분자와 변형된 GDF15 돌연변이단백질의 실례는 차후에 설명된다.

[0056] 정의

[0057] 용어 "환자" 또는 "개체"는 인간 또는 비-인간 동물 (가령, 포유동물)을 지칭하기 위해 교체가능하게 이용된다.

[0058] 용어 "치료하다", "치료하는", "치료" 등은 개체를 괴롭히는 질환, 장애, 또는 상태의 근원적인 원인 중에서 최소한 하나, 또는 개체를 괴롭히는 질환, 장애, 상태와 연관된 증상 중에서 최소한 하나를 일시적으로 또는 영구적으로 제거하거나, 감소시키거나, 억제하거나, 경감하거나, 또는 개선하기 위해, 질환, 장애 또는 상태, 또는 이의 증상이 진단되거나, 관찰되거나, 기타 등등 후에 시작된 행동 방침 (가령, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드를 포함하는 제약학적 조성물을 투여하는 것)을 지칭한다. 따라서, 치료는 활성 질환을 저해하는 (즉, 질환, 장애 또는 상태 또는 이와 연관된 임상적 증상의 발달 또는 추가 발달을 저지하는) 것을 포함한다 (가령, 혈류 내에 인슐린 및/또는 글루코오스의 수준을 감소시키기 위해, 내당성을 증가시키기 위해, 글루코오스 수준의 변동을 최소화하기 위해, 및/또는 글루코오스 항상성의 교란에 의해 유발된 질환에 대하여 보호하기 위해).

[0059] 용어 "치료가 필요한"은 본원에서 이용된 바와 같이, 개체가 치료를 필요로 하거나 또는 치료로부터 이익을 얻을 것이라는 주치의 또는 다른 간병인에 의해 만들어진 판단을 지칭한다. 이러한 판단은 주치의 또는 간병인의 전문지식의 영역 안에 있는 다양한 인자에 기초하여 만들어진다.

[0060] 용어 "예방하다", "예방하는", "예방" 등은 일반적으로 특정 질환, 장애 또는 상태를 갖는 성향이 있는 개체의 배경에서, 질환, 장애, 상태 등 (예로서, 임상적 증상의 부재에 의해 결정될 때)이 발달하는 개체의 위험을 일시적으로 또는 영구적으로 예방하거나, 억제하거나, 저해하거나 또는 감소시키거나, 또는 이의 시작을 지연하는 방식으로 (가령, 질환, 장애, 상태 또는 이의 증상의 시작에 앞서) 시작된 행동 방침 (가령, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드를 포함하는 제약학적 조성물을 투여하는 것)을 지칭한다. 일정한 사례에서, 이들 용어는 또한, 질환, 장애 또는 상태의 진행을 늦추거나 또는 유해한 또는 만약 그렇지 않으면 바람직하지 않은 상태로의 진행을 저해하는 것을 지칭한다.

[0061] 용어 "예방이 필요한"은 본원에서 이용된 바와 같이, 개체가 방지적 간호를 필요로 하거나 또는 방지적 간호로부터 이익을 얻을 것이라는 주치의 또는 다른 간병인에 의해 만들어진 판단을 지칭한다. 이러한 판단은 주치의 또는 간병인의 전문지식의 영역 안에 있는 다양한 인자에 기초하여 만들어진다.

[0062] 관용구 "치료 효과량"은 환자에 투여될 때 질환, 장애 또는 상태의 임의의 증상, 양상, 또는 특징에 대한 임의의 검출가능한, 긍정적인 효과를 가질 수 있는 양으로, 단독으로 또는 제약학적 조성물의 일부로서, 그리고 단일 분량에서 또는 일련의 분량의 일부로서 개체에 작용제의 투여를 지칭한다. 치료 효과량은 유관한 생리학적 효과를 계측함으로써 확인될 수 있다. 가령, 고혈당 상태의 경우에, 혈당의 강하 또는 감소 또는 내당성 검사에서 향상이 작용제의 양이 고혈당 상태를 치료하는데 효과적인 지를 결정하는데 이용될 수 있다. 가령, 치료 효과량은 공복 혈장 글루코오스 (FPG)의 임의의 수준 (가령, 기준선 수준)을 감소시키거나 줄이는데 충분한 양이고, 여기서 예로서, 상기 양은 200 mg/dl보다 큰 FPG 수준을 200 mg/dl보다 적게 감소시키는데 충분하고, 여기서 상기 양은 175 mg/dl 내지 200 mg/dl FPG 수준을 출발 수준보다 적게 감소시키는데 충분하고, 여기서 상기 양은 150 mg/dl 내지 175 mg/dl FPG 수준을 출발 수준보다 적게 감소시키는데 충분하고, 여기서 상기 양은 125 mg/dl 내지 150 mg/dl FPG 수준을 출발 수준보다 적게 감소시키는데 충분하고, 기타 등등이다 (가령, FPG 수준을 125 mg/dl보다 적게, 120 mg/dl보다 적게, 115 mg/dl보다 적게, 110 mg/dl보다 적게, 기타 등등으로 감소시킨다). HbA1c 수준의 경우에, 효과량은 수준을 약 10% 내지 9%보다 크게, 약 9% 내지 8%보다 크게, 약 8% 내지 7%보다 크게, 약 7% 내지 6%보다 크게, 약 6% 내지 5%보다 크게, 기타 등등으로 감소시키거나 줄이는데 충분한 양이다. 더욱 구체적으로, HbA1c 수준의 약 0.1%, 0.25%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, 50%, 또는 그 이상 감소 또는 축소가 본 발명에 의해 예기된다. 치료 효과량은 투약 섭생, 개체 상태의 진단적 분석 등과 관련하여 조정될 수 있다.

[0063] 관용구 "변화를 달성하는데 충분한 양으로"는 특정 요법의 투여 전 (가령, 기준선 수준)과 투여 후 계측된 지표의 수준 사이에 검출가능한 차이가 있다는 것을 의미한다. 지표는 임의의 객관적인 파라미터 (가령, 글루코오스 또는 인슐린의 수준) 또는 주관적인 파라미터 (가령, 개체의 행복감)를 포함한다.

[0064] 관용구 "내당성"은 본원에서 이용된 바와 같이, 글루코오스 섭취가 변동할 때 혈장 글루코오스 및/또는 혈장 인슐린의 수준을 제어하는 개체의 능력을 지칭한다. 가령, 내당성은 약 120 분 이내에, 혈장 글루코오스의 수준을 글루코오스의 섭취 전에 결정된 수준까지 감소시키는 개체의 능력을 포괄한다.

- [0065] 대체로, 용어 "당뇨병"과 "당뇨병성"은 과혈당증과 당뇨에 의해 빈번하게 특징화되는, 인슐린의 부적당한 생산 또는 활용을 수반하는 탄수화물 대사의 진행성 질환을 지칭한다. 용어 "당뇨병전증"과 "당뇨병전증성"은 개체가 당뇨병에서 전형적으로 관찰되는 특징, 증상 등을 갖지 않지만, 치료되지 않은 채 방치되면, 당뇨병으로 진행할 수 있는 특징, 증상 등을 갖는 상태를 지칭한다. 이들 상태의 존재는 예로서, 공복 혈장 글루코오스 (FPG) 검사 또는 경구 내당성 검사 (OGTT)를 이용하여 결정될 수 있다. 둘 모두 통상적으로, 검사를 개시하기에 앞서, 개체가 최소한 8 시간 동안 단식하도록 하는 것을 필요로 한다. FPG 검사에서, 개체의 혈당은 공복의 종결 후에 측정된다; 일반적으로, 개체는 하룻밤 동안 단식하고, 그리고 혈당은 개체가 식사하기 전에 아침에 측정된다. 건강한 개체는 약 90 내지 약 100 mg/dl의 FPG 농도를 일반적으로 가질 것이고, "당뇨병전증"을 앓는 개체는 약 100 내지 약 125 mg/dl의 FPG 농도를 일반적으로 가질 것이고, 그리고 "당뇨병"을 앓는 개체는 약 126 mg/dl 초과 FPG 수준을 일반적으로 가질 것이다. OGTT에서, 개체의 혈당은 공복 후에 측정되고, 그리고 글루코오스-풍부한 음료를 마신 후 2 시간에 다시 한 번 측정된다. 글루코오스-풍부한 음료의 소비 후 2 시간에, 건강한 개체는 약 140 mg/dl 미만의 혈당 농도를 일반적으로 갖고, 당뇨병전증성 개체는 약 140 내지 약 199 mg/dl의 혈당 농도를 일반적으로 갖고, 그리고 당뇨병성 개체는 약 200 mg/dl 또는 그 이상의 혈당 농도를 일반적으로 갖는다. 전술한 혈당 값은 인간 개체와 관련되는 반면, 정상혈당, 중등도 과혈당증 및 명시적인 과혈당증은 무린 개체에서 상이하게 매겨진다. 4-시간 공복 후에 건강한 무린 개체는 약 100 내지 약 150 mg/dl의 FPG 농도를 일반적으로 가질 것이고, "당뇨병전증"을 앓는 무린 개체는 약 175 내지 약 250 mg/dl의 FPG 농도를 일반적으로 가질 것이고, 그리고 "당뇨병"을 앓는 무린 개체는 약 250 mg/dl 초과 FPG 농도를 일반적으로 가질 것이다.
- [0066] 용어 "인슐린 저항성"은 본원에서 이용된 바와 같이, 정상적인 양의 인슐린이 정상적인 생리학적 반응 또는 분자 반응을 산출할 수 없는 상태를 지칭한다. 일부 경우에, 내생적으로 생산된 또는 외인성으로 투여된 과생리학적 양의 인슐린이 인슐린 저항성을 전체적으로 또는 부분적으로 극복하고, 그리고 생물학적 반응을 산출할 수 있다.
- [0067] 용어 "대사 증후군"은 고인슐린혈증, 비정상적인 내당성, 비만, 복부 또는 상체 구획으로 지방의 재분포, 고혈압, 섬유소분해장애, 그리고 높은 트리글리세리드, 낮은 고밀도 지질단백질 (HDL)-콜레스테롤과 높은 작고 조밀한 저밀도 지질단백질 (LDL) 입자에 의해 특징화되는 이상지질혈증이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 특성의 연관된 클러스터를 지칭한다. 대사 증후군을 갖는 개체는 유형 2 당뇨병 및/또는 다른 장애 (가령, 죽상경화증)의 발달에 대한 위험에 처해있다.
- [0068] 관용구 "글루코오스 대사 장애"는 건강한 개체에 비하여 개체에서 상승된 수준의 글루코오스 및/또는 상승된 수준의 인슐린과 연관되는 임상적 증상 또는 임상적 증상의 조합에 의해 특징화되는 임의의 장애를 포괄한다. 상승된 수준의 글루코오스 및/또는 인슐린은 다음의 질환, 장애와 상태에서 형성될 수 있다: 그 중에서도 특히, 과혈당증, 유형 II 당뇨병, 임신성 당뇨병, 유형 I 당뇨병, 인슐린 저항성, 내당성 장애, 고인슐린혈증, 글루코오스 대사 장애, 당뇨병전증, 다른 대사 장애 (가령, 대사 증후군, 이것은 X 증후군으로서 또한 지칭된다), 그리고 비만. 본 발명의 폴리펩티드, 그리고 이들의 조성물은 예로서, 글루코오스 항상성을 달성하고 및/또는 유지하는데, 예를 들면, 혈류 내에 글루코오스 수준을 감소시키고 및/또는 인슐린 수준을 건강한 개체에서 발견되는 범위까지 감소시키는데 이용될 수 있다.
- [0069] 용어 "과혈당증"은 본원에서 이용된 바와 같이, 건강한 개체에 비하여 개체의 혈액 혈장 내에서 상승된 양의 글루코오스가 순환하는 상태를 지칭한다. 과혈당증은 본원에서 설명된 바와 같이 공복 혈당 수준의 측정을 비롯하여, 당분야에서 공지된 방법을 이용하여 진단될 수 있다.
- [0070] 용어 "고인슐린혈증"은 본원에서 이용된 바와 같이, 부수적으로, 혈당 수준이 상승되거나 또는 정상적일 때 상승된 수준의 순환하는 인슐린이 있는 상태를 지칭한다. 고인슐린혈증은 이상지질혈증, 예를 들면, 높은 트리글리세리드, 높은 콜레스테롤, 높은 저밀도 지질단백질 (LDL) 및 낮은 고밀도 지질단백질 (HDL); 높은 요산 수준; 다낭포성 난소 증후군; 유형 II 당뇨병 및 비만과 연관되는 인슐린 저항성에 의해 유발될 수 있다. 고인슐린혈증은 약 2 μ U/mL보다 높은 혈장 인슐린 수준을 갖는 것으로 진단될 수 있다.
- [0071] 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "체중 장애"는 과도한 체중 및/또는 증강된 식욕과 연관된 상태를 지칭한다. 개체의 연령, 신장, 성별과 건강 상태를 비롯한 다양한 파라미터가 개체가 건강한 참고 개체와 비교하여 체중과다인지를 결정하는데 이용된다. 가령, 개체는 미터 제곱 단위에서 개체의 신장에 의해 킬로그램 단위에서 개체의 중량을 나눈으로써 계산되는 개체의 체질량 지수 (BMI)의 사정에 의해 체중과다 또는 비만한 것으로 고려될 수 있다. ~ 18.5 내지 $\sim 24.9 \text{ kg/m}^2$ 의 범위에서 BMI를 갖는 성체는 정상적인 중량을 갖는 것으로 고

려된다; ~25 내지 ~29.9 kg/m²의 BMI를 갖는 성체는 체중과다 (전비만한)인 것으로 고려될 수 있다; 그리고 ~30 kg/m² 또는 더욱 높은 BMI를 갖는 성체는 비만한 것으로 고려될 수 있다. 증강된 식욕은 과도한 체중에 빈번하게 기여한다. 예로서, 야식 증후군을 비롯하여, 증강된 식욕과 연관된 여러 질환이 있는데, 야식 증후군은 아침 식욕부진 및 불면증과 종종 연관된 저녁 다식증에 의해 특징화되지만, 시상하부에 손상과 관련될 수도 있다.

[0072] 용어 "활성체"는 예로서, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 자극하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 증가시키거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 활성화시키거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 조장하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 활성화를 증강하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 민감화시키거나 또는 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 기능 또는 활성을 상향조절하는 작용제를 지칭한다. 이에 더하여, 활성체는 이들 폴리펩티드와 동일한 작용 기전을 통해 작동하고 (즉, 이들 폴리펩티드의 방식과 유사한 방식으로 이들 폴리펩티드와 동일한 신호전달 경로를 조정하는 작용제), 그리고 이들 폴리펩티드의 생물학적 반응에 필적하는 (또는 이보다 큰) 생물학적 반응을 이끌어낼 수 있는 작용제를 포함한다. 활성체의 실례는 효연제, 예를 들면, 소형 분자 화합물을 포함한다.

[0073] 용어 "조절인자"는 이들 폴리펩티드와 활성체를 집합적으로 지칭한다.

[0074] 용어 "조정하다", "조정" 등은 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드 (또는 이들을 인코딩하는 핵산 분자)의 기능 또는 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 증가시키는 작용제 (가령, 활성체)의 능력을 지칭하거나; 또는 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 효과에 필적하는 효과를 산출하는 작용제의 능력을 지칭한다.

[0075] 본원에서 교체가능하게 이용된 용어 "폴리펩티드," "펩티드," 그리고 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합성 형태를 지칭하는데, 이것은 유전적으로 코딩된 아미노산과 비유전적으로 코딩된 아미노산, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된 또는 유도체화된 아미노산, 그리고 변형된 폴리펩티드 중추를 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이들 용어는 이종성 아미노산 서열을 갖는 융합 단백질, 이종성과 상동성 리더 서열을 갖는 융합 단백질, N 말단 메티오닌 잔기를 갖거나 갖지 않는 융합 단백질; 번역학적으로 태그된 단백질; 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 융합 단백질을 포함한다.

[0076] 명세서 전반에서 1 문자 또는 3 문자 코드에 따라 아미노산에 대한 언급이 만들어지는 것으로 인지될 것이다. 독자의 편의를 위해, 1 문자와 3 문자 아미노산 코드가 아래에 제공된다:

[0077] G 글리신 Gly P 프롤린 Pro

[0078] A 알라닌 Ala V 발린 Val

[0079] L 류신 Leu I 이소류신 Ile

[0080] M 메티오닌 Met C 시스테인 Cys

[0081] F 페닐알라닌 Phe Y 티로신 Tyr

[0082] W 트립토판 Trp H 히스티딘 His

[0083] K 리신 Lys R 아르기닌 Arg

[0084] Q 글루타민 Gln N 아스파라긴 Asn

[0085] E 글루탐산 Glu D 아스파르트산 Asp

[0086] S 세린 Ser T 트레오닌 Thr

[0087] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "변이체"는 자연발생 변이체 (가령, 동족체 및 대립형질 변이체)와 비자연발생 변이체 (가령, 돌연변이단백질)을 포괄한다. 자연발생 변이체는 동족체, 즉, 한 가지 종과 다른 종 사이에 각각, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에서 다른 핵산과 폴리펩티드를 포함한다. 자연발생 변이체는 대립형질 변이체, 즉, 종 내에서 한 개체와 다른 개체 사이에 각각, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에서 다른 핵산과 폴리펩티드를 포함한다. 비자연발생 변이체는 각각, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열에서 변화를 포함하는 핵산과 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 서열에서 변화는 인위적으로 도입된다, 가령, 변화는 인간 개입 ("인간의 손")에 의해 실험실에서 또는 다른 시설에서 발생된다.

[0088] GDF15에 관하여 용어 "선천적"은 생물학적으로 활성, 자연발생 GDF15 변이체를 비롯한 생물학적으로 활성, 자연발생 GDF15를 지칭한다. 상기 용어는 112개 아미노산 인간 GDF15 성숙 서열을 포함한다.

- [0089] 용어 "돌연변이단백질"은 본원에서 이용된 바와 같이, 돌연변이된 재조합 단백질, 즉, 아미노산 서열에서 인위적으로 도입된 변화, 예를 들면, 인간 개입 ("인간의 손")에 의해 실험실 또는 다른 시설에서 산출된 아미노산 서열에서 변화를 포함하는 폴리펩티드를 광범위하게 지칭한다. 이들 단백질은 단일 또는 복수의 아미노산 치환을 통상적으로 운반하고, 그리고 부위-지향된 또는 무작위 돌연변이유발에 종속된 클로닝된 유전자로부터, 또는 완전하게 합성 유전자로부터 빈번하게 유래된다. 본 발명의 "돌연변이단백질"은 따라서, 예로서 참고 폴리펩티드에 비하여, 예를 들면, 성숙 인간 GDF15에 비하여, 아미노산 치환 및/또는 아미노산 결실 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 또는 그 이상 아미노산의 N 말단 절두)을 포괄한다.
- [0090] 선천적 인간 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질에 관하여 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "변형된", "변형" 등은 인간 GDF15, 자연발생 GDF15 변이체, 또는 GDF15 돌연변이단백질의 원하는 성질을 증강하는 하나 또는 그 이상의 변화를 지칭하고, 여기서 상기 변화는 GDF15의 주요 아미노산 서열을 변경하지 않는다. "변형"은 GDF15 폴리펩티드 그 자체의 주요 아미노산 서열을 변경하지 않는 공유 화학적 변형을 포함한다. 이런 원하는 성질은 예로서, 용해도를 증강하고, 순환 반감기를 연장하고, 안정성을 증가시키고, 제거율을 감소시키고, 면역원성 또는 알레르기항원성을 변화시키고, 제조가능성의 양상 (가령, 비용과 효율)을 향상시키고, 그리고 검출 검정에서 이용을 위한 특정 항체의 조성을 실시가능하게 하는 것 (가령, 독특한 에피토프의 도입에 의해)을 포함한다. 수행될 수 있는 인간 GDF15, 자연발생 GDF15 변이체, 또는 GDF15 돌연변이단백질에 변화에는 폐길화 (폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 또는 이의 유도체의 하나 또는 그 이상의 분자의 공유 부착); 당화 (가령, N-당화), 폴리시알화 및 헤실레이션; 말토오스 결합 단백질 융합; 알부민 융합 (가령, HSA 융합); 예로서, 접합된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화); Fc-융합; 그리고 PEG 모방체와의 융합이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 특정 구체예는 폴리에틸렌 글리콜을 필요로 하는 변형을 수반하고, 다른 특정 구체예는 알부민을 필요로 하는 변형을 수반하고, 그리고 또 다른 특정 변형은 당화를 필요로 하는 변형을 수반한다.
- [0091] 용어 "DNA", "핵산", "핵산 분자", "폴리뉴클레오티드" 등은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합성 형태, 더욱 시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드, 또는 이들의 유사체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가능하게 이용된다. 폴리뉴클레오티드의 무제한적 실례는 선형과 환상 핵산, 전령 RNA (mRNA), 상보성 DNA (cDNA), 재조합 폴리뉴클레오티드, 벡터, 프로브, 프라이머 등을 포함한다.
- [0092] 용어 "프로브"는 관심되는 유전자 또는 서열에 상응하는 DNA 또는 RNA의 단편을 지칭하고, 여기서 상기 단편은 방사성으로 (가령, 32^P 또는 35^S 를 함유함으로써) 또는 일부 다른 검출가능한 분자, 예를 들면, 비오틴, 디곡시게닌 또는 플루오레세인으로 표지화되었다. 상보성 서열을 갖는 DNA 또는 RNA의 스트레치가 혼성화할 것이기 때문에, 프로브는 예로서, 관심되는 유전자를 내포하는 겔 상에서 바이러스 플라크, 세균 집락 또는 띠를 표지화하는데 이용될 수 있다. 프로브는 클로닝된 DNA일 수 있고 또는 합성 DNA 가닥일 수 있다; 후자는 예로서, 단백질의 부분을 미량서열결정하고, 상기 단백질을 인코딩하는 핵산 서열을 추론하고, 상기 서열을 운반하는 올리고뉴클레오티드를 합성하고, 상기 서열을 방사선표지화하고, 그리고 cDNA 라이브러리 또는 유전체 라이브러리를 선별검사하기 위한 프로브로서 이를 이용함으로써, 단리된 단백질로부터 cDNA 또는 유전체 클론을 획득하는데 이용될 수 있다.
- [0093] 용어 "이종성"은 상이한 공급원으로부터 유래된 구조에 의해 규정되는 2가지 성분을 지칭한다. 가령, 폴리펩티드의 배경에서, "이종성" 폴리펩티드는 상이한 폴리펩티드로부터 유래되는 작동가능하게 연결된 아미노산 서열을 포함할 수 있다 (가령, 재조합 폴리펩티드를 포함하는 첫 번째 성분 및 선천적 GDF15 폴리펩티드로부터 유래된 두 번째 성분). 유사하게, 키메라 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드의 배경에서, "이종성" 폴리뉴클레오티드는 상이한 유전자로부터 유래될 수 있는 작동가능하게 연결된 핵산 서열을 포함할 수 있다 (가령, 본원에서 개시된 한 구체예에 따라 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산으로부터 첫 번째 성분 및 담체 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산으로부터 두 번째 성분). 다른 예시적인 "이종성" 핵산은 코딩 서열을 포함하는 핵산이 상기 코딩 서열의 것과 상이한 유전자 기원으로부터 유래되는 조절 요소 (가령, 프로모터) (가령, 프로모터, 코딩 서열 또는 둘 모두와 상이한 유전자 기원일 수 있는, 관심되는 숙주 세포에서 발현을 제공하기 위해)에 작동가능하게 연결되는 발현 구조체를 포함한다. 가령, GDF15 폴리펩티드 또는 이의 도메인을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결된 T7 프로모터는 이종성 핵산인 것으로 일컬어진다. 재조합 세포의 배경에서, "이종성"은 핵산이 존재하는 숙주 세포와 상이한 유전자 기원인 핵산 (또는 유전자 산물, 예를 들면, 폴리펩티드)의 존재를 지칭할 수 있다.
- [0094] 용어 "작동가능하게 연결된"은 원하는 기능을 제공하기 위한 분자 사이에 연쇄를 지칭한다. 가령, 핵산의 배경에서 "작동가능하게 연결된"은 핵산 서열 사이에 기능적 연쇄를 지칭한다. 실례로서, 핵산 발현 제어 서열 (가

령, 프로모터, 신호 서열, 또는 전사 인자 결합 부위의 어레이)이 두 번째 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결될 수 있고, 여기서 발현 제어 서열은 두 번째 폴리뉴클레오티드의 전사 및/또는 번역에 영향을 준다. 폴리펩티드의 배경에서, "작동가능하게 연결된"은 폴리펩티드의 설명된 활성을 제공하기 위한 아미노산 서열 (가령, 상이한 도메인) 사이에 기능적 연쇄를 지칭한다.

[0095] 폴리펩티드의 구조의 배경에서 본원에서 이용된 바와 같이, "N 말단" (또는 "아미노 말단") 및 "C 말단" (또는 "카르복실 말단")은 각각, 폴리펩티드의 최말단 아미노와 카르복실 단부를 지칭하는 반면, 용어 "N 말단에"와 "C 말단에"는 각각, N 말단과 C 말단을 향하여 폴리펩티드의 아미노산 서열에서 상대적 위치를 지칭하고, 그리고 각각, N 말단과 C 말단에서 잔기를 포함할 수 있다. "N 말단에 즉시" 또는 "C 말단에 즉시"는 두 번째 아미노산 잔기에 비하여 첫 번째 아미노산 잔기의 위치를 지칭하고, 여기서 첫 번째와 두 번째 아미노산 잔기는 인접한 아미노산 서열을 제공하기 위해 공유 결합된다.

[0096] 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오티드 서열의 배경에서 "으로부터 유래된" (가령, GDF15 폴리펩티드"로부터 유래된" 아미노산 서열)은 폴리펩티드 또는 핵산이 참고 폴리펩티드 또는 핵산 (가령, 자연발생 GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15-인코딩 핵산)의 것에 기초된 서열을 갖는다는 것을 지시하는 것으로 의미되고, 그리고 단백질 또는 핵산이 만들어지는 공급원 또는 방법에 대해 제한하는 것으로 의미되지 않는다. 실례로서, 용어 "으로부터 유래된"은 참고 아미노산 또는 DNA 서열의 동족체 또는 변이체를 포함한다.

[0097] 폴리펩티드의 배경에서, 용어 "단리된"은 자연 발생하면, 그것이 자연적으로 발생할 수 있는 환경과 상이한 환경에서 관심되는 폴리펩티드를 지칭한다. "단리된"은 관심되는 폴리펩티드에 대해 실제로 농축되는 및/또는 관심되는 폴리펩티드가 부분적으로 또는 실제로 정제되는 표본 내에 있는 폴리펩티드를 포함하는 것으로 의미된다. 폴리펩티드가 자연 발생하지 않는 경우에, "단리된"은 폴리펩티드가 자신이 합성 또는 재조합 수단에 의해 만들어진 환경으로부터 분리되었다는 것을 지시한다.

[0098] "농축된"은 관심되는 폴리펩티드가 a) 시작 표본, 예를 들면, 생물학적 표본 (가령, 폴리펩티드가 자연적으로 발생하거나 또는 이것이 투여 후 존재하는 표본)에서 폴리펩티드의 농도보다 더욱 큰 농도 (가령, 최소한 3-배 더욱 큰, 최소한 4-배 더욱 큰, 최소한 8-배 더욱 큰, 최소한 64-배 더욱 큰, 또는 그 이상), 또는 b) 폴리펩티드가 만들어진 환경 (가령, 세균 세포에서처럼)보다 큰 농도에서 존재하도록 표본이 비자연적으로 조작 (가령, 과학자 또는 임상가에 의해)된다는 것을 의미한다.

[0099] "실제로 순수한"은 성분 (가령, 폴리펩티드)이 조성물의 전체 함량의 약 50%보다 크게, 그리고 전형적으로 전체 폴리펩티드 함량의 약 60%보다 크게 구성한다는 것을 지시한다. 더욱 전형적으로, "실제로 순수한"은 전체 조성물의 최소한 75%, 최소한 85%, 최소한 90% 또는 그 이상이 관심되는 성분인 조성물을 지칭한다. 일부 경우에, 폴리펩티드는 조성물의 전체 함량의 약 90%보다 크게, 또는 약 95%보다 크게 구성할 것이다.

[0100] 용어 "항체" (Abs)와 "면역글로불린" (Igs)은 동일한 구조적 특징을 갖는 당단백질을 지칭한다. 항체는 특이적 항원에 결합 특이성을 전시하는 반면, 면역글로불린은 항체 및 항원 특이성을 결합하는 다른 항체-유사 분자 둘 모두를 포함한다. 항체는 차후에 상세하게 설명된다.

[0101] 용어 "단일클론 항체"는 실제로 균질한 항체의 개체군으로부터 획득된 항체를 지칭한다, 다시 말하면, 상기 개체군을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 고도로 특이적이고 단일 항원성 부위에 대해 지향된다. 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 포함할 수 있는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다.

[0102] 항체의 배경에서, 용어 "단리된"은 자연 환경의 오염체 성분으로부터 분리된 및/또는 회수된 항체를 지칭한다; 이런 오염체 성분은 항체의 진단적 또는 치료적 이용을 간섭할지도 모르는 물질을 포함하고 효소, 호르몬, 그리고 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다.

[0103] 성장 분화 인자 15 (GDF15)

[0104] MIC-1 (대식세포 저해성 사이토킨-1), PDF, PLAB, NAG-1, TGF-PL, 그리고 PTGFB로서 또한 알려져 있는 GDF15는 전환 성장 인자 β (TGF- β) 상과의 구성원이다. 퓨린-유사 프로테아제에 의해 차후에 개열되는 62 kDa 세포내 전구체 단백질로서 합성되는 GDF15는 25 kDa 이황화 연결된 단백질로서 분비된다 [가령, Fairlie et al., J. Leukoc. Biol. 65:2-5 (1999)를 참조한다]. GDF15 mRNA는 간, 신장, 췌장, 결장과 태반을 비롯한 여러 조직에서 목격되고, 그리고 간에서 GDF15 발현은 장기, 예를 들면, 간, 신장, 심장과 폐의 손상 동안 유의미하게 상향조

절될 수 있다.

[0105] GDF15 전구체는 29개 아미노산 신호 펩티드, 167개 아미노산 프로도메인, 그리고 퓨린-유사 프로테아제에 의해 프로도메인으로부터 절제되는 112개 아미노산의 성숙 도메인을 내포하는 308개 아미노산 폴리펩티드 (NCBI 참고 Seq.NP_004855.2)이다. 308-아미노산 GDF15 폴리펩티드는 "전장" GDF15 폴리펩티드로서 지칭된다; 112-아미노산 GDF15 폴리펩티드 (가령, 도면 1a에서 묘사된 아미노산 서열의 아미노산 197-308)는 "성숙" GDF15 폴리펩티드이다. 달리 지시되지 않으면, 용어 "GDF15"는 112개 아미노산 성숙 서열을 지칭한다. 이에 더하여, 특정 GDF15 잔기에 대한 수치 언급은 112개 아미노산 성숙 서열을 지칭한다 (즉, 잔기 1은 Ala (A)이고, 그리고 잔기 112는 Ile (I)이다; 도면 1b 참조). 중요하게는, GDF15 전구체 아미노산 서열은 3개의 절제 부위를 예측하고, "성숙" 인간 GDF15의 3가지 추정 형태 (즉, 110, 112와 115개 아미노산)를 유발하는 반면, 112개 아미노산 성숙 서열은 정확한 것으로 인정된다.

[0106] 본 발명의 범위는 생쥐 (NP_035949), 침팬지 (XP_524157), 오랑우탄 (XP_002828972), 붉은털 원숭이 (EHH29815), 자이언트 판다 (XP_002912774), 긴팔원숭이 (XP_003275874), 기니 피그 (XP_003465238), 흰담비 (AER98997), 소 (NP_001193227), 돼지 (NP_001167527), 개 (XP_541938)와 오리너구리 (Ornithorhynchus anatinus); AFV61279를 비롯하여, 다른 포유류 종으로부터 GDF15 오르소로그, 그리고 이들의 변형된 형태, 그리고 이들의 용도를 포함한다. 인간 GDF15의 성숙 형태는 생쥐 오르소로그에 대략 67% 아미노산 동일성을 갖는다.

[0107] A. 원하는 물리적 성질을 갖는 변형된 GDF15 돌연변이단백질

[0108] 본 발명은 부분적으로, 변형된 GDF15 돌연변이단백질을 예기하고, 여기서 성숙 GDF15 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기는 하나 또는 그 이상의 다른 잔기로 치환된다. 가령, 변형된 GDF15 돌연변이단백질의 GDF15 돌연변이단백질 성분은 K62Q를 내포하는 GDF15 돌연변이단백질이 비활성인 것을 제외하고, 임의의 다른 아미노산으로 선천적 리신 잔기 (즉, 잔기 62, 69, 91과 107) 중에서 하나 또는 그 이상의 치환을 포함할 수 있다. 따라서, K62Q를 내포하는 변형된 GDF15는 본 발명의 GDF15 돌연변이단백질로부터 특이적으로 배제될 수 있다. K62를 유지하지만 K69Q, K91R 및/또는 K107R의 임의의 조합을 함입하는 GDF15 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15 대조의 수준에 필적하는 수준까지 체중을 낮추는데 활성이다.

[0109] 다른 GDF15 돌연변이단백질에서, 하나 또는 그 이상의 GDF15 잔기는 예로서, 다음의 치환을 비롯하여, 다른 아미노산으로 치환된다: H18Q, T19S 또는 V20L. 이런 GDF15 돌연변이단백질은 하나 또는 그 이상의 내재하는 물리적 성질 (가령, 안정성, 혈청 반감기, 그리고 검출 검정과 단백질 정제에서 이용을 위한 특정 항체의 산출)을 향상시키기 위한 변형에 대한 후보이다.

[0110] 다른 후보 GDF15 돌연변이단백질의 실례에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다:

[0111] 돌연변이단백질 v1) K69Q, K91R, K107R (서열 번호:166);

[0112] 돌연변이단백질 v2) K62Q, K91R, K107R (서열 번호:167);

[0113] 돌연변이단백질 v3) K62Q, K69Q, K107R (서열 번호:168);

[0114] 돌연변이단백질 v4) K62Q, K69Q, K91R (서열 번호:169);

[0115] 돌연변이단백질 v5) K91R, K107R (서열 번호:170);

[0116] 돌연변이단백질 v6) K69Q, K107R (서열 번호:171);

[0117] 돌연변이단백질 v7) K69Q, K91R (서열 번호:172);

[0118] 돌연변이단백질 v8) H18Q, T19S, V20L, K62Q, K69Q, K91R, K107R (서열 번호:173);

[0119] 돌연변이단백질 v9) H18Q, T19S, V20L, K62Q, K91R, K107R (서열 번호:174);

[0120] 돌연변이단백질 v10) H18Q, T19S, V20L, K62Q, K69Q, K107R (서열 번호:175); 그리고

[0121] 돌연변이단백질 v11) H18Q, T19S, V20L, K62Q, K69Q, K91R (서열 번호:176).

[0122] GDF15 돌연변이단백질의 추가 실례에는 R2, N3, G4, D5, H6, P8, L9, G10, P11, G12, R13, R16, L17, H18, T19, V20, R21, S23, L24, E25, D26, L27, G28, W29, D31, W32, V33, L34, S35, R37, E38, V39, Q40, V41, T42, M43, I45, P49, S50, Q51, F52, R53, N56, M57, H58, Q60, I61, T63, S64, H66, R67, L68, K69, P70, D71, T72, V73, P74, P76, V79, P80, S82, N84, P85, M86, V87, L88, I89, Q90, K91, T92, D93, T94, G95,

V96, S97, L98, Q99, T100, Y101, D102, D103, L104, L105, K107, D108, H110, 그리고 I112 중에서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상에서 아미노산 치환을 포함하는 인간 GDF15 폴리펩티드가 포함되지만 이들에 한정되지 않고, 여기서 아미노산 치환은 보존성 아미노산 치환 또는 비보존성 아미노산 치환일 수 있다. 한 가지 실례에서, GDF15 돌연변이단백질은 R2, N3, G4, D5, H6, P8, L9, G10, P11, G12, R13, R16, L17, H18, T19, V20, R21, S23, L24, E25, D26, L27, G28, W29, D31, W32, V33, L34, S35, R37, E38, V39, Q40, V41, T42, M43, I45, P49, S50, Q51, F52, R53, N56, M57, H58, Q60, I61, T63, S64, H66, R67, L68, K69, P70, D71, T72, V73, P74, P76, V79, P80, S82, N84, P85, M86, V87, L88, I89, Q90, K91, T92, D93, T94, G95, V96, S97, L98, Q99, T100, Y101, D102, D103, L104, L105, K107, D108, H110, 그리고 I112 중에서 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상 대신에 알라닌을 내포한다. 일부 구체예에서, GDF15 돌연변이단백질은 P36, G46, K62, L65, 및/또는 Y83에서 아미노산 치환을 갖지 않는다. 일부 구체예에서, GDF15 돌연변이단백질은 C7, C14, C15, C44, C48, C77, C78, C109 및/또는 C111에서 아미노산 치환을 갖지 않는다.

[0123] 앞서 지시된 바와 같이, 그리고 아래에 더욱 상세하게 설명된 바와 같이, 선천적 GDF15와 GDF15 돌연변이단백질은 예로서, 폐길화 (폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 또는 이의 유도체의 하나 또는 그 이상의 분자의 공유 부착); 당화 (가령, N-당화); 폴리시알화; 혈청 알부민 (가령, 인간 혈청 알부민 (HSA), 시아노 혈청 알부민, 또는 소 혈청 알부민 (BSA))을 포함하는 알부민 융합 분자; 예로서, 접합된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화); Fc-융합; 그리고 PEG 모방체와의 융합을 통해 변형될 수 있다. 일정한 구체예에서, 변형은 부위 특이적 방식으로 도입된다. 다른 구체예에서, 변형은 링커를 포함한다.

[0124] 특정 구체예에서, 본 발명은 알부민과의 접합에 의해 성숙 인간 GDF15와 GDF15 돌연변이단백질의 변형을 예기한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 N-당화를 통한 성숙 인간 GDF15와 GDF15 돌연변이단백질의 변형을 예기한다. 알부민 및 이의 GDF15/GDF15 돌연변이단백질 접합체 (가령, 융합 단백질), 그리고 N-당화된 GDF15/GDF15 돌연변이단백질의 특징은 차후에 더욱 설명된다.

[0125] 실시예 1은 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15의 N 말단에 융합된 성숙 HSA를 포함하는 융합 분자의 체중, 식품 섭취, 그리고 공복 혈당에 대한 효과를 지시한다. 융합 분자 (이것은 접합되지 않은 재조합 인간 GDF15에 비하여 향상된 반감기, 발현, 분비와 용해도를 전시하였다)의 투여는 운반체 대조와 비교하여 체중 (도면 2a), 식품 섭취 (도면 2b), 그리고 비공복 혈당 (도면 2c)에서 유의미한 향상을 유발하였다. 이들 데이터는 GDF15와의 HSA 융합이 활성이고, 그리고 이런 융합 분자가 GDF15 돌연변이단백질의 일정한 유익한 성질을 증강하기 위한 실행가능한 접근법을 나타낸다는 것을 증명한다. 상기 데이터는 또한, 지정된 파라미터의 측정이 돌연변이단백질의 고처리량 선별검사를 위한 플랫폼으로서 유용할 수 있다는 것을 지시한다.

[0126] 실시예 2는 성숙 인간 GDF15의 물리적 성질 (가령, 용해도와 안정성)을 향상시키기 위한 수단을 확인하는데 이용된 방법론을 설명한다. 표면-접근가능한 것으로 예측된 한 세트의 6개 소수성 잔기는 표면 소수성을 증가시키는 수단으로서 알라닌으로 돌연변이되었다. 융합 분자가 산출되었는데, 여기서 6개의 GDF15 돌연변이단백질 서열 각각이 도면 1h에서 묘사된 링커 (비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64))를 통해 HSA에 융합되었다; 도면 3에서 진술된 서열은 융합 분자의 HSA 성분뿐만 아니라 링커 성분을 묘사하지 않는다.

[0127] 그 후에, 융합 분자는 분비된 이황화 연결된 동종이합체로서 발현에 대해 모니터링되었다 (도면 4 참조). 실시예에서 설명된 바와 같이 산출된 데이터는 성숙 인간 GDF15의 서열을 따라서 N-연결된 당화 공통 부위(들)의 도입으로부터 발생하는 용해도를 평가하고, 그리고 성숙 인간 GDF15에 내재하는 표면 소수성과 친수성과 연관된 용해 한계를 해소하는데 이용되었다. 평가는 인자 Xa 단백질분해-민감한, 개열가능한 링커를 내포하는 GDF15/GDF15 돌연변이단백질 -N 말단 HSA 융합 분자의 작제를 수반하였다. 각 돌연변이단백질은 IgK 신호 펩티드를 갖는 hGDF15의 성숙 서열을 이용한 비-HSA 융합체로서 산출되었다. 5개 GDF15 돌연변이단백질 (w29, w32, w52, w68과 w89; 도면 3 참조)의 표면 소수성의 감소는 소수성 잔기의 알라닌으로의 선별적인 돌연변이유발에 의해 사정되었고, 그리고 인자 Xa 단백질분해-민감한 개열가능한 링커를 내포하는 HSA-융합체로서 또는 N 말단 메티오닌을 내포하는 성숙 hGDF15 돌연변이단백질의 112개 아미노산 서열을 내포하는 세균 재조합으로서 산출되었다. 성숙 인간 GDF15에 비하여 이들 5개 돌연변이단백질의 용해도의 비교는 w52와 w89가 향상된 용해도를 전시하는 유익한 돌연변이단백질이라는 것을 지시하였다.

[0128] 이에 더하여, 다음의 5개 GDF15 돌연변이단백질 서열의 표면 친수성 (도면 5 참조)이 산성 잔기의 알라닌으로의 선별적인 돌연변이유발에 의해 사정되었다: w113, w114, w115, w116과 w117. 성숙 인간 GDF15에 대한 이들 5개 돌연변이단백질의 상대적 용해도의 비교는 w116이 향상된 용해도를 전시하는 유일한 돌연변이단백질이라는 것을

지시하였다.

- [0129] 성숙 인간 GDF15 서열은 이후, N-연결된 당화 공통 부위(들)의 도입을 수용하는 능력에 대해 사정되었다. 이러한 배경에서, 단일 아미노산 치환은 성숙 인간 GDF15 서열 내에 필요한 공통 부위를 부여할 것이고, N-연결된 당화를 위한 공통 부위는 "Asn-Xxx-Ser/Thr"로서 규정되고, 여기서 "Xxx"는 프롤린 잔기일 수 없다. 성숙 인간 GDF15 서열의 스캔에 기초하여, N-글리칸 공통 부위의 도입을 수용하는 14개의 가능한 단일-포인트 돌연변이단백질이 확인되었다. 도면 6은 14개 단일-당화 돌연변이단백질뿐만 아니라 추가 조합 이-당화 돌연변이단백질의 서열을 묘사한다. 각각의 이들 가공된 N-글리칸 돌연변이단백질은 N-글리칸 부위 점유에 대해, 그리고 포유류 조직 배양 배지 내로 접힘된 GDF15 동종이합체로서 분비에 대해 평가되었다. 도면 7에서 진술된 바와 같이, 14개 단일-당화된 돌연변이단백질 중에서 10개는 접힘된 GDF15 동종이합체로서 분비되었고, 반면 4개 (w123, w125, w127과 w129)는 이합체 형성을 야기하지 않았다. 동종이합체로서 분비된 10개 단일-당화 돌연변이단백질 중에서, 2개 (w121과 w124)는 낮은 점유를 전시하고 그들의 용해도가 차후에 평가되지 않았다 (도면 7 참조). 동종이합체로서 분비되었을 뿐만 아니라 공통 부위 내에 높은 글리칸 점유를 소유하는 가공된 인간 단일-당화된 GDF15 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하였다 (실시예 3; 도면 8 참조). 이들 GDF15 돌연변이단백질은 식품 섭취에서 감소를 달성하는 그들의 능력에 대해 사정되었고, 그리고 데이터는 도면 9a에서 진술된다.
- [0130] 최종적으로, 성숙 인간 GDF15에 비하여 가공된 GDF15 N-글리칸 돌연변이단백질의 수력학적 반지름이 분석적 겔 여과 크로마토그래피를 활용하여 사정되었다 (실시예 4 참조). 도면 10에서 지시된 바와 같이, 각각의 N-연결된 글리칸 돌연변이단백질은 인간 GDF15 이합화 연결된 이합체의 수력학적 반지름을 증가시켰다. 따라서, 각 돌연변이단백질은 예로서, 우호적인 생체내 반감기를 갖는 분자를 산출하기 위한 출발점으로서 잠재적으로 역할할 수 있다.
- [0131] 성숙 인간 GDF15에 비하여, 유효한 식품 섭취 감소를 유지하면서 물리적 성질에서 가장 실제적인 향상 (가령, 용해도의 증강 및 수력학적 반지름에서 증가)을 전시하는 많은 N-당화 돌연변이단백질은 인간 GDF15의 특정한 에피토프/영역에 국부화되는 것으로 보인다. 구체적으로, N-당화 공통 부위의 도입을 유발하는 돌연변이유발은 Gln90 내지 Leu98에 걸치는 에피토프/영역에서 용인되는 것으로 보였다. 따라서, 비록 돌연변이유발을 위한 바람직한 영역의 이해가 본 발명을 실시하기 위해 필요하진 않지만, 이러한 에피토프/영역은 N-당화 공통 부위의 도입을 위해 유리한 것으로 생각된다.
- [0132] 개열가능한 융합과 발현 상대로서 인간 혈청 알부민 (HSA)은 이후, 도면 11a, 11b와 12에서 설명된 바와 같은 다양한 상이한 GDF15 오르소로그와 BMP/TGF 패밀리 구성원의 생산과 정제에 더욱 활용되었다. 분비된 구조체의 발현 프로파일링과 특성화에 기초하여, 융합 상대로서 인간 혈청 알부민 (IgK-HSA-2X(4Gly-Ser)-IEGR-GDF15 (서열 번호:12)의 표준화된 발현 원형에 따라)은 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열에 충분히 적합한 것으로 보인다. 발현 원형은 인간 GDF15 및 성숙 인간 GDF15의 아미노산 서열에 최소한 45%, 최소한 50%, 최소한 60% 최소한 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 이상 서열 동일성을 유지하는 오르소로그에 대해 최적화된다.
- [0133] 아미노산 치환에 순응하는 특정한 잔기는 성숙 인간 GDF15의 112개 아미노산 서열의 알려진 스캐닝 돌연변이유발에 의해 확인되었는데, 결과는 도면 7, 8, 9와 10에서 예증된다. 인간 혈청 알부민 발현 융합은 돌연변이유발에 대해 관용하지 않는 영역을 확인하는데 활용되었다. 시스테인 잔기는 시스테인 매듭 접힘 (C7, C14, C15, C44, C48, C77, C78, C109와 C111)을 유지하기 위해 돌연변이에 종속되지 않았다. 알라닌으로의 돌연변이유발을 관용하지 않는 5개 부위가 확인되었다: w36, w46, w62, w65와 w83 (도면 13과 14에서 설명된 P36, G46, K62, L65, 그리고 Y83). 각 알라닌 돌연변이단백질의 결과적 발현과 정제가 응집 상태와 동종이합체화 충실성, 그리고 결과적으로, GDF15의 접힘 또는 생물학적 기능에 손상 없이 돌연변이유발에 순응하는 확인된 잔기에 대해 사정되었다. 아미노산 치환에 순응하는 잔기의 실례에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다: N3A, N3Q, N3E, N3S, N3T, G4P, D5S, D5T, Q40A, Q40E, Q40D, Q40H, M43A, M43V, M43F, Q51A, Q51E, Q51L, Q51H, N56A, N56S, M57A, M57I, M57T, Q60A, Q60L, N84A, N84E, N84Q, N84T, M86A, M86V, Q90A, Q90E, Q90E, Q90H, Q95A, Q95E, Q95D, Q95H, Q95T, Q95S.
- [0134] 특정 구체예에서, GDF15에 대한 변형은 다양한 바람직하지 않은 효과, 예를 들면, 잔기 N3에서 탈아미드화 및/또는 잔기 R2에서 단백질분해를 해소하도록 설계되었다. N3에서 탈아미드화를 해소하는 것에 더하여, 탈아미드화를 예방하기 위해 성숙 GDF15 내에서 다른 아스파라긴 잔기 (가령, N84)에 변형 (가령, 치환)이 또한 만들어질 수 있다.
- [0135] 실시예 6에서 더욱 논의된 바와 같이, N3이 활성화에 실제적인 손상 없이 돌연변이유발에 순응한다는 것이 증명되

있기 때문에 (본원에서 설명된 N3A 돌연변이에 의해 예시된 바와 같이), 다른 아미노산이 이러한 부위, 예를 들면, N3Q, N3E, N3T 또는 N3S에서 치환될 수 있다고 예상하는 것은 합리적이다. 당업자는 선천적 서열 내에서 것들을 대신할 수 있는 치환과 아미노산 잔기를 관용하는 아미노산 잔기를 확인하기 위한 기술 (가령, 성숙 인간 GDF15와 비-인간 GDF15 오르소로그의 정렬)에 익숙하다.

[0136] 폴리펩티드의 다른 변형이 본원에서 예기된다. 가령, N3에서 탈아미드화는 비정상적인 아스파르트산염 잔기를 창출할 수 있고, 이것은 탈아미드화 이벤트의 직접적으로 C 말단 (즉, Asp-Gly 부위)에 G4의 존재로 인한 이소-아스파르트산염 이성화를 유발할 수 있다. N3에서 탈아미드화는 Asp-Gly 짝짓기를 교란하기 위해, 이성화 상대 Gly를 Pro (G4P)로 돌연변이시킴으로써 예방될 수 있다. 부가적으로, 탈아미드화는 D5의 예로서, D5T 또는 D5S로의 돌연변이유발에 의해 N3에서 N-연결된 당화 부위의 창출을 통해 예방될 수 있다.

[0137] 본 발명의 다른 구체예는 N 말단에서 잔기의 절두를 통해 성숙 GDF15의 N3에서 탈아미드화의 제거를 예기한다. 첫 3개 잔기는 특정 구체예에서 N 말단으로부터 제거되고, 첫 4개 잔기는 추가의 구체예에서 제거되고, 첫 5개 잔기는 또 다른 구체예에서 제거되고, 그리고 6개 또는 그 이상 잔기는 추가의 구체예에서 제거된다. 이런 절두는 R2에서 단백질분해를 교정하는 추가 이익을 갖는다 (그 이유는 상기 위치에서 아르기닌 잔기가 쪼개졌기 때문이다).

[0138] 본 발명은 잔기 3의 C 말단에 하나 또는 그 이상의 다른 변형 및 앞서 설명된 변형 (가령, N 말단에서 아미노산 잔기의 절두)의 조합을 예기한다.

[0139] 최종적으로, 실시예 7은 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N 말단에 유전자 융합체의 가공을 설명한다. 이들 구조체는 인간 Fc 도메인, 알부민 결합 도메인 및 말토오스 결합 도메인을 내포하는 융합의 설계와 실행을 포함한다 (도면 15와 16 참조). 각 경우에, 발현된 구조체는 적절한 일시적인 발현 시스템으로부터 분비 충실성에 대해 사정되고, 그리고 물리적 성질의 사정을 위해 정제되었다. 알부민 결합 도메인 (ABD)과 말토오스 결합 도메인 (MBD)의 경우에, 최대 용해도에 유의미한 증가가 관찰되었는데, 이것은 약학적 작용제로서 이들 분자에 대한 체제 고려 사항 (즉, 최대 조제가능한 분량)에 직접적으로 충격을 준다. 추가적으로, 도면 16b는 ob/ob 생쥐 모델에서 3 mg/kg의 단일 급성 분량 이후에 GDF15에 융합된 ABD (ABD-GDF15)의 2-주 효능 (체중 감소)을 예증한다. ABD-GDF15의 PK 프로파일링은 ob/ob 생쥐에서 24 시간을 초과하는 반감기를 증명하고, GDF15 약학적 성질의 바람직한 향상을 증명하였다.

[0140] 이들 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 분자는 본 발명에 의해 예기되고, 그들의 자연발생과 비자연발생 동종형, 대립형질 변이체와 스플라이스 변이체를 포함한다. 전술한 바와 같이, 폴리펩티드는 또한, 보존된 도메인을 유지하고 자연발생 폴리펩티드와 동일한 생물학적 활성을 가지면서 아미노산 잔기 내에 (가령, 변이체 또는 종을 교차하여 보존되지 않는 위치에서) 하나 또는 그 이상의 변경을 갖는 폴리펩티드를 지칭한다. 본 발명은 또한, 자연발생 DNA 서열로부터 하나 또는 그 이상의 염기에서 변하지만 유전자 코드의 축중성으로 인해 폴리펩티드에 상응하는 아미노산 서열로 여전히 번역되는 핵산 서열을 포괄한다. 가령, GDF15는 하나 또는 그 이상의 보존성 치환, 태그, 또는 접합체 (가령, 폴리펩티드)에 의해 자연발생 서열과 상이한 아미노산 서열을 지칭할 수 있다.

[0141] 따라서, 임의의 자연발생 GDF15 폴리펩티드에 더하여, 본 발명은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개, 통상적으로 20, 10, 또는 5개 이내 아미노산 치환을 갖는 것을 예기하고, 여기서 치환은 통상적으로 보존성 아미노산 치환 (가령, 폴리펩티드)이다.

[0142] "보존성 아미노산 치환"은 일반적으로, 다음의 군 내에서 아미노산 잔기의 치환을 지칭한다: 1) L, I, M, V, F; 2) R, K; 3) F, Y, H, W, R; 4) G, A, T, S; 5) Q, N; 그리고 6) D, E. 보존성 아미노산 치환은 단백질 내에 아미노산(들)을 이의 측쇄의 유사한 산도, 염기도, 전하, 극성, 또는 크기의 측쇄를 갖는 아미노산으로 대체함으로써 단백질의 활성을 보존한다. 치환, 삽입, 또는 결실에 대한 보도는 상이한 변이체 단백질 또는 상이한 종으로부터 단백질의 아미노산 서열의 정렬에 기초될 수 있다.

[0143] 본 발명은 또한, 성숙 GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15 돌연변이단백질로부터 유래된 인접한 아미노산 잔기를 내포하는 폴리펩티드의 활성 단편 (가령, 하위서열)을 예기한다. 펩티드 또는 폴리펩티드 하위서열의 인접한 아미노산 잔기의 길이는 하위서열이 유래되는 특정한 자연발생 아미노산 서열에 따라 변한다. 일반적으로, 펩티드와 폴리펩티드는 약 5개 아미노산 내지 약 10개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 15개 아미노산, 약 15개 아미노산 내지 약 20개 아미노산, 약 20개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 25개 아미노산 내지 약 30개 아미노산, 약 30개 아미노산 내지 약 40개 아미노산, 약 40개 아미노산 내지 약 50개 아미노산, 약 50개 아미노산 내지 약 75개 아미노산, 약 75개 아미노산 내지 약 100개 아미노산, 또는 약 100개 아미노산 내지 최대 전장 펩티

드 또는 폴리펩티드일 수 있다.

[0144] 부가적으로, 폴리펩티드는 규정된 길이의 인접한 아미노산 (가령, "비교 윈도우")에 걸쳐 참고 서열과 비교하여 규정된 서열 동일성을 가질 수 있다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당분야에서 널리 공지된다. 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 예로서, Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)의 국부 상동성 알고리즘에 의해, Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)의 상동성 정렬 알고리즘에 의해, Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)의 유사성 방법에 대한 검색에 의해, 이들 알고리즘 (Wisconsin Genetics Software Package, Madison, Wis.에서 GAP, BestFit, FASTA, 그리고 TFasta)의 컴퓨터화 실행에 의해, 또는 수동 정렬과 시각적 검사 (가령, Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. 1995 부록)를 참조한다)에 의해 수행될 수 있다.

[0145] 실례로서, 적합한 폴리펩티드는 도면 1, 3, 5, 그리고 6에서 묘사된 아미노산 서열 중에서 한 가지의 약 5개 아미노산 내지 약 10개 아미노산, 약 10개 아미노산 내지 약 12개 아미노산, 약 12개 아미노산 내지 약 15개 아미노산, 약 15개 아미노산 내지 약 20개 아미노산, 약 20개 아미노산 내지 약 25개 아미노산, 약 25개 아미노산 내지 약 30개 아미노산, 약 30개 아미노산 내지 약 35개 아미노산, 약 35개 아미노산 내지 약 40개 아미노산, 약 40개 아미노산 내지 약 45개 아미노산, 약 45개 아미노산 내지 약 50개 아미노산, 약 50개 아미노산 내지 약 60개 아미노산, 약 60개 아미노산 내지 약 70개 아미노산, 약 70개 아미노산 내지 약 80개 아미노산, 약 80개 아미노산 내지 약 90개 아미노산, 약 90개 아미노산 내지 약 100개 아미노산, 또는 약 100개 아미노산 내지 112개 아미노산 또는 113개 아미노산의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 최소한 약 99%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0146] 폴리펩티드는 자연 공급원 (가령, 자연발생 환경 이외에 환경)으로부터 단리될 수 있고, 그리고 또한, 재조합적으로 만들어질 수 있고 (가령, 유전적으로 변형된 숙주 세포, 예를 들면, 세균; 효모; 피치아 (Pichia); 곤충 세포; 기타 등등에서), 여기서 유전적으로 변형된 숙주 세포는 상기 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산으로 변형된다. 이들 폴리펩티드는 또한, 합성적으로 생산될 수 있다 (가령, 무세포 화학적 합성에 의해). 생산 방법은 아래에 더욱 상세하게 설명된다.

[0147] 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드를 인코딩할 수 있는 구조체를 제공하기 위해 당분야에서 공지된 상이한 GDF15 - 관련된 핵산을 조작하는 재조합 기술을 이용하여 산출될 수 있다. 특정 아미노산 서열이 제공될 때, 당업자는 예로서, 분자생물학에서 배경과 경험에 비추어 이런 아미노산 서열을 인코딩하는 다양한 상이한 핵산 분자를 인식할 것으로 인지될 것이다.

[0148] B. 조절인자

[0149] 용어 "조절인자"는 폴리펩티드와 활성체 둘 모두를 지칭한다. 앞서 지시된 바와 같이, 활성체는 예로서, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 자극하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 증가시키거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 활성화시키거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 조장하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 활성화를 증강하거나, 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드를 민감화시키거나 또는 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 기능 또는 활성을 상향조절하는 작용제이다. 이에 더하여, 활성체는 이들 폴리펩티드와 동일한 작용 기전을 통해 작동하는 작용제 (즉, 이들 폴리펩티드의 것과 유사한 방식으로 이들 폴리펩티드와 동일한 신호전달 경로를 조정하는 작용제), 그리고 이들 폴리펩티드의 것에 필적하는 (또는 이보다 큰) 생물학적 반응을 이끌어낼 수 있는 작용제를 포함한다. 활성체는 예로서, 소형 분자 효현제 화합물, 또는 다른 생물유기화학 분자일 수 있다.

[0150] 일부 구체예에서, 활성체는 소형 분자 효현제 화합물이다. 다양한 라이브러리의 소형 분자 화합물 (가령, 조합 라이브러리)이 상업적으로 가용하고, 그리고 이런 활성체를 확인하기 위한 출발점으로서 역할할 수 있다. 당업자는 원하는 성질을 갖는 하나 또는 그 이상의 화합물을 확인하기 위해 이런 화합물 라이브러리가 선별검사될 수 있는 하나 또는 그 이상의 검정 (가령, 생화학적 또는 세포-기초된 검정)을 개발할 수 있다; 그 후에, 숙련된 약용 화학자는 예로서, 이의 유사체와 유도체를 합성하고 평가함으로써 이런 하나 또는 그 이상의 화합물을 최적화할 수 있다. 합성 및/또는 분자 모형화 연구 또한 활성체의 확인에서 활용될 수 있다.

[0151] 또 다른 추가의 구체예에서, 활성체는 이들 폴리펩티드로부터 구조적으로 식별가능하지만 필적하는 활성을 갖는 효현성 폴리펩티드이다. 당업자는 원하는 성질을 갖는 이런 폴리펩티드를 확인할 수 있다.

[0152] 아미드 결합 치환

- [0153] 일부 경우에, 폴리펩티드는 펩티드 결합 이외에 하나 또는 그 이상의 연쇄를 포함한다, 예를 들면, 최소한 2개의 인접한 아미노산이 아미드 결합 이외에 연쇄를 거쳐 결합된다. 가령, 바람직하지 않은 단백질분해 또는 다른 분해 수단을 감소시키거나 또는 제거하고, 및/또는 혈청 안정성을 증가시키고, 및/또는 입체형태적 유연성을 제한하거나 또는 증가시키기 위해, 폴리펩티드의 중추 내에서 하나 또는 그 이상의 아미드 결합이 치환될 수 있다.
- [0154] 다른 실례에서, 폴리펩티드 내에 하나 또는 그 이상의 아미드 연쇄 (-CO-NH-)는 아미드 연쇄의 동배체인 연쇄, 예를 들면, -CH₂NH-, CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH-(시스와 트랜스), -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- 또는 -CH₂SO-로 대체될 수 있다. 폴리펩티드 내에 하나 또는 그 이상의 아미드 연쇄는 또한, 예로서, 감소된 동배체 슈도펩티드 결합에 의해 대체될 수 있다. Couder et al. (1993) Int. J. Peptide Protein Res. 41:181-184를 참조한다. 이런 대체 및 달성 방법은 당업자에게 공지된다.
- [0155] **아미노산 치환**
- [0156] 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환이 폴리펩티드에서 만들어질 수 있다. 다음은 무제한적 실례이다:
- [0157] a) 분지된, 환상과 직쇄 알킬, 알케닐 또는 알킬닐 치환을 비롯하여, 알라닌, 류신, 이소류신, 발린, 노르류신, (S)-2-아미노부티르산, (S)-시클로헥실알라닌 또는 C₁-C₁₀ 탄소로부터 지방족 측쇄에 의해 치환된 다른 단순한 알파-아미노산을 포함하는 알킬-치환된 소수성 아미노산의 치환;
- [0158] b) 아래 열거된 방향족 아미노산의 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 아자, 할로겐화된 (플루오르, 클로로, 브로모, 또는 요오드) 또는 알콕시 (C₁-C₄)-치환된 형태를 비롯하여, 페닐알라닌, 트립토판, 티로신, 술포티로신, 비페닐알라닌, 1-나프틸알라닌, 2-나프틸알라닌, 2-벤조티에닐알라닌, 3-벤조티에닐알라닌, 히스티딘을 포함하는 방향족-치환된 소수성 아미노산의 치환, 이것의 예시적인 실례는 아래와 같다: 2-, 3- 또는 4-아미노페닐알라닌, 2-, 3- 또는 4-클로로페닐알라닌, 2-, 3- 또는 4-메틸페닐알라닌, 2-, 3- 또는 4-메톡시페닐알라닌, 5-아미노-, 5-클로로-, 5-메틸- 또는 5-메톡시트립토판, 2'-, 3'-, 또는 4'-아미노-, 2'-, 3'-, 또는 4'-클로로-, 2, 3, 또는 4-비페닐알라닌, 2'-, 3'-, 또는 4'-메틸-, 2-, 3- 또는 4-비페닐알라닌, 그리고 2- 또는 3-피리딜알라닌;
- [0159] c) 치환체가 예로서, 프로-R 위치에서 헤테로원자 (가령, 알파 질소, 또는 원위 질소 또는 질소들) 상에, 또는 알파 탄소 상에 존재하는 지에 상관없이, 아래 아미노산의 알킬, 알케닐, 또는 아릴-치환된 (C₁-C₁₀ 분지된, 선형, 또는 환상) 유도체를 비롯하여, 아르기닌, 리신, 히스티딘, 오르니틴, 2,3-디아미노프로피온산, 호모아르기닌을 포함하는 염기성 측쇄를 내포하는 아미노산의 치환. 예시적인 실례로서 역할하는 화합물은 아래를 포함한다: N-엡실론-이소프로필-리신, 3-(4-테트라히드로피리딜)-글리신, 3-(4-테트라히드로피리딜)-알라닌, N,N-감마, 감마'-디에틸-호모아르기닌. 알파-메틸-아르기닌, 알파-메틸-2,3-디아미노프로피온산, 알파-메틸-히스티딘, 알파-메틸-오르니틴과 같은 화합물이 또한 포함되고, 여기서 알킬 기는 알파-탄소의 프로-R 위치를 점유한다. 알킬, 방향족, 헤테로방향족 (여기서 헤테로방향족 기는 개별적으로 또는 합동으로, 하나 또는 그 이상의 질소, 산소 또는 황 원자를 갖는다) 카르복실산 또는 많은 널리 공지된 활성화된 유도체 중에서 한 가지, 예를 들면, 산 염화물, 활성 에스테르, 활성 아졸리드 및 관련된 유도체) 및 리신, 오르니틴, 또는 2,3-디아미노프로피온산으로부터 형성된 아미드 또한 포함된다;
- [0160] d) 아스파르트산, 글루타민산, 호모글루타민산, 티로신, 알킬, 아릴, 아릴알킬, 그리고 2,4-디아미노프로피온산, 오르니틴 또는 리신과 테트라졸-치환된 알킬 아미노산의 헤테로아릴 술폰아미드를 포함하는 산성 아미노산의 치환;
- [0161] e) 아스파라긴, 글루타민, 그리고 아스파라긴 또는 글루타민의 알킬 또는 방향족 치환된 유도체를 포함하는 측쇄 아미드 잔기의 치환; 그리고
- [0162] f) 세린, 트레오닌, 호모세린, 2,3-디아미노프로피온산, 그리고 세린 또는 트레오닌의 알킬 또는 방향족 치환된 유도체를 포함하는 히드록실 내포 아미노산의 치환.
- [0163] 일부 경우에, 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 자연발생 비유전적으로 인코딩된 L-아미노산, 합성 L-아미노산 또는 아미노산의 D-거울상이성질체를 포함한다. 가령, 폴리펩티드는 단지 D-아미노산만을 포함할 수 있다. 가령, 폴리펩티드는 다음의 잔기 중에서 하나 또는 그 이상을 포함할 수 있다: 히드록시프롤린, β-알라닌, o-아미노벤조산, m-아미노벤조산, p-아미노벤조산, m-아미도메틸벤조산, 2,3-디아미노프로피온산, α-아미노이소

부티르산, N-메틸글리신 (사르코신), 오르니틴, 시트룰린, t-부틸알라닌, t-부틸글리신, N-메틸이소류신, 페닐 글리신, 시클로헥실알라닌, 노르류신, 나프틸알라닌, 피리딜알라닌 3-벤조티에닐 알라닌, 4-클로로페닐알라닌, 2-플루오로페닐알라닌, 3-플루오로페닐알라닌, 4-플루오로페닐알라닌, 페니실라민, 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴 놀린-3-카복실산, β -2-티에닐알라닌, 메티오닌 술폭시드, 호모아르기닌, N-아세틸 리신, 2,4-디아미노 부티 르산, rho-아미노페닐알라닌, N-메틸발린, 호모시스테인, 호모세린, ϵ -아미노 헥사노익산, ω -아미노헥사노익 산, ω -아미노헵탄산, ω -아미노옥탄산, ω -아미노데칸산, ω -아미노테트라데칸산, 시클로헥실알라닌, α , γ -디 아미노부티르산, α , β -디아미노프로피온산, δ -아미노 발레르산, 그리고 2,3-디아미노부티르산.

[0164] **추가 변형**

[0165] 시스테인 잔기 또는 시스테인 유사체는 이황화 연쇄를 거쳐 다른 펩티드에 연쇄를 제공하기 위해 또는 폴리펩티 드의 고리화를 제공하기 위해 폴리펩티드 내로 도입될 수 있다. 시스테인 또는 시스테인 유사체를 도입하는 방 법은 당분야에서 공지된다; 가령, U.S. 특허 번호 8,067,532를 참조한다.

[0166] 폴리펩티드는 고리화될 수 있다. 하나 또는 그 이상의 시스테인 또는 시스테인 유사체가 폴리펩티드 내로 도입 될 수 있고, 여기서 도입된 시스테인 또는 시스테인 유사체는 두 번째 도입된 시스테인 또는 시스테인 유사체와 이황화 결합을 형성할 수 있다. 고리화의 다른 수단은 옥심 링커 또는 란티오닌 링커의 도입을 포함한다; 가령, U.S. 특허 번호 8,044,175를 참조한다. 고리화 결합을 형성할 수 있는 아미노산 (또는 비-아미노산 모이어티)의 임의의 조합이 이용되고 및/또는 도입될 수 있다. 고리화 결합은 가교의 도입을 허용하는 기능기와 아미노산 (또는 아미노산과 $-(CH_2)_n-CO-$ 또는 $-(CH_2)_n-C_6H_4-CO-$)의 임의의 조합으로 산출될 수 있다. 일부 실례는 이황화 물, 이황화물 모방체, 예를 들면, $-(CH_2)_n-$ 카르바 가교, 티오아세탈, 티오에테르 가교 (시스타티오닌 또는 란 티오닌), 그리고 에스테르와 에테르를 내포하는 가교이다. 이들 실례에서, n은 임의의 정수일 수 있지만, 빈번 하게는 10보다 적다.

[0167] 다른 변형은 예로서, 락탐 및 다른 환상 구조를 작제하기 위한 N-알킬 (또는 아릴) 치환 ($\psi[CONR]$), 또는 중추 교차연결을 포함한다. 본 발명의 조절인자 화합물의 다른 유도체는 치환된 아마이드, 예를 들면, 알킬아미드와 히 드라지드를 비롯하여, C 말단 히드록시메틸 유도체, O-변형된 유도체 (가령, C 말단 히드록시메틸 벤질 에테 르), N 말단에서 변형된 유도체를 포함한다.

[0168] 일부 경우에, 폴리펩티드 내에 하나 또는 그 이상의 L-아미노산이 D-아미노산으로 대체된다.

[0169] 일부 경우에, 폴리펩티드는 레트로인버소 유사체이다. Sela and Zisman (1997) FASEB J. 11:449. 레트로인버소 펩티드 유사체는 아미노산 서열의 방향이 역전되고 (레트로), 그리고 그 안에 하나 또는 그 이상의 아미노산의 키랄성, D- 또는 L-이 예로서, L-아미노산보다는 D-아미노산을 이용하여 도입되는 (인버소) 선형 폴리펩티드의 이성질체이다. 가령, Jameson et al. (1994) Nature 368:744; 그리고 Brady et al. (1994) Nature 368:692를 참조한다.

[0170] 폴리펩티드는 "단백질 형질도입 도메인" (PTD)을 포함할 수 있는데, 이것은 지질 이중층, 미셀, 세포막, 소기관 막, 또는 소포 막을 횡단하는 것을 용이하게 하는 폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 탄수화물, 또는 유기 또는 무 기 화합물을 지칭한다. 다른 분자에 부착된 PTD는 분자가 막을 횡단하는, 예를 들면, 세포의 공간으로부터 세포 내 공간으로, 또는 시토플로부터 소기관 내로 이동하는 것을 용이하게 한다. 일부 구체예에서, PTD는 폴리펩티 드의 아미노 말단에 공유 연결되고, 반면 다른 구체예에서, PTD는 폴리펩티드의 카복실 말단에 공유 연결된다. 예시적인 단백질 형질도입 도메인에는 최소 운테카펩티드 단백질 형질도입 도메인 (YGRKKRRQRRR을 포 함하는 HIV-1 TAT의 잔기 47-57에 상응; 서열 번호:177); 세포 내로 진입을 주도하는데 충분한 다수의 아르기닌 을 포함하는 폴리아르기닌 서열 (가령, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 10-50개 아르기닌); VP22 도메인 (Zender et al. (2002) Cancer Gene Ther. 9(6):489-96); 초파리 (Drosophila) 안테나페디아 (Antennapedia) 단백질 형질도입 도메인 (Noguchi et al. (2003) Diabetes 52(7):1732-1737); 절두된 인간 칼시토닌 펩티드 (Trehin et al. (2004) Pharm. Research 21:1248-1256); 폴리리신 (Wender et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:13003-13008); RRQRRTSKLMKR (서열 번호:178); 트랜스포르탄 GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL (서열 번호:179); KALAWAEKLAKALAKALAKHLAKALAKALKCEA (서열 번호:180); 그리고 RQIKIWFQNRRMKWKK (서열 번호:181)가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 예시적인 PTD에는 YGRKKRRQRRR (서열 번호:177), RKKRRQRRR (서열 번 호:182); 3개 아르기닌 잔기 내지 50개 아르기닌 잔기의 아르기닌 동중중합체가 포함되지만 이들에 한정되지 않 는다; 예시적인 PTD 도메인 아미노산 서열에는 다음 중에서 한 가지가 포함되지만 이에 한정되지 않는다: YGRKKRRQRRR (서열 번호:177); RKKRRQRR (서열 번호:183); YAAAAAQARA (서열 번호:184); THRLPRRRRRR (서열

번호:185); 그리고 GGRRARRRRRR (서열 번호:186).

[0171] 폴리펩티드의 C 말단 단부에서 아미노산의 카르복실 기 COR₃은 자유로운 형태 (R₃ = OH)에서 또는 생리학적으로-용인된 알칼리성 또는 알칼리성 토류 염, 예를 들면, 예로서 나트륨, 칼륨 또는 칼슘 염의 형태에서 존재할 수 있다. 카르복실 기는 또한, 일차, 이차 또는 삼차 알코올, 예를 들면, 예로서 메탄올, 분지된 또는 분지되지 않은 C₁-C₆-알킬 알코올, 예를 들면, 에틸 알코올 또는 tert-부탄올로 에스테르화될 수 있다. 카르복실 기는 또한, 이차 또는 이차 아민, 예를 들면, 암모니아, 분지된 또는 분지되지 않은 C₁-C₆-알킬아민 또는 C₁-C₆ 디-알킬아민, 예를 들면, 메틸아민 또는 디메틸아민으로 아마이드화될 수 있다.

[0172] 폴리펩티드의 N 말단에서 아미노산 NR₁R₂의 아미노 기는 자유로운 형태 (R₁ = H 및 R₂ = H)에서 또는 생리학적으로-용인된 염, 예를 들면, 예로서 염화물 또는 아세트산염의 형태에서 존재할 수 있다. 아미노 기는 또한, R₁ = H이고 R₂ = 아세틸, 트리플루오로아세틸, 또는 아다만틸이도록 산으로 아세틸화될 수 있다. 아미노 기는 펩티드 화학에서 전통적으로 이용되는 아미노-보호 기, 예를 들면, 예로서, Fmoc, 벤질옥시-카르보닐 (Z), Boc, 또는 Alloc에 의해 보호된 형태에서 존재할 수 있다. 아미노 기는 N-알킬화될 수 있고, 여기서 R₁ 및/또는 R₂ = C₁-C₆ 알킬 또는 C₂-C₈ 알케닐 또는 C₇-C₉ 아르알킬이다. 알킬 잔기는 곧은-사슬, 분지된 또는 환상 (가령, 각각 에틸, 이소프로필 및 시클로헥실)일 수 있다.

[0173] **GDF15 기능을 증강하고 및/또는 모의하기 위한 특정 변형**

[0174] 폴리펩티드는 요법을 위해 조제된 단백질에서 바람직한 성질 (가령, 혈청 반감기)을 증강하고, 검출 검정에서 이용을 위한 항체의 조성을 할 수 있게 하고 (가령, 에피토프 태그), 단백질 정제의 용이함을 제공하고, 기타 등등을 위한 하나 또는 그 이상의 변형을 포함할 수 있다. 이런 변형에는 폐길화 (폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 또는 이의 유도체의 하나 또는 그 이상의 분자의 공유 부착); 당화 (N-과 O-연결됨); 폴리시알화; 알부민 융합; 접합된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화); Fc-융합 단백질; 그리고 PEG 모방체와의 융합이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0175] 본원에서 진술된 바와 같이, 본 발명은 성숙 GDF15 폴리펩티드 (가령, 성숙 인간 GDF15) 또는 GDF15 돌연변이단백질 폴리펩티드 (가령, 성숙 인간 GDF15의 돌연변이단백질)를 포함하는 융합 분자를 예기하고, 여기서 성숙 GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15 돌연변이단백질 폴리펩티드는 아미노산 서열을 변경하지 않는 최소한 하나의 변형을 포함하고, 그리고 여기서 상기 변형은 상기 폴리펩티드 또는 상기 돌연변이단백질 폴리펩티드의 최소한 하나의 물리적 성질을 향상시킨다. 한 구체예에서, GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15 돌연변이단백질 폴리펩티드 변형은 혈청 알부민 (가령, 인간 혈청 알부민 (HSA), 시아노 혈청 알부민, 또는 소 혈청 알부민 (BSA))과의 접합을 포함한다. 일부 구체예에서, 물리적 성질은 용해도이다.

[0176] 융합 분자가 변형된 GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15 돌연변이단백질 폴리펩티드를 포함하는 구체예에서, 이들 중 어느 한쪽은 알부민에 접합되고, 융합 분자의 용해도는 접합되지 않은 재조합 인간 GDF15에 비하여 향상된다. 일정한 구체예에서, 융합 분자는 pH 7.0에서 인산염 완충된 식염수 (PBS)에서 최소한 1 mg/mL의 용해도를 갖는다. 다른 구체예에서, 융합 분자는 최소한 2 mg/mL, 최소한 3 mg/mL, 최소한 4 mg/mL, 또는 최소한 5 mg/mL의 용해도를 갖는다. 다른 구체예에서, 융합 분자는 pH 7.0에서 인산염 완충된 식염수 (PBS)에서 최소한 6 mg/mL, 최소한 7 mg/mL, 최소한 8 mg/mL, 최소한 9 mg/mL, 또는 최소한 10 mg/mL의 용해도를 갖는다. 특정 구체예에서, 융합 분자는 10 mg/mL보다 큰 용해도를 갖는다.

[0177] 폐길화: 단백질 치료제의 임상적 유용성은 종종, 짧은 혈장 반감기 및 프로테아제 분해에 감수성에 의해 제한된다. 다양한 치료적 단백질 (가령, 필그라스티)의 연구는 이런 어려움이 폴리펩티드 서열을 다양한 비단백질성 중합체, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 또는 폴리옥시알킬렌 중에서 한 가지에 접합하거나 또는 연결하는 것을 비롯한 다양한 변형에 의해 극복될 수 있다는 것을 보여주었다 (가령, 전형적으로 단백질 및 비단백질성 중합체, 예를 들면, PEG 둘 모두에 공유 결합된 연결 모이어티를 거쳐). 이런 PEG-접합된 생체분자는 더욱 우수한 물리적 안정성과 열 안정성, 효소적 분해에 감수성에 대하여 보호, 증가된 용해도, 더욱 긴 생체내 순환 반감기와 줄어든 청소, 감소된 면역원성과 항원성, 그리고 감소된 독성을 비롯한 임상적으로 유용한 성질을 소유하는 것으로 나타났다.

[0178] 폴리펩티드 서열에 접합에 적합한 PEG는 일반적으로, 실온에서 물에서 가용성이고, 그리고 일반식 R(O-CH₂-CH₂)_nO-R을 갖는데, 여기서 R은 수소 또는 보호 기, 예를 들면, 알킬 또는 알칸올 기이고, 그리고 여기서 n은 1

내지 1000의 정수이다. R이 보호 기일 때, 이것은 일반적으로, 1 내지 8개 탄소를 갖는다. 폴리펩티드 서열에 접합된 PEG는 선형이거나 또는 분지될 수 있다. 분지된 PEG 유도체, "스타-PEG" 및 다중팔 PEG가 본 발명에 의해 예기된다. 본 발명에서 이용된 PEG의 분자량은 임의의 특정 범위에 한정되지 않지만, 일정한 구체예는 500과 20,000 사이에 분자량을 갖고, 반면 다른 구체예는 4,000과 10,000 사이에 분자량을 갖는다.

[0179] 본 발명은 또한, 접합체의 조성물을 예기하는데, 여기서 PEG는 상이한 n 값을 갖고, 따라서 다양한 상이한 PEG가 특정한 비율에서 존재한다. 가령, 일부 조성물은 $n=1$, 2, 3과 4인 접합체의 혼합물을 포함한다. 일부 조성물에서, $n=1$ 인 접합체의 백분율은 18-25%이고, $n=2$ 인 접합체의 백분율은 50-66%이고, $n=3$ 인 접합체의 백분율은 12-16%이고, 그리고 $n=4$ 인 접합체의 백분율은 최대 5%이다. 이런 조성물은 당분야에서 공지된 반응 조건과 정제 방법에 의해 생산될 수 있다. 가령, 양이온 교환 크로마토그래피가 접합체를 분리하는데 이용될 수 있고, 그리고 예로서, 변형되지 않은 단백질 서열 및 다른 숫자의 PEG가 부착된 접합체가 없이 정제된, 원하는 숫자의 PEG가 부착된 접합체를 내포하는 분획물이 이후 확인된다.

[0180] PEG는 말단 반응성 기 ("스페이서")를 거쳐 본 발명의 폴리펩티드에 결합될 수 있다. 스페이서는 예로서, 폴리펩티드 서열 중에서 하나 또는 그 이상의 유리 아미노 또는 카르복실 기 및 폴리에틸렌 글리콜 사이에 결합을 매개하는 말단 반응성 기이다. 유리 아미노 기에 결합될 수 있는 스페이서를 갖는 PEG는 폴리에틸렌 글리콜의 숙신산 에스테르를 N-히드록시숙시닐이미드로 활성화함으로써 제조될 수 있는 N-히드록시숙시닐이미드 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다. 유리 아미노 기에 결합될 수 있는 다른 활성화된 폴리에틸렌 글리콜은 2,4-비스(0-메톡시폴리에틸렌글리콜)-6-클로로-s-트리아진인데, 이것은 폴리에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르를 시아누르산 염화물과 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 유리 카르복실 기에 결합되는 활성화된 폴리에틸렌 글리콜은 폴리옥시에틸렌디아민을 포함한다.

[0181] 스페이서를 갖는 PEG에 본 발명의 폴리펩티드 서열 중에서 하나 또는 그 이상의 접합은 다양한 전통적인 방법에 의해 수행될 수 있다. 가령, 접합 반응은 5 내지 10의 pH, 4 °C 내지 실온의 온도에서, 30 분 내지 20 시간 동안, 4:1 내지 30:1의 시약 대 단백질의 몰 비율을 활용하여 용해 상태에서 수행될 수 있다. 반응 조건은 원하는 정도의 치환을 두드러지게 산출하는 방향으로 반응을 향하게 하도록 선별될 수 있다. 일반적으로, 낮은 온도, 낮은 pH (가령, pH = 5), 그리고 짧은 반응 시간은 부착된 PEG의 숫자를 줄이는 경향이 있고, 반면 높은 온도, 중성 내지 높은 pH (가령, pH $\geq$ 7), 그리고 더욱 긴 반응 시간은 부착된 PEG의 숫자를 증가시키는 경향이 있다. 당분야에서 공지된 다양한 수단이 반응을 종결하는데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 반응은 반응 혼합물을 산성화하고 예로서, -20 °C에서 냉동함으로써 종결된다.

[0182] 본 발명은 또한, PEG 모방체의 이용을 예기한다. PEG의 속성 (가령, 증강된 혈청 반감기)을 유지하면서 여러 추가 유리한 성질을 부여하는 재조합 PEG 모방체가 개발되었다. 실례로서, PEG와 유사한 연장된 입체형태를 형성할 수 있는 단순한 폴리펩티드 사슬 (예로서, Ala, Glu, Gly, Pro, Ser과 Thr 포함)은 관심되는 펩티드 또는 단백질 약물에 재조합적으로 미리 융합되어 생산될 수 있다 (가령, Amunix' XTEN technology; Mountain View, CA). 이것은 제조 공정 동안 추가 접합 단계에 대한 필요를 배제한다. 게다가, 확립된 분자생물학 기술은 폴리펩티드 사슬의 측쇄 조성을 조절할 수 있게 하고, 면역원성과 제조 성질의 최적화를 가능하게 한다.

[0183] 당화: 본 발명을 위해, "당화"는 글리칸을 단백질, 지질 또는 다른 유기 분자에 부착하는 효소적 과정을 광범위하게 지칭하는 것으로 의미된다. 본 발명과 함께 용어 "당화"의 이용은 일반적으로, 하나 또는 그 이상의 탄수화물 모이어티를 부가하거나 또는 결실시키고 (근원적인 당화 부위를 제거함으로써 또는 화학적 및/또는 효소적 수단에 의해 당화를 결실시킴으로써), 및/또는 선천적 서열에서 존재하거나 존재하지 않을 수 있는 하나 또는 그 이상의 당화 부위를 부가하는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 이에 더하여, 상기 관용구는 존재하는 다양한 탄수화물 모이어티의 성격과 비율에서 변화를 수반하는, 선천적 단백질의 당화에서 정성적 변화를 포함한다.

[0184] 당화는 단백질의 물리적 성질에 극적으로 영향을 줄 수 있고, 그리고 또한, 단백질 안정성, 분비, 그리고 세포 이하 국지화에서 중요할 수 있다. 실제로, 본원에서 설명된 GDF15-와 GDF15 돌연변이단백질-관련된 폴리펩티드의 당화는 그들의 물리적 성질에 유익한 향상을 부여한다. 실례로서, 하지만 제한 없이, GDF15/GDF15 돌연변이단백질의 용해도는 당화에 의해 향상될 수 있고, 그리고 이런 향상은 실제적일 수 있다 (실시에 참조). 이런 변형된 GDF15/GDF15 돌연변이단백질에 의해 전시된 용해도 향상은 예로서, 비당화된 GDF15/GDF15 돌연변이단백질보다 약학적 투여에 더욱 적합한 제제를 산출할 수 있게 할 수 있다. 당화된 GDF15/GDF15 돌연변이단백질 폴리펩티드는 또한, 증강된 안정성을 전시할 수 있다. 게다가, 이들 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 약동학적 성질, 예를 들면, 반감기를 향상시킬 수 있다.

[0185] 적절한 당화는 생물학적 활성에 필수적일 수 있다. 실제로, 진핵생물 생물체로부터 일부 유전자는 단백질을 당

화하기 위한 세포 과정을 결여하는 세균 (가령, 대장균 (*E. coli*))에서 발현될 때, 당화의 결여에 의해서 활성이 거의 또는 전혀 없이 회수되는 단백질을 산출한다.

[0186] 당화 부위의 부가는 아미노산 서열을 변화시킴으로써 달성될 수 있다. 폴리펩티드에 변경은 예로서, 하나 또는 그 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기 (O-연결된 당화 부위의 경우) 또는 아스파라긴 잔기 (N-연결된 당화 부위의 경우)의 추가, 또는 이들 잔기에 의한 치환에 의해 만들어질 수 있다. N-연결된 올리고사카라이드와 O-연결된 올리고사카라이드 및 각 유형에서 발견된 당 잔기의 구조는 상이할 수 있다. 둘 모두에서 통상적으로 발견되는 당의 한 가지 유형은 N-아세틸뉴라민산 (차후에, 시알산으로서 지칭됨)이다. 시알산은 통상적으로, N-연결된 올리고사카라이드와 O-연결된 올리고사카라이드 둘 모두의 말단 잔기이고, 그리고 음성 전하에 의해서, 당단백질에 산성 성질을 부여할 수 있다. 본 발명의 특정 구체에는 N-당화 변이체의 산출과 이용을 포함한다.

[0187] 본 발명의 폴리펩티드 서열은 임의선택적으로, 특히 원하는 아미노산으로 번역되는 코돈이 산출되도록, 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA를 미리 선별된 염기에서 돌연변이시킴으로써 DNA 수준에서 변화를 통해 변경될 수 있다. 폴리펩티드 상에서 탄수화물 모이어티의 숫자를 증가시키는 다른 수단은 폴리펩티드에 글리코시드의 화학적 또는 효소적 커플링이다. 탄수화물의 제거는 화학적으로 또는 효소적으로, 또는 당화되는 아미노산 잔기를 인코딩하는 코돈의 치환에 의해 달성될 수 있다. 화학적 탈당화 기술은 알려져 있고, 그리고 폴리펩티드 상에서 탄수화물 모이어티의 효소적 개열은 다양한 엔도-와 엑소-글리코시다아제의 이용에 의해 달성될 수 있다.

[0188] 디히드로폴레이트 환원효소 (DHFR) - 결합성 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포는 재조합 당단백질의 생산을 위한 통상적으로 이용되는 숙주 세포이다. 이들 세포는 효소 베타-갈락토시드 알파-2,6-시알릴전달효소를 발현하지 않고, 이런 이유로 이들 세포에서 생산된 당단백질의 N-연결된 올리고사카라이드에 대한 알파-2,6 연쇄에서 시알산을 추가하지 않는다.

[0189] 폴리시알화: 본 발명은 또한, 안정성과 생체내 약물동력학을 향상시키기 위해 자연발생, 생물분해성 α -(2→8) 연결된 폴리시알산 ("PSA")에 펩티드와 단백질의 접합, 폴리시알화의 이용을 예기한다. PSA는 고도로 친수성이고, 혈청 반감기를 증가시키는 혈액 내에서 높은 겔보기 분자량을 이것에 제공하는 생물분해성, 비독성 자연 중합체이다. 이에 더하여, 다양한 펩티드와 단백질 치료제의 폴리시알화는 현저하게 감소된 단백질분해, 활성 생체내 활성물의 체류, 그리고 면역원성과 항원성에서 감소를 야기하였다 (가령, G. Gregoriadis et al., *Int. J. Pharmaceutics* 300(1-2):125-30을 참조한다). 다른 접합체 (가령, PEG)로 변형에서처럼, 부위 특이적 폴리시알화를 위한 다양한 기술이 가용하다 (가령, T. Lindhout et al., *PNAS* 108(18)7397-7402 (2011)를 참조한다).

[0190] 융합 단백질. 본 발명은 야생형 성숙 GDF15 (가령, 인간 GDF15)의 융합 단백질뿐만 아니라 본 발명의 폴리펩티드 (가령, 변형된 인간 GDF15 분자, 인간 GDF15의 돌연변이단백질, 변형된 GDF15 돌연변이단백질, 기타 등등)의 융합 단백질을 예기한다. 이런 융합 단백질은 일반적으로, N 말단 또는 C 말단에서 본 발명의 야생형 GDF15 폴리펩티드 또는 폴리펩티드에 접합된, 본원에서 "융합 상대"로서 지칭될 수 있는 비-GDF15 폴리펩티드 (가령, 알부민 (가령, HSA) 또는 이의 단편: ABD; Fc 폴리펩티드; MBD)로 구성된다. 임의선택적으로, 융합 상대는 링커 폴리펩티드를 통해 야생형 GDF15 또는 폴리펩티드에 접합될 수 있다. 링커 폴리펩티드는 임의선택적으로, 개열 가능한 링커, 예를 들면, 효소적으로 개열가능한 링커일 수 있다. 융합 상대의 실례는 아래에 설명된다.

[0191] 알부민 융합: 접합을 위한 추가 적합한 성분과 분자는 알부민, 예를 들면, 인간 혈청 알부민 (HSA), 시아노 혈청 알부민, 그리고 소 혈청 알부민 (BSA)을 포함한다.

[0192] ~20 일자의 혈청 반감기를 갖는 성숙 HSA (도면 1d 참조), 585개 아미노산 폴리펩티드 (~67 kDa)는 콜로이드성 삼투성 혈압의 유지, 혈액 pH, 그리고 다양한 내인성과 외인성 리간드의 운반과 분포를 일차적으로 책임진다. 상기 단백질은 3개의 구조적으로 상동성 도메인 (도메인 I, II와 III)을 갖고, 거의 완전하게 알파-나선형 입체 형태에 있고, 그리고 17개 이황화 가교에 의해 고도로 안정된다. 알부민의 이들 3개의 일차성 약물 결합 영역은 3개의 도메인 각각에서 서브도메인 IB, IIA와 IIIA 내에 위치된다.

[0193] 알부민 합성은 간에서 발생하는데, 이것은 단기적인, 일차 산물 프리프로알부민을 생산한다. 따라서, 전장 HSA는 18개 아미노산의 신호 펩티드 (MKWVTFISLLFLFSSAYS; 서열 번호:164), 그 이후에 6개 아미노산의 프로도메인 (RGVFR; 서열 번호:165)을 갖는다; 이러한 24개 아미노산 잔기 펩티드는 프리프로도메인으로서 지칭될 수 있다. HSA는 내인성 신호 펩티드를 프리프로도메인으로서 이용하여 발현되고 분비될 수 있다 (도면 1c 참조). 대안으로, HSA는 성숙 구조체 (D25-L609; 서열 번호:5의)에 융합된 IgK 신호 펩티드 (서열 번호:53)를 이용하여 발현되고 분비될 수 있다; 본원에서 제공된 실험적 데이터를 산출하는데 이용된 구조체에서, 내인성 신호 펩티드는 인간 IgK 신호 펩티드로 대체되고, 그리고 내인성 프로도메인은 완전히 배제되었다. 차례로, 프리프로알부

민은 소포체 내강에서 아미노 말단에서 급속히 공동번역으로 개열되어 안정된, 609-아미노산 전구체 폴리펩티드, 프로알부민을 생산한다 (도면 1c 참조). 프로알부민은 이후, 골지 기관으로 이동하고, 여기서 이것은 푸린-의존성 아미노 말단 개열에 의해 585개 아미노산 성숙 알부민으로 전환된다. 달리 지시되지 않으면, 본원에서 "알부민" 또는 "성숙 알부민"에 대한 언급은 HSA를 지칭하는 것으로 의미된다.

[0194] 알부민의 일차 아미노산 서열, 구조, 그리고 기능은 모든 종에 걸쳐서 고도로 보존되고, 알부민 합성과 분비의 과정 역시 그러하다. HSA에 필적하는 알부민 혈청 단백질은 예로서, 시노물구스 원숭이, 소, 개, 토끼와 쥐에서 발견된다. 비-인간 종 중에서, 소 혈청 알부민 (BSA)이 HSA와 구조적으로 가장 유사하다. [가령, Kosa et al., J Pharm Sci. 96(11):3117-24 (Nov 2007)를 참조한다]. 본 발명은 예로서, 약물 개발 과정에서 상기 진술된 것들이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 비-인간 종으로부터 알부민의 이용을 예기한다. 일정한 구체예에서, 비-인간 종은 소이다. 다른 구체예에서, 비-인간 종은 시노물구스 원숭이이다.

[0195] 본 발명에 따라서, 알부민은 카르복실 말단에서, 아미노 말단에서, 카르복실과 아미노 말단 둘 모두에서, 그리고 내적으로 약물 분자 (가령, 본원에서 설명된 폴리펩티드)에 접합될 수 있다 (가령, USP 5,876,969와 USP 7,056,701을 참조한다). 게다가, 본 발명은 하나 이상의 상동성 (가령, 복수의 GDF15 돌연변이단백질 분자) 또는 이중성 (가령, GDF15 돌연변이단백질 분자 및 상이한 항당뇨병성 작용제) 약물 분자를 포함하는 알부민 융합 단백질을 예기한다.

[0196] 본 발명에 의해 예기된 HSA - 약물 분자 접합체에서, 다양한 형태의 알부민, 예를 들면, 알부민 분비 프리서열과 이들의 변이체, 이들의 단편과 변이체, 그리고 HSA 변이체가 이용될 수 있다. 이런 형태는 일반적으로, 하나 또는 그 이상의 원하는 알부민 활성을 소유한다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 알부민, 알부민 단편, 그리고 알부민 변이체 등에 직접적으로 또는 간접적으로 융합된 폴리펩티드 약물 분자를 포함하는 융합 단백질을 수반하고, 여기서 융합 단백질은 융합되지 않은 약물 분자보다 높은 혈장 안정성을 갖고 및/또는 융합 단백질은 융합되지 않은 약물 분자의 치료적 활성을 유지한다. 일부 구체예에서, 간접적인 융합은 링커, 예를 들면, 펩티드 링커 또는 이의 변형된 이형에 의해 달성된다.

[0197] 특정 구체예에서, 알부민, 알부민 변이체, 또는 알부민 단편은 308개 아미노산 GDF15 전구체 폴리펩티드의 167개 아미노산 프로도메인 및 112개 아미노산 성숙 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 접합된다; 따라서, 본 발명은 도면 1a에서 묘사된 서열 (서열 번호:1)의 약 아미노산 잔기 30 내지 약 아미노산 잔기 308의 길이를 갖는 GDF15 폴리펩티드를 예기한다.

[0198] 본 발명은 포유류 조직 배양으로부터 분비를 부여하는 적절한 길이의 신호 펩티드를 이용하여, 167개 아미노산 프로도메인이 부재하는, 도면 1b에서 묘사된 바와 같은 GDF15의 112개 아미노산 성숙 도메인의 직접적인 발현과 생산을 예기한다. 발현과 분비를 용이하게 하는 적합한 신호 펩티드의 실례는 IgK를 포함한다. 앞서 지시된 바와 같이, 당분야는 다른 적절한 신호 펩티드가 확인될 수 있는 기전을 설명한다.

[0199] 또 다른 구체예에서, 알부민은 약물 분자의 발현을 위한 세포내 샤프롱으로서 역할한다. 가령, HSA - GDF15/GDF15 돌연변이단백질 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자 (가령, 벡터)는 세포 내로 도입될 수 있다. 세포 도입은 당분야에서 공지된 임의의 수단 (가령, 형질감염 또는 전기천공)에 의해 이루어질 수 있다. 발현된 HSA - GDF15/GDF15 돌연변이단백질 융합 단백질은 임의선택적으로, 링커(들)를 통해 접합될 수 있다. 적합한 링커의 실례는 본원에서 설명된다. 일부 구체예는 예로서, 4-내지-6개 아미노산의 펩티드 링커를 예기한다.

[0200] 융합 단백질이 링커를 포함하는 구체예에서, 링커는 비개열가능한 링커일 수 있다. 가령, 한 구체예에서 본 발명은 HSA 전구체 아미노산 서열이 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자 (가령, 도면 1g를 참조한다)를 예기하고, 그리고 다른 구체예에서 본 발명은 성숙 HSA 아미노산 서열이 비개열가능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자 (가령, 도면 1h를 참조한다)를 예기한다.

[0201] 융합 단백질이 링커를 포함하는 다른 구체예에서, 링커는 개열가능한 링커이다. 가령, 본 발명은 HSA 전구체 아미노산 서열이 프로테아제-민감한 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 인간 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자 (가령, 도면 1e를 참조한다)를 예기한다. 다른 구체예에서, 본 발명은 성숙 HSA 아미노산 서열이 프로테아제-민감한 2x(4Gly-Ser) 인자 Xa-개열가능한 링커 (서열 번호:56)를 통해 성숙 인간 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질 아미노산 서열의 N 말단에 융합되는 융합 분자 (가령, 도면 1f를 참조한다)를 예기한다.

- [0202] HSA-개열가능한 링커-성숙 재조합 GDF15/GDF15 돌연변이단백질 분자의 작제뿐만 아니라 성숙 재조합 GDF15/GDF15 돌연변이단백질-개열가능한 링커-HSA 융합 분자의 작제는 예로서, GDF15/GDF15 돌연변이단백질의 용해도의 사정 및 생체내 효능의 결정을 용이하게 하는데 이용될 수 있다. 이런 구체예에서, GDF15/GDF15 돌연변이단백질은 세포내 개열을 통해 또는 시험관내 효소적 개열을 통해 HSA 샤프롱으로부터 절제될 수 있다. 일부 구체예에서, 절제는 임의의 실행가능한 프로테아제를 이용한 개열가능한 링커의 단백분해 소화에 의해 달성된다. 다른 구체예에서, GDF15 돌연변이단백질은 또한, 도면 1b에서 표시된 바와 같이, 성숙 112개 아미노산 서열에 융합된 신호 펩티드의 작제를 통해 비-HSA 융합체로서 산출될 수 있다.
- [0203] 세포내 개열은 예로서, 퓨린 또는 카스파제에 의해 효소적으로 수행될 수 있다. 세포는 낮은 수준의 이들 내인성 효소를 발현하고, 이들은 세포내에서 융합 분자의 부분을 개열할 수 있다; 따라서, 이들 폴리펩티드 중에서 일부는 HSA에 접합되지 않고 세포로부터 분비되고, 반면 이들 폴리펩티드 중에서 일부는 HSA를 포함하는 융합 분자의 형태에서 분비된다. 본 발명의 구체예에는 다양한 퓨린 융합 구조체의 이용을 예기한다. 가령, 서열 RGRR (서열 번호:222), RKRKKR (서열 번호:223), RKKR (서열 번호:224), 또는 RRRKKR (서열 번호:225)을 포함하는 구조체가 설계될 수 있다. 이런 구조체는 다음의 일반적인 구조를 가질 수 있다: Igk-HSA(서열 번호:5의 D25-L609)-2X(G4S)-퓨린 서열-hGDF15(서열 번호:1의 A197-I308).
- [0204] 본 발명은 또한, 세포의 개열 (즉, 탈체 개열)을 예기하고, 여기서 융합 분자는 세포로부터 분비되고, 정제에 종속되고, 이후 개열된다 (가령, 예로서, 인자 Xa 단백분해-민감한 링커 또는 엔테로키나아제를 이용하여). 절제는 전체 HSA-링커 복합체를 성숙 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질로부터 해리하거나, 또는 덜하긴 하지만, 전체 HSA-링커 복합체를 해리할 수 있는 것으로 이해된다.
- [0205] 상기에서 암시된 바와 같이, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드에 알부민의 융합은 예로서, HSA, 또는 이의 단편을 코딩하는 DNA가 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드 서열을 코딩하는 DNA에 결합되도록 유전자 조작에 의해 달성될 수 있다. 그 후에, 적합한 숙주는 융합 폴리펩티드를 발현하기 위해, 예로서 적합한 플라스미드의 형태에서 융합된 뉴클레오티드 서열로 형질전환되거나 또는 형질감염될 수 있다. 발현은 예로서, 원핵 또는 진핵 세포로부터 시험관내에서, 또는 예로서, 유전자도입 생물체로부터 생체내에서 달성될 수 있다. 본 발명의 일부 구체예에서, 융합 단백질의 발현은 포유류 세포주, 예를 들면, CHO 세포주에서 수행된다. 형질전환은 주변 환경으로부터 및 세포막(들)을 통해 외인성 유전 물질 (외인성 DNA)의 직접적인 흡수, 합입과 발현으로부터 발생하는 세포의 유전자 변형을 지칭하기 위해 본원에서 광범위하게 이용된다. 형질전환은 세균의 일부 중에서 자연적으로 발생하지만, 다른 세포에서 인공 수단에 의해 또한 달성될 수 있다.
- [0206] 게다가, 알부민 그 자체가 순환 반감기를 연장하도록 변형될 수 있다. 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드에 변형된 알부민의 융합은 앞서 설명된 유전자 조작 기술에 의해 또는 화학적 접합에 의해 획득될 수 있다; 결과의 융합 분자는 비변형된 알부민과의 융합체의 반감기를 초과하는 반감기를 갖는다. [WO2011/051489를 참조한다].
- [0207] 폴리펩티드 (가령, 본원에서 설명된 폴리펩티드) 및 재조합 알부민의 유전자 융합과 화학적 접합을 위한 충분히 확립된 기술 플랫폼이 존재한다. 실례로서, ALBUFUSE® 플렉스 플랫폼 (Novozymes Biopharma A/S; Denmark)이 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드에 하나 또는 그 이상의 재조합 알부민 분자의 유전자 융합을 달성하고, 따라서 상기 폴리펩티드(들) 및 상기 알부민(들)을 인코딩하는 인접한 cDNA를 생산하여 단일 균질한 단백질을 산출하는데 이용될 수 있다. 상기 플랫폼은 예로서, 효모와 포유류 숙주 발현 시스템과 함께 이용될 수 있다. 추가 실례로서, RECOMBUMIN® 플렉스 플랫폼 (Novozymes Biopharma A/S; Denmark)이 알부민의 임의의 추가 유도체화 없이, 재조합 알부민에 본 발명의 폴리펩티드의 화학적 접합을 달성하는데 이용될 수 있다. 비록 접합이 여러 아미노산 잔기 (가령, 리신과 티로신)에서 수행될 수 있긴 하지만, Cys34에서 유리 티올이 더욱 균질한 최종 산물을 산출하는, 부위 특이성으로 인한 통상의 전략이다.
- [0208] 대안적 알부민 결합 전략: 접합된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화)을 비롯한 여러 알부민 결합 전략이 직접적인 융합에 대한 대안으로서 개발되었다. 혈청 알부민이 지방산에 대한 운반 단백질이기 때문에, 알부민 결합 활성을 갖는 이들 자연 리간드가 작은 단백질 치료제의 반감기 연장에 이용되었다. 가령, 당뇨병을 위한 승인된 제품인 인슐린 디터미르 (LEVEMIR)는 지속성 인슐린 유사체를 유발하는, 유전적으로-변형된 인슐린에 접합된 미리스틸 사슬을 포함한다.
- [0209] 본 발명은 또한, 알부민 결합 도메인 (ABD) 폴리펩티드 서열 및 본원에서 설명된 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상의 서열을 포함하는 융합 단백질을 예기한다. 본원에서 또는 기존 문헌에서 설명된 임의의 ABD 폴리펩티드 서열은 융합 단백질의 성분일 수 있다. 융합 단백질의 성분은 링커, 예를 들면, 본원에서 설명된 링커를 통해 임의선택적으로 공유 결합될 수 있다. 본 발명의 구체예 중에서 일부에서, 융합 단백질은 N 말단 모이어티로

서 ABD 폴리펩티드 서열 및 C 말단 모이어티로서 본원에서 설명된 폴리펩티드를 포함한다.

- [0210] 본 발명은 또한, 알부민 결합 폴리펩티드의 단편을 포함하는 융합 단백질, 상기 단편은 알부민 결합을 실제로 유지하고; 또는 최소한 2개의 알부민 결합 폴리펩티드 또는 이들의 단편을 단위체 단위로서 포함하는 알부민 결합 폴리펩티드 또는 이들의 단편의 다합체를 예기한다.
- [0211] 임의의 이론에 한정됨 없이, 본원에서 설명된 폴리펩티드는 ABD 폴리펩티드 서열에 결합하고, 따라서 개체에서 이들 폴리펩티드를 격리하고 개체에서 증가된 작용 기간을 야기하는 것으로 생각된다.
- [0212] ABD 및 관련된 기술의 일반적인 논의를 위해, WO 2012/050923, WO 2012/050930, WO 2012/004384 및 WO 2009/016043을 참조한다.
- [0213] 말토오스 결합 단백질 또는 이의 단편과의 융합 단백질: 본 발명은 또한, 말토오스 결합 단백질 (MBP), 또는 이의 단편, 그리고 본원에서 설명된 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 예기한다. 일부 구체예에서, MBP 단편은 말토오스 결합 도메인 (MBD)을 포함한다. 임의의 MBP, 또는 이의 단편, 또는 본원에서 설명되거나 또는 당분야에서 공지된 MBD 폴리펩티드 서열은 본 발명의 융합 단백질의 성분일 수 있다. 이들 융합 단백질의 성분은 링커, 예를 들면, 본원에서 설명된 링커를 통해 임의선택적으로 공유 결합될 수 있다. 본 발명의 구체예 중에서 일부에서, 융합 단백질은 N 말단 모이어티로서 MBP, 또는 이의 단편, 또는 MBD 폴리펩티드 서열 및 C 말단 모이어티로서 본원에서 설명된 폴리펩티드를 포함한다.
- [0214] 본 발명은 또한, MBP 또는 MBD 폴리펩티드의 단편, 상기 단편은 말토오스 결합 활성을 실제로 유지하고; 또는 최소한 2개의 말토오스 결합 폴리펩티드, 또는 이들의 단편을 단위체 단위 (가령, 2개 또는 그 이상의 MBD 폴리펩티드)로서 포함하는 말토오스 결합 폴리펩티드, 또는 이들의 단편의 다합체 (가령, MBD의 다합체)를 포함하는 융합 단백질을 예기한다.
- [0215] MBP와 MBD 및 관련된 기술의 일반적인 논의를 위해, 가령, Kapust et al. (1999) Protein Sci 8(8):1668-74를 참조한다.
- [0216] Fc 융합 단백질.
- [0217] 본 발명은 또한, Fc 폴리펩티드 또는 이의 단편, 그리고 본원에서 설명된 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 서열 (가령, 변형된 인간 GDF15 분자, GDF15 돌연변이단백질, 그리고 변형된 GDF15 돌연변이단백질)을 포함하는 융합 단백질을 예기한다. 본원에서 설명되거나 또는 당분야에서 공지된 임의의 Fc 폴리펩티드 서열이 본 발명의 융합 단백질의 성분일 수 있다. 융합 단백질의 성분은 링커, 예를 들면, 본원에서 설명된 링커를 통해 임의선택적으로 공유 결합될 수 있다. 본 발명의 구체예 중에서 일부에서, 융합 단백질은 N 말단 모이어티로서 Fc 폴리펩티드 서열 및 C 말단 모이어티로서 본원에서 설명된 폴리펩티드를 포함한다.
- [0218] 본 발명은 또한, Fc 폴리펩티드 융합 상대, 그리고 이들을 포함하는 융합 단백질을 예기하고, 여기서 Fc 폴리펩티드 융합 상대는 하전된 Fc 쌍의 한쪽 상대이도록 변형된다. "하전된 Fc 쌍의 상대"는 (i) 하전된 쌍 돌연변이를 포함하고 "음성으로 하전된" Fc 서열 (힌지 영역을 임의선택적으로 결여) 또는 (ii) 하전된 쌍 돌연변이를 포함하고 "양성으로 하전된" Fc 서열 (힌지 영역을 임의선택적으로 결여)을 지칭한다. "양성으로 하전된" 및 "음성으로 하전된"은 본원에서, Fc 서열 내에 전하 쌍 돌연변이의 성격을 설명하는 참고의 용이함을 위해 이용되고, 그리고 전체 서열 또는 구조체가 반드시 양성 또는 음성 전하를 갖는다는 것을 지시하지는 않는다. 본 발명의 폴리펩티드 구조체 (가령, GDF15 돌연변이단백질, 변형된 GDF15 돌연변이단백질)에서 이용에 적합한 하전된 Fc 아미노산 서열은 예로서 WO 2013/113008에서 설명된다.
- [0219] 양성으로 하전된 Fc ("Fc(+)")의 실례는 힌지 영역을 결여하는 Fc 서열의 아스파르트산에서 리신으로 돌연변이 (E356K) 및 글루타민산에서 리신으로 돌연변이 (D399K)를 포함하는 Fc를 포함한다. 음성으로 하전된 Fc ("Fc(-)")의 실례는 힌지 영역을 결여하는 Fc 서열에서 2개의 리신에서 아스파르트산염으로 돌연변이 (K392D, K409D)를 포함하는 Fc를 포함한다. C 말단 리신 (K477) 또한, 임의선택적으로 결실될 수 있다. Fc(+) 폴리펩티드 융합 단백질 (가령, Fc(+)GDF 돌연변이단백질 융합 단백질) 및 Fc(-) 폴리펩티드 융합 단백질 (가령, Fc(-)GDF 돌연변이단백질 융합 단백질) GDF 돌연변이단백질이 함께 배양될 때, 아스파르트산염 잔기는 정전력을 통해 리신 잔기와 연관되고, 이들 폴리펩티드 융합 단백질의 Fc(+)와 Fc(-) 서열 사이에 Fc 이형이합체의 형성을 용이하게 한다.
- [0220] 본 발명은 또한, "헤미 (hemi)" 또는 "헤미Fc" 구조체로 명명된 구조체를 예기하는데, 이들은 첫 번째 Fc 서열의 N 말단을 두 번째 Fc 서열의 C 말단에 연결하는 링커에 의해 협력하여 결합된 2개의 Fc 서열을 포함한다. 일

부 구체예에서, 단위체는 GDF15 서열의 N 말단을 첫 번째 Fc 서열의 C 말단에 연결하는 첫 번째 링커에 의해 첫 번째 Fc 서열에 연결된 폴리펩티드 (가령, 성숙 변형된 GDF15 또는 돌연변이단백질 GDF15) 서열을 포함하고, 여기서 첫 번째 Fc 서열은 첫 번째 Fc 서열의 N 말단을 두 번째 Fc 서열의 C 말단에 연결하는 두 번째 링커에 의해 두 번째 Fc 서열에 연결된다. 첫 번째와 두 번째 Fc 서열은 또한, Fc 힌지 영역에 의해 연관된다. 2개의 이런 단위체는 연관하여 이합체를 형성하고, 여기서 이들 단위체는 2개의 폴리펩티드 서열 사이에 사슬간 이황화 결합을 거쳐 연결된다. 본 발명의 GDF 돌연변이단백질에서 이용에 적합한 헤미Fc 폴리펩티드의 실례를 위해, WO 2013/113008을 참조한다.

- [0221] 본 발명은 또한, 하전된 Fc 쌍의 상대를 비롯한 Fc 폴리펩티드, 또는 이들의 단편의 다합체 (가령, Fc의 다합체)를 갖는 융합 단백질을 예기한다.
- [0222] 다른 분자와의 접합: 접합을 위한 추가 적합한 성분과 분자는 예로서, 티로글로불린; 파상풍 변성독소; 디프테리아 변성독소; 폴리아미노산, 예를 들면, 폴리(D-리신:D-글루타민산); 로타바이러스의 VP6 폴리펩티드; 인플루엔자 바이러스 적혈구응집소, 인플루엔자 바이러스 핵단백질; 키홀 림펫 헤모시아닌 (KLH); 그리고 B형 간염 바이러스 코어 단백질과 표면 항원; 또는 전술한 것들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0223] 따라서, 본 발명은 폴리펩티드 서열의 N- 및/또는 C 말단에서 하나 또는 그 이상의 추가 성분 또는 분자, 예를 들면, 다른 단백질 (가령, 주체 단백질에 이중성인 아미노산 서열을 갖는 단백질), 또는 담체 분자의 접합을 예기한다. 따라서, 예시적인 폴리펩티드 서열은 다른 성분 또는 분자와의 접합체로서 제공될 수 있다.
- [0224] 접합체 변형은 추가 또는 상보성 기능을 갖는 활성 또는 두 번째 분자의 활성을 유지하는 폴리펩티드 서열을 유발할 수 있다. 가령, 폴리펩티드 서열은 예로서, 용해도, 보관, 생체내 또는 선반 반감기 또는 안정성, 면역원성에서 감소, 생체내에서 지체된 또는 제어된 방출, 기타 등등을 조장하기 위해 분자에 접합될 수 있다. 다른 기능 또는 활성은 접합되지 않은 폴리펩티드 서열에 비하여 독성을 감소시키는 접합체, 접합되지 않은 폴리펩티드 서열보다 더욱 효율적으로 일종의 세포 또는 장기를 표적으로 하는 접합체, 또는 본원에서 진술된 바와 같은 장애 또는 질환 (가령, 당뇨병)과 연관된 원인 또는 효과에 더욱 대항하는 약물을 포함한다.
- [0225] 폴리펩티드는 크고, 천천히 물질대사되는 거대분자, 예를 들면, 단백질; 다당류, 예를 들면, 세파로오스, 아가로오스, 셀룰로오스, 셀룰로오스 비드; 중합성 아미노산, 예를 들면, 폴리글루타민산, 폴리로신; 아미노산 공중합체; 비활성화된 바이러스 입자; 비활성화된 세균 독소, 예를 들면, 디프테리아, 파상풍, 콜레라, 류코톡신 분자로부터 변성독소; 비활성화된 세균; 그리고 수지상 세포에 또한 접합될 수 있다. 이런 접합된 형태는 원하는 경우에, 본 발명의 폴리펩티드에 대항하는 항체를 생산하는데 이용될 수 있다.
- [0226] 접합을 위한 추가 후보 성분과 분자는 단리 또는 정제에 적합한 것들을 포함한다. 특정 무제한적 실례는 결합 분자, 예를 들면, 비오틴 (비오틴-아비딘 특이적 결합 쌍), 항체, 수용체, 리간드, 렉틴, 또는 예로서, 플라스틱 또는 폴리스티렌 비드, 평판 또는 비드, 자성 비드, 검사 스트립과 막을 비롯한 고체 지지체를 포함하는 분자를 포함한다.
- [0227] 정제 방법, 예를 들면, 양이온 교환 크로마토그래피는 전하 차이에 의해 접합체를 분리하는데 이용될 수 있는데, 이것은 접합체를 그들의 다양한 분자량으로 효과적으로 분리한다. 가령, 양이온 교환 칼럼이 적해되고, 그리고 이후, ~20 mM 아세트산나트륨, pH ~4로 세척되고, 그리고 이후, 약 3 내지 5.5의 pH, 예를 들면, pH ~4.5에서 완충된 선형 (0 M에서 0.5 M으로) NaCl 구배로 용리될 수 있다. 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 획득된 분획물의 함량은 전통적인 방법, 예를 들면, 질량 분광법, SDS-PAGE, 또는 분자량에 의해 분자 실체를 분리하기 위한 다른 공지된 방법을 이용하여 분자량에 의해 확인될 수 있다.
- [0228] Fc-융합 분자: 일정한 구체예에서, 본 발명의 폴리펩티드 서열의 아미노- 또는 카르복실 말단은 면역글로불린 Fc 영역 (가령, 인간 Fc)과 융합되어 융합 접합체 (또는 융합 분자)를 형성할 수 있다. Fc 융합 접합체는 생물 약제의 전신 반감기를 증가시키는 것으로 나타났고, 그리고 따라서 생물약제학적 산물은 덜 빈번한 투여를 필요로 할 수 있다.
- [0229] Fc는 혈관에 정렬하는 내피 세포에서 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 결합하고, 그리고 결합 시에, Fc 융합 분자는 분해로부터 보호되고 순환 내로 재방출되어, 순환 내에 더욱 길게 유지된다. 이러한 Fc 결합은 내인성 IgG가 긴 혈장 반감기를 유지하는 기전인 것으로 생각된다. 더욱 최근 Fc-융합 기술은 생물약제의 단일 사본을 항체의 Fc 영역에 연결하여 전통적인 Fc-융합 접합체와 비교하여 생물약제의 약동학적 성질과 약력학적 성질을 최적화한다.
- [0230] 다른 변형: 본 발명은 하나 또는 그 이상의 성질을 향상시키기 위한 이들 폴리펩티드의 현재 공지된 또는 장래

개발될 다른 변형의 이용을 예기한다. 본 발명의 폴리펩티드의 순환 반감기를 연장하거나, 안정성을 증가시키거나, 청소를 감소시키거나, 또는 면역원성 또는 알레르기항원성을 변화시키기 위한 이와 같은 한 가지 방법은 헤실레이션에 의한 폴리펩티드 서열의 변형을 수반하는데, 이것은 분자의 특징을 변경하기 위해 다른 분자에 연결된 히드록시에틸 전분 유도체를 활용한다. 헤실레이션의 다양한 양상은 예로서, U.S. 특허 출원 번호 2007/0134197과 2006/0258607에서 설명된다.

[0231] 본 발명은 또한, SUMO를 융합 태그로서 포함하는 융합 분자를 예기한다 (LifeSensors, Inc.; Malvern, PA). SUMO에 본원에서 설명된 폴리펩티드의 융합은 발현의 증강, 용해도에서 향상, 및/또는 정제 방법의 개발에서 도움을 비롯한 여러 유익한 효과를 폴리펩티드에 전달할 수 있다. SUMO 프로테아제는 SUMO의 삼차 구조를 인식하고 SUMO의 C 말단에서 융합 단백질을 개열하고, 따라서 원하는 N 말단 아미노산을 갖는 본원에서 설명된 폴리펩티드를 방출한다.

[0232] 링커: 링커와 이들의 용도는 앞서 설명되었다. 본 발명의 폴리펩티드 서열을 변경하는데 이용된 전술한 성분과 분자 중에서 한 가지는 링커를 거쳐 임의선택적으로 접합될 수 있다. 적합한 링커는 "유연한 링커"를 포함하는데, 이들은 일반적으로, 변형된 폴리펩티드 서열 및 연결된 성분과 분자 사이에 일부 움직임을 허용할 만큼 충분한 길이를 갖는다. 링커 분자는 일반적으로 약 6-50개 원자 길이이다. 링커 분자는 또한, 예로서, 아릴 아세틸렌, 2-10개 단위체 단위를 내포하는 에틸렌 글리콜 소중합체, 디아민, 이염기산, 아미노산, 또는 이들의 조합일 수 있다. 적합한 링커는 쉽게 선별될 수 있고, 그리고 임의의 적절한 길이, 예를 들면, 1 (가령, Gly), 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50개 아미노산 (가령, Gly)을 가질 수 있다.

[0233] 예시적인 유연한 링커는 글리신 중합체 (G)_n, 글리신-세린 중합체 (가령, (GS)_n, GSGGS_n 및 GGGGS_n, 여기서 n은 최소한 1의 정수이다), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 그리고 다른 유연한 링커를 포함한다. 글리신과 글리신-세린 중합체는 상대적으로 비구조화되고, 그리고 이런 이유로, 성분 사이에 중성 맞출로서 역할할 수 있다. 예시적인 유연한 링커에는 GSGG (서열 번호:226), GSGGG (서열 번호:227), GSGSG (서열 번호:228), GSGGG (서열 번호:229), GGGSG (서열 번호:230), 그리고 GSSSG (서열 번호:231)가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0234] 일부 경우에, 링커는 개열가능한 링커, 예를 들면, 효소적으로 개열가능한 링커이다. 다른 경우에, 링커는 비개열가능한 링커, 예를 들면, 생체내에서 정상적인 생리학적 조건 하에 효소적으로 개열되지 않는 링커이다.

[0235] 적합한 링커의 실례는 예로서, (GGGG)_n (여기서 n은 1 내지 약 10의 정수이다) (서열 번호:187) (가령, n = 3); GGGSGGGIEGR (서열 번호:188); GGGGG (서열 번호:189); (EGGG)_n (여기서 n은 1 내지 약 10의 정수이다) (서열 번호:190) (가령, n = 3)을 포함한다.

[0236] 가령, 단백분해적으로 개열가능한 교차연결제는 매트릭스 금속단백질가수분해효소 개열 부위, 예를 들면, 콜라겐분해효소-1, -2와 -3 (MMP-1, -8과 -13), 젤라틴분해효소 A와 B (MMP-2와 -9), 스트로멜리신 1, 2와 3 (MMP-3, -10과 -11), 마트릴리신 (MMP-7), 그리고 막 금속단백질가수분해효소 (MT1-MMP와 MT2-MMP)에서 선택되는 MMP에 대한 개열 부위일 수 있다. 가령, MMP-9의 개열 서열은 Pro-X-X-Hy (여기서, X는 임의적인 잔기; Hy, 소수성 잔기) (서열 번호:191), 예를 들면, Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr) (서열 번호:192), 예를 들면, Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (서열 번호:193) 또는 Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (서열 번호:194)이다. 프로테아제 개열 부위의 다른 실례는 플라스미노겐 활성화제 개열 부위, 예를 들면, uPA 또는 조직 플라스미노겐 활성화제 (tPA) 개열 부위이다. uPA와 tPA의 개열 서열의 특정한 실례는 Val-Gly-Arg를 포함하는 서열을 포함한다. 다른 실례는 트롬빈 개열 부위, 예를 들면, CGLVPAGSGP (서열 번호:195)이다. 프로테아제 개열 부위를 포함하는 추가 적합한 링커는 다음의 아미노산 서열 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는 링커를 포함한다: 1) 카텝신 B에 의해 개열된 SLLKSRMVPNFN (서열 번호:196) 또는 SLLIARRMPNFN (서열 번호:197); 앵스타인-바르 바이러스 프로테아제에 의해 개열된 SKLVQASASGVN (서열 번호:198) 또는 SSVLKASDAPDN (서열 번호:199); MMP-3 (스트로멜리신)에 의해 개열된 RPKPQQFFGLMN (서열 번호:200); MMP-7 (마트릴리신)에 의해 개열된 SLRPLALWRSFN (서열 번호:201); MMP-9에 의해 개열된 SPQGIAGQRNFN (서열 번호:202); 서몰리신-유사 MMP에 의해 개열된 DVDERDVRGFASFL (서열 번호:203); 매트릭스 금속단백질가수분해효소 2(MMP-2)에 의해 개열된 SLPLGLWAPNFN (서열 번호:204); 카텝신 L에 의해 개열된 SLLIFRSWANFN (서열 번호:205); 카텝신 D에 의해 개열된 SGVVIATVIVIT (서열 번호:206); 매트릭스 금속단백질가수분해효소 1(MMP-1)에 의해 개열된 SLGPQGIWQQFN (서열 번호:207); 우로키나아제-유형 플라스미노겐 활성화제에 의해 개열된 KKSPGRVVGGSV (서열 번호:208); 막 유형 1 매트릭스 금속단백질가수분해효소 (MT-MMP)에 의해 개열된 PQGLLGAPGILG (서열 번호:209); 스트로멜리신 3 (또는 MMP-11), 서몰리신, 섬유모세포

콜라겐분해효소와 스트로멜리신-1에 의해 개열된 HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (서열 번호:210); 매트릭스 금속단백질가수분해효소 13 (콜라겐분해효소-3)에 의해 개열된 GPQGLAGQRGIV (서열 번호:211); 조직-유형 플라즈미노겐 활성화제(tPA)에 의해 개열된 GGSQQRGRKALE (서열 번호:212); 인간 전립선-특이적 항원에 의해 개열된 SLSALLSSDIFN (서열 번호:213); 칼리크레인 (hk3)에 의해 개열된 SLPRFKIIGGFN (서열 번호:214); 호중구 엘라스타아제에 의해 개열된 SLLGIAVPGNFN (서열 번호:215); 그리고 칼페인 (칼슘 활성화된 중성 프로테아제)에 의해 개열된 FFKNIVTPRTPP (서열 번호:216).

[0237] **폴리펩티드의 생산 방법**

[0238] 본 발명의 폴리펩티드는 재조합 방법과 비재조합 방법 (가령, 화학적 합성)을 비롯한 임의의 적절한 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0239] A. 화학적 합성

[0240] 폴리펩티드가 화학적으로 합성되는 경우에, 합성은 액체상 또는 고체상을 통해 진행할 수 있다. 고체상 펩티드 합성 (SPPS)은 비정상적인 아미노산 및/또는 펩티드/단백질 중추 변형의 합입을 허용한다. 다양한 형태의 SPPS, 예를 들면, Fmoc와 Boc가 본 발명의 폴리펩티드를 합성하는데 가용하다. 화학적 합성의 상세는 당분야에서 공지된다 (가령, Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med. Chem. 6:3-10; 그리고 Camarero J.A. et al., 2005 Protein Pept Lett. 12:723-8).

[0241] 고체상 펩티드 합성은 차후에 설명된 바와 같이 수행될 수 있다. α 기능 (Na) 및 임의의 반응성 측쇄는 산-불안정 또는 염기-불안정 기로 보호된다. 이들 보호 기는 아마이드 결합을 연결하기 위한 조건 하에 안정되지만, 형성된 펩티드 사슬을 손상시키지 않으면서 쉽게 개열될 수 있다. α -아미노 기능에 대한 적합한 보호 기에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다: t-부틸옥시카르보닐 (Boc), 벤질옥시카르보닐 (Z), o-클로르벤질옥시카르보닐, 비-페닐이소프로필옥시카르보닐, tert-아릴옥시카르보닐 (Amoc), α , α -디메틸-3,5-디메톡시-벤질옥시카르보닐, o-니트로술폰, 2-시아노-t-부톡시-카르보닐, 9-플루오레닐메톡시카르보닐 (Fmoc), 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소시클로헥스-1-일리덴) 에틸 (Dde), 기타 등등.

[0242] 적합한 측쇄 보호 기에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다: 아세틸, 알릴 (All), 알릴옥시카르보닐 (Alloc), 벤질 (Bzl), 벤질옥시카르보닐 (Z), t-부틸옥시카르보닐 (Boc), 벤질옥시메틸 (Bom), o-브로모벤질옥시카르보닐, t-부틸 (tBu), t-부틸디메틸실릴, 2-클로로벤질, 2-클로로벤질옥시카르보닐 (2-CIZ), 2,6-디클로로벤질, 시클로헥실, 시클로펜틸, 1-(4,4-디메틸-2,6-디옥소시클로헥스-1-일리덴) 에틸 (Dde), 이소프로필, 4-메톡시-2,3,6-트리메틸벤질술폰 (Mtr), 2,3,5,7,8-펜타메틸크로만-6-술폰 (Pmc), 피발릴, 테트라히드로피란-2-일, 토실 (Tos), 2,4,6-트리메톡시벤질, 트리메틸실릴 및 트리틸 (Trt).

[0243] 고체상 합성에서, C 말단 아미노산은 적합한 지지체 물질에 연계된다. 적합한 지지체 물질은 합성 과정의 단계별 압축과 개열 반응을 위한 시약과 반응 조건에 대하여 비활성이고, 그리고 이용되는 반응 매체에서 용해되지 않는 것들이다. 상업적으로-가용한 지지체 물질의 실례는 반응성 기 및/또는 폴리에틸렌 글리콜로 변형된 스티렌/디비닐벤젠 공중합체; 클로로메틸화된 스티렌/디비닐벤젠 공중합체; 히드록시메틸화된 또는 아미노메틸화된 스티렌/디비닐벤젠 공중합체, 기타 등등을 포함한다. 4-벤질옥시벤질-알코올 (Wang-앵커) 또는 2-클로로트리틸 염화물로 유도체화된 폴리스티렌 (1%)-디비닐벤젠 또는 TentaGel®은 펩티드산을 제조하는 것으로 의도되는 경우에 이용될 수 있다. 펩티드 아마이드의 경우에, 5-(4'-아미노메틸)-3',5'-디메톡시페녹시) 발레르산 (PAL-앵커) 또는 p-(2,4-디메톡시페닐-아미노 메틸)-페녹시 기 (Rink 아마이드 앵커)로 유도체화된 폴리스티렌 (1%) 디비닐벤젠 또는 TentaGel®이 이용될 수 있다.

[0244] 중합성 지지체에 연쇄는 실온 또는 상승된 온도에서 (가령, 40 °C와 60 °C 사이에) 에탄올, 아세트니트릴, N,N-디메틸포름아미드 (DMF), 디클로로메탄, 테트라히드로푸란, N-메틸피롤리돈 또는 유사한 용매에서 활성화 시약의 첨가로, 그리고 예로서, 2 내지 72 시간의 반응 시간으로 C 말단 Fmoc-보호된 아미노산을 지지체 물질과 반응시킴으로써 달성될 수 있다.

[0245] PAL, Wang 또는 Rink 앵커에 Na-보호된 아미노산 (가령, Fmoc 아미노산)의 커플링은 예로서, 2 내지 72 시간의 반응 시간 (가령, 용매, 예를 들면, 디메틸포름아미드, N-메틸피롤리돈 또는 디클로로메탄, 예를 들면, 디메틸포름아미드에서 약 10 °C와 50 °C 사이에 온도, 예를 들면, 25 °C에서 1.5 내지 3-배 과잉, 예를 들면, 2-배 과잉의 아미노산과 커플링 시약에서 3 시간)에서, 1-히드록시벤조트리아졸 또는 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸의 존재에서 또는 부재에서 커플링 시약, 예를 들면, N,N'-디시클로헥실카르보디이미드 (DCC), N,N'-디이소프로필카르보디이미드 (DIC) 또는 다른 카르보디이미드, 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 테트라

플루오르보산염 (TBTU) 또는 다른 우로늄 염, o-아실-요소, 벤조트리아졸-1-일-트리스-피콜리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트 (PyBOP) 또는 다른 포스포늄 염, N-히드록시숙신이미드, 다른 N-히드록시이미드 또는 옥심의 도움으로, 예를 들면, 염기, 예를 들면, 예로서, 디이소프로필에틸아민 (DIEA), 트리에틸아민 또는 N-메틸모르폴린, 예를 들면, 디이소프로필에틸아민의 첨가와 함께 또는 첨가 없이, HOBt 첨가된 TBTU의 도움으로 수행될 수 있다.

[0246] 커플링 시약 대신에, 앞서 설명된 조건 하에 활성 에스테르 (가령, 펜타플루오로페닐, p-니트로페닐 등), Na-Fmoc-아미노산의 대칭적 무수물, 이의 산 염화물 또는 산 플루오르화물을 이용하는 것이 또한 가능하다.

[0247] Na-보호된 아미노산 (가령, Fmoc 아미노산)은 10 내지 120 분, 예를 들면, 20 분의 반응 시간에서 DIEA의 첨가로 디클로로메탄에서 2-클로로트리틸 수지에 연계될 수 있지만, 이러한 용매와 이러한 염기의 이용에 한정되지 않는다.

[0248] 보호된 아미노산의 연속적인 커플링은 전형적으로 자동화된 펩티드 합성장치에서, 펩티드 합성에서 전통적인 방법에 따라 수행될 수 있다. 가령, 5 내지 20 분 동안 디메틸포름아미드에서 피페리딘 (10% 내지 50%)으로 처리, 예를 들면, DMF에서 50% 피페리딘으로 2 x 2 분 및 DMF에서 20% 피페리딘으로 1 x 15 분 처리에 의해 고체상 상에서 연계된 아미노산의 Na-Fmoc 보호 기의 개열 후에, 3 내지 10-배 과잉, 예를 들면, 10-배 과잉에서 다음 보호된 아미노산이 비활성, 비수성, 극성 용매, 예를 들면, 디클로로메탄, DMF 또는 이들 둘의 혼합물에서, 그리고 약 10 °C와 50 °C 사이에 온도, 예를 들면, 25 °C에서 이전 아미노산에 연계된다. 첫 번째 Na-Fmoc 아미노산을 PAL, Wang 또는 Rink 앵커에 연계하기 위한 전술한 시약은 커플링 시약으로서 적합하다. 보호된 아미노산의 활성 에스테르, 또는 이들의 염화물 또는 플루오르화물 또는 대칭적 무수물 또한 대안으로서 이용될 수 있다.

[0249] 고체상 합성의 종결점에서, 펩티드는 측쇄 보호 기를 동시에 개열하면서, 지지체 물질로부터 개열된다. 개열은 0.5 내지 3 시간, 예를 들면, 2 시간 이내에, 5%-20% V/V의 스캐빈저, 예를 들면, 디메틸설파이드, 에틸메틸설파이드, 티오아니솔, 티오크레졸, m-크레졸, 아니솔 에탄디티올, 페놀 또는 물, 예를 들면, 15% v/v 디메틸설파이드/에탄디티올/m-크레졸 1:1:1 첨가된 트리플루오르아세트산 또는 다른 강한 산성 매체로 수행될 수 있다. 완전히 보호된 측쇄를 갖는 펩티드는 2-클로로트리틸 앵커를 빙초산/트리플루오로에탄올/디클로로메탄 2:2:6으로 개열함으로써 획득된다. 보호된 펩티드는 실리카 겔에서 크로마토그래피에 의해 정제될 수 있다. 만약 펩티드가 Wang 앵커를 거쳐 고체상에 연결되고, 그리고 이것이 C 말단 알킬아미드화를 갖는 펩티드를 획득하는 것으로 의도되면, 개열은 알킬아민 또는 플루오로알킬아민으로 아미노분해에 의해 수행될 수 있다. 아미노분해는 약 -10 °C와 50 °C 사이에 온도 (가령, 약 25 °C)에서, 그리고 약 12와 24 시간 사이에 (가령, 약 18 시간) 반응 시간에서 수행된다. 이에 더하여, 펩티드는 예로서, 메탄올로 제에스테르화에 의해 지지체로부터 개열될 수 있다.

[0250] 획득되는 산성 용액은 펩티드를 침전시키고, 따라서 에테르 내에 남아있는 스캐빈저와 개열된 보호 기를 분리하기 위해, 3 내지 20-배 양의 차가운 에테르 또는 n-헥산, 예를 들면, 10-배 과잉의 디에틸 에테르와 혼합될 수 있다. 추가 정제는 펩티드를 빙초산으로부터 여러 번 재침전시킴으로써 수행될 수 있다. 획득되는 침전물은 물 또는 tert-부탄올 또는 이들 2가지 용매의 혼합물, 예를 들면, tert-부탄올/물의 1:1 혼합물에서 흡수되고, 그리고 동결-건조될 수 있다.

[0251] 획득된 펩티드는 아세트산염 형태에서 약한 염기성 수지 위에서 이온 교환; 비유도체화된 폴리스티렌/디비닐벤젠 공중합체 (가령, Amberlite® XAD)에서 소수성 흡착 크로마토그래피; 실리카 겔에서 흡착 크로마토그래피; 예로서, 카르복시메틸 셀룰로오스에서 이온 교환 크로마토그래피; 예로서, Sephadex® G-25에서 분배 크로마토그래피; 역류 분배 크로마토그래피; 또는 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC), 예를 들면, 옥틸 또는 옥타데실실릴실리카 (ODS) 상에서 역상 HPLC를 비롯한 다양한 크로마토그래피 방법에 의해 정제될 수 있다.

[0252] B. 재조합 생산

[0253] 폴리펩티드가 재조합 기술을 이용하여 생산되는 경우에, 폴리펩티드는 임의의 적절한 구조체 및 임의의 적절한 숙주 세포를 이용하여, 세포내 단백질로서 또는 분비된 단백질로서 생산될 수 있고, 상기 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 세포, 예를 들면, 각각, 세균 (가령, 대장균 (E. coli)) 또는 효모 숙주 세포일 수 있다. 숙주 세포로서 이용될 수 있는 진핵 세포의 다른 실례는 곤충 세포, 포유류 세포, 및/또는 식물 세포를 포함한다. 포유류 숙주 세포가 이용되는 경우에, 이들은 인간 세포 (가령, HeLa, 293, H9와 Jurkat 세포); 생쥐 세포 (가령, NIH3T3, L 세포, 그리고 C127 세포); 영양류 세포 (가령, Cos 1, Cos 7과 CV1)와 햄스터 세포 (가령, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포)를 포함할 수 있다.

- [0254] 폴리펩티드의 발현에 적합한 다양한 숙주-벡터 시스템이 당분야에서 공지된 표준 절차에 따라 이용될 수 있다. 가령, Sambrook et al., 1989 Current Protocols in Molecular Biology Cold Spring Harbor Press, New York; 그리고 Ausubel et al., 1995 Current Protocols in Molecular Biology, Eds. Wiley and Sons를 참조한다. 숙주 세포 내로 유전 물질의 도입을 위한 방법은 예로서, 형질전환, 전기천공, 접합, 인산칼슘 방법 등을 포함한다. 전달을 위한 방법은 도입된 폴리펩티드-인코딩 핵산의 안정된 발현을 제공하기 위해 선별될 수 있다. 폴리펩티드-인코딩 핵산은 유전가능 에피솜 원소 (가령, 플라스미드)로서 제공될 수 있거나 또는 유전체적으로 통합될 수 있다. 관심되는 폴리펩티드의 생산에서 이용을 위한 다양한 적절한 벡터는 상업적으로 가용하다.
- [0255] 벡터는 숙주 세포에서 염색체의 유지를 제공할 수 있거나 또는 숙주 세포 유전체 내로 통합을 제공할 수 있다. 발현 벡터는 전사와 번역 조절 서열을 제공하고, 그리고 유도성 또는 구조성 발현을 제공할 수 있고, 여기서 코딩 영역은 전사 개시 영역, 그리고 전사와 번역 종결 영역의 전사 제어 하에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로, 전사와 번역 조절 서열에는 프로모터 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 시작과 종결 서열, 번역 시작과 종결 서열, 그리고 인핸서 또는 활성체 서열이 포함될 수 있지만 이들에 한정되지 않는다. 프로모터는 구조성 또는 유도성일 수 있고, 그리고 강한 구조성 프로모터 (가령, T7)일 수 있다.
- [0256] 발현 구조체는 일반적으로, 관심되는 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기 위해 프로모터 서열에 근접하게 위치한 편의한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주에서 작동하는 선별가능 마커는 벡터를 내포하는 세포의 선별을 용이하게 하기 위해 존재할 수 있다. 게다가, 발현 구조체는 추가 원소를 포함할 수 있다. 가령, 발현 벡터는 1개 또는 2개의 복제 시스템을 가질 수 있고, 따라서 이것이 생물체에서, 예를 들면, 발현을 위한 포유류 또는 곤충 세포에서 및 클로닝과 증폭을 위한 원핵 숙주에서 유지될 수 있도록 한다. 이에 더하여, 발현 구조체는 형질전환된 숙주 세포의 선별을 허용하는 선별가능 마커 유전자를 내포할 수 있다. 선별가능 유전자는 당분야에서 널리 공지되고 이용된 숙주 세포에 따라 변할 것이다.
- [0257] 단백질의 단리와 정제는 당분야에서 공지된 방법에 따라 달성될 수 있다. 가령, 단백질은 상기 단백질을 구조성으로 및/또는 유도 시에 발현하도록 유전적으로 변형된 세포의 용해물로부터, 또는 합성 반응 혼합물로부터 면역친화성 정제에 의해 단리될 수 있는데, 이것은 일반적으로, 표본을 항단백질 항체와 접촉시키고, 비특이적으로 결합된 물질을 제거하기 위해 세척하고, 그리고 특이적으로 결합된 단백질을 용리하는 것을 수반한다. 단리된 단백질은 투석 및 단백질 정제 방법에서 정상적으로 이용된 다른 방법에 의해 더욱 정제될 수 있다. 한 구체예에서, 단백질은 금속 킬레이트 크로마토그래피 방법을 이용하여 단리될 수 있다. 단백질은 단리를 용이하게 하는 변형을 내포할 수 있다.
- [0258] 이들 폴리펩티드는 실제적으로 순수한 또는 단리된 형태 (가령, 다른 폴리펩티드가 없는)에서 제조될 수 있다. 이들 폴리펩티드는 존재할 수 있는 다른 성분 (가령, 다른 폴리펩티드 또는 다른 숙주 세포 성분)에 비하여 폴리펩티드가 농축되는 조성물에서 존재할 수 있다. 가령, 정제된 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드가 다른 발현된 단백질이 실제적으로 없는, 예를 들면, 조성물의 90% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 20% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 또는 1% 이하가 다른 발현된 단백질로 구성되는 조성물에서 존재하도록 제공될 수 있다.
- [0259] **항체**
- [0260] 본 발명은 GDF15 폴리펩티드, 예를 들면, 본 발명의 GDF15 돌연변이단백질에 특이적으로 결합하는, 단리된 항체를 비롯한 항체를 제공한다. 용어 "항체"는 무손상 단일클론 항체, 다중클론 항체, 최소한 2개의 무손상 항체로부터 형성된 다중특이적 항체 (가령, 이중특이적 항체), 그리고 Fab와 F(ab')₂를 비롯한 항체 결합 단편을 포함하고, 단서로서 이들은 원하는 생물학적 활성을 전시한다. 기본 전체 항체 구조적 단위는 사합체를 포함하고, 그리고 각 사합체는 폴리펩티드 사슬의 2개의 동일한 쌍으로 구성되고, 각 쌍은 하나의 "가벼운" 사슬 (약 25 kDa) 및 하나의 "무거운" 사슬 (약 50-70 kDa)을 갖는다. 각 사슬의 아미노 말단 부분은 항원 인식을 일차적으로 책임지는 약 100 내지 110개 또는 그 이상 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 대조적으로, 각 사슬의 카르복시 말단 부분은 작동체 기능을 일차적으로 책임지는 불변 영역을 규정한다. 인간 경쇄는 카파와 람다로서 분류되고, 반면 인간 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로서 분류되고, 그리고 항체의 아이소타입을 각각, IgM, IgD, IgG, IgA, 그리고 IgE로서 규정한다. 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 항체의 효소적 또는 화학적 개열에 의해 생산된다. 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 그리고 단일 사슬 항체를 포함한다.
- [0261] 각 중쇄는 한쪽 단부에서 가변 도메인 (VH), 그 이후에 다수의 불변 도메인을 갖는다. 각 경쇄는 한쪽 단부에서

가변 도메인 (VL) 및 다른 단부에서 불변 도메인을 갖는다; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 첫 번째 불변 도메인과 함께 정렬되고, 그리고 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 함께 정렬된다. 경쇄와 중쇄 내에서, 가변과 불변 영역은 약 12개 또는 그 이상 아미노산의 "J" 영역에 의해 결합되고, 중쇄는 약 10개 또는 그 이상 아미노산의 "D" 영역을 또한 포함한다. 이들 항체 사슬 모두 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로 또한 불리는 3개의 추가변 영역에 의해 결합된 상대적으로 보존된 프레임워크 영역 (FR)의 동일한 일반적인 구조를 전시한다. 각 쌍의 2개의 사슬로부터 이들 CDR은 프레임워크 영역에 의해 정렬되고, 특정한 에피토프에 결합을 실시가능하게 한다. N 말단으로부터 C 말단으로, 경쇄와 중쇄 둘 모두 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3과 FR4를 포함한다.

[0262] 무손상 항체는 2개의 결합 부위를 갖고, 그리고 이중기능성 또는 이중특이적 항체를 제외하고, 이들 2개의 결합 부위는 동일하다. 이중특이적 또는 이중기능성 항체는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 비롯한 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0263] 앞서 진술된 바와 같이, 결합 단편은 무손상 항체의 효소적 또는 화학적 개열에 의해 생산될 수 있다. 효소 파괴인으로 항체의 소화는 "Fab" 단편, 그리고 항원 결합 활성을 갖지 않는 "Fc" 단편으로서 또한 알려져 있는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 유발한다. 효소 펩신으로 항체의 소화는 항체 분자의 두 팔이 연결된 상태로 남아있고 2-항원 결합 부위를 포함하는 $F(ab')_2$ 단편을 유발한다. $F(ab')_2$ 단편은 항원을 교차연결하는 능력을 갖는다.

[0264] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "Fab"는 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 CH1 도메인을 포함하는 항체의 단편을 지칭한다.

[0265] 본원에서 이용될 때, 용어 "Fv"는 항원 인식과 항원 결합 부위 둘 모두를 유지하는 항체의 최소 단편을 지칭한다. 2-사슬 Fv 종류에서, 이러한 영역은 비공유 연관에서 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 도메인의 이합체를 포함한다. 단일 사슬 Fv 종류에서, 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 도메인은 이들 경쇄와 중쇄가 2-사슬 Fv 종류에서와 유사한 "이합체성" 구조에서 연관할 수 있도록, 유연한 펩티드 링커에 의해 공유 연결될 수 있다. 이러한 형상에서 각 가변 도메인의 3개의 CDR은 상호작용하여 VH-VL 이합체의 표면 상에서 항원 결합 부위를 규정한다. 이들 6개의 CDR이 항원 결합 특이성을 항체에 집합적으로 부여하긴 하지만, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)이 항원을 인식하고 여기에 결합하는 능력을 갖는다.

[0266] 본원에서 이용될 때, 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 특정한 리간드와 접촉하고 이의 특이성을 결정하는 면역학적 수용체의 부분을 지칭한다.

[0267] 용어 "추가변 영역"은 항원 결합을 책임지는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 추가변 영역은 일반적으로, CDR로부터 아미노산 잔기 및/또는 "추가변 루프"로부터 이들 잔기를 포함한다.

[0268] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "에피토프"는 단백질 항원 상에서 항체에 대한 결합 부위를 지칭한다. 에피토프 결정인자는 통상적으로, 분자의 화학적으로 활성 표면 그룹, 예를 들면, 아미노산 또는 당 측쇄뿐만 아니라 특정한 3차원 구조와 전하 특징을 포함한다. 항체는 해리 상수가 $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 nM$, 또는 $\leq 10 nM$ 일 때 항원에 결합하는 것으로 일컬어진다. 증가된 평형 상수 (" K_D ")는 에피토프와 항체 사이에 더욱 적은 친화성이 있다는 것을 의미하고, 반면 줄어든 평형 상수는 에피토프와 항체 사이에 더욱 많은 친화성이 있다는 것을 의미한다. 일정한 양 "이내"의 K_D 를 갖는 항체는 항체가 소정의 K_D 로 또는 더욱 강하게 에피토프에 결합할 것이라는 것을 의미한다. K_D 는 에피토프와 항체의 결합 특징을 설명하는 반면, "효능"은 항체의 기능을 위한 항체 그 자체의 유용성을 설명한다. 평형 상수와 효능 사이에 반드시 상관이 있는 것은 아니다; 따라서, 예로서, 상대적으로 낮은 K_D 가 고효능을 자동적으로 의미하지는 않는다.

[0269] 항체에 관하여 용어 "선별적으로 결합하다"는 항체가 단지 단일 물질에만 결합한다는 것을 의미하지 않고, 오히려 첫 번째 물질에 대한 항체의 K_D 가 두 번째 물질에 대한 항체의 K_D 보다 적다는 것을 의미한다. 에피토프에 배타적으로 결합하는 항체는 단지 단일 에피토프에만 결합한다.

[0270] 인간에 투여될 때, 설치류 (즉, 뮤린 또는 쥐) 가변 및/또는 불변 영역을 내포하는 항체는 때때로, 예로서, 신체로부터 급속한 청소 또는 항체에 대항하여 신체에 의한 면역 반응의 산출과 연관된다. 설치류-유래된 항체의

활용을 방지하기 위해, 설치류가 완전히 인간 항체를 생산하도록 인간 항체 기능의 설치류 내로 도입을 통해 완전히 인간 항체가 산출될 수 있다. 본원에서 구체적으로 확인되지 않으면, "인간"과 "완전히 인간" 항체는 교체 가능하게 이용될 수 있다. 용어 "완전히 인간"은 단지 부분적으로 인간인 항체를 전적으로, 또는 완전히 인간인 항체와 식별할 때 유용할 수 있다. 당업자는 완전히 인간 항체를 산출하는 다양한 방법을 알고 있다.

[0271] 가능한 인간 항생쥐 항체 반응을 해소하기 위해, 키메라 또는 만약 그렇지 않으면 인간화 항체가 활용될 수 있다. 키메라 항체는 인간 불변 영역 및 뮤린 가변 영역을 갖고, 그리고, 따라서 인간 항키메라 항체 반응이 일부 환자에서 관찰될 수 있다. 이런 이유로, 가능한 인간 항생쥐 항체 또는 인간 항키메라 항체 반응을 방지하기 위해 다중결합 효소에 대항하여 완전히 인간 항체를 제공하는 것이 유리하다.

[0272] 완전히 인간 단일클론 항체는 예로서, 당업자에게 공지된 기술에 의한 하이브리도마 세포주의 산출에 의해 제조될 수 있다. 다른 제조 방법은 적합한 포유류 숙주 세포, 예를 들면, CHO 세포의 형질전환을 위해 특정 항체를 인코딩하는 서열의 이용을 수반한다. 형질전환은 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 공지된 방법에 의해 달성될 수 있고, 상기 방법은 예로서, 폴리뉴클레오티드를 바이러스 내에 (또는 바이러스 벡터 내로) 포장하고, 그리고 숙주 세포를 바이러스 (또는 벡터)로 또는 당분야에서 공지된 형질감염 절차에 의해 형질도입하는 것을 포함한다. 이중성 폴리뉴클레오티드를 포유류 세포 내로 도입하기 위한 방법은 당분야에서 널리 공지되고 텍스트란-매개된 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브렌-매개된 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 리포솜에서 폴리뉴클레오티드(들)의 피포, 그리고 DNA의 핵 내로의 직접적인 현미주입을 포함한다. 발현을 위한 숙주로서 가용한 포유류 세포주는 당분야에서 널리 공지되고, 그리고 여기에는 CHO 세포, HeLa 세포, 그리고 인간 간세포 암종 세포가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0273] 이들 항체는 본 발명의 폴리펩티드를 검출하는데 이용될 수 있다. 가령, 이들 항체는 개체에서 본 발명의 하나 또는 그 이상의 폴리펩티드의 수준을 검출하고, 그리고 검출된 수준을 표준 대조 수준에 또는 개체에서 이전에 (가령, 임의의 질병에 앞서) 결정된 기준선 수준에 비교함으로써 진단체로서 이용될 수 있다.

[0274] 본 발명의 다른 구체에는 하나 또는 그 이상의 인간 도메인 항체 (dAb)의 이용을 수반한다. dAb는 인간 항체 (IgGs)의 가장 작은 기능적 결합 단위이고 우호적인 안정성과 용해도 특징을 갖는다. 상기 기술은 HSA (따라서 "AlbudAb"를 형성; 가령, EP1517921B, WO2005/118642와 WO2006/051288을 참조한다) 및 관심되는 분자 (가령, 본 발명의 폴리펩티드 서열)에 접합된 dAb(들)을 수반한다. AlbudAb는 종종, 폴리펩티드의 혈청 반감기를 연장하기 위해 현재 이용되는 기술보다, 미생물 발현 시스템, 예를 들면, 세균 또는 효모에서 제조하는데 있어서 더욱 작고 더욱 쉽다. HSA가 약 3 주의 반감기를 갖기 때문에, 결과의 접합된 분자는 관심되는 분자의 반감기를 향상시킨다. dAb 기술의 이용은 또한, 관심되는 분자의 효능을 증강할 수 있다.

[0275] 치료적 이용 및 예방적 이용

[0276] 본 발명은 본원에서 설명된 바와 같이, 폴리펩티드, 또는 이들의 조성물의 투여에 의해 과혈당증, 고인슐린혈증, 글루코오스 불내성, 글루코오스 대사 장애, 비만과 다른 체중 장애뿐만 아니라 다른 대사 질환과 대사-연관된 질환, 장애와 상태를 치료하거나 또는 예방하기 위한 방법을 제공한다. 이런 방법은 또한, 예로서 증상의 심각도 또는 빈도를 감소시킴으로써 질환, 장애 또는 상태와 연관된 하나 또는 그 이상의 증상에 대한 유리한 효과를 가질 수 있다.

[0277] 개체가 본원에서 제공된 방법에 의한 과혈당증, 고인슐린혈증, 글루코오스 불내성, 및/또는 글루코오스 장애의 치료 또는 예방을 위한 후보인 지를 결정하기 위해, 당분야에서 공지된 다양한 진단적 방법이 활용될 수 있다. 이런 방법은 본원의 다른 곳에서 설명된 것들 (가령, 공복 혈장 글루코오스 (FPG) 평가 및 경구 내당성 검사 (oGTT))을 포함한다.

[0278] 개체가 본원에서 제공된 방법에 의한 체중 장애 (가령, 비만)의 치료 또는 예방을 위한 후보인 지를 결정하기 위해, 파라미터, 예를 들면, 하지만 제한 없이, 개체의 질환의 병인과 정도 (가령, 개체가 건강한 참고 개체와 비교하여 얼마나 체중과다인지)가 평가되어야 한다. 가령, ~ 25 와 $\sim 29.9 \text{ kg/m}^2$ 사이에 BMI를 갖는 성체는 체중과다 (전비만한)인 것으로 고려될 수 있고, 반면 $\sim 30 \text{ kg/m}^2$ 또는 더욱 높은 BMI를 갖는 성체는 비만한 것으로 고려될 수 있다. 체중과다이고 및/또는 불량한 식이 (가령, 지방과 칼로리가 높은 식이)를 갖는 개체의 경우에, 본 발명의 폴리펩티드 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는 요법의 코스를 개시하기 전에, 변형된 식이 습관 및/또는 운동 섭생을 초기에 실행하고 이들의 효과를 사정하는 것이 일반적이다. 본원에서 논의된 바와 같이, 이들 폴리펩티드는 식욕 억제제를 산출할 수 있다.

[0279] **제약학적 조성물**

[0280] 본 발명의 조절인자 (가령, 폴리펩티드)는 개체에 투여에 적합한 조성물의 형태일 수 있다. 일반적으로, 이런 조성물은 하나 또는 그 이상의 조절인자 및 하나 또는 그 이상의 제약학적으로 허용되는 또는 생리학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 "제약학적 조성물"이다. 일정한 구체예에서, 조절인자는 치료적으로 허용되는 양으로 존재한다. 이들 제약학적 조성물은 본 발명의 방법에서 이용될 수 있다; 따라서, 예로서, 이들 제약학적 조성물은 본원에서 설명된 치료적 및 예방적 방법과 용도를 실시하기 위해 개체에 탈채 또는 생체내 투여될 수 있다.

[0281] 본 발명의 제약학적 조성물은 의도된 방법 또는 투여 루트와 양립성하도록 조제될 수 있다; 예시적인 투여 루트는 본원에서 진술된다. 게다가, 이들 제약학적 조성물은 본 발명에 의해 예기된 바와 같은 질환, 장애와 상태를 치료하거나 예방하기 위해 본원에서 설명된 바와 같이 다른 치료적으로 활성제 또는 화합물 (가령, 글루코오스 강하 작용제)과 합동으로 이용될 수 있다.

[0282] 이들 제약학적 조성물은 전형적으로, 본 발명에 의해 예기된 조절인자 (가령, 폴리펩티드) 중에서 최소한 하나의 치료 효과량, 그리고 하나 또는 그 이상의 제약학적으로 및 생리학적으로 허용되는 조제 작용제를 포함한다. 적합한 제약학적으로 허용되는 또는 생리학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 부형제에는 항산화제 (가령, 아스코르빈산과 중황산나트륨), 보존제 (가령, 벤질 알코올, 메틸 파라벤, 에틸 또는 n-프로필, p-히드록시벤조에이트), 유화제, 현탁제, 분산제, 용매, 충전제, 증량제, 세정제, 완충액, 운반제, 희석제, 및/또는 어쥬먼트가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 가령, 적합한 운반제는 비경구 투여를 위한 제약학적 조성물에서 통상적인 다른 물질로 아마도 보충된 생리 식염수 용액 또는 구연산염 완충된 식염수일 수 있다. 중성 완충된 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 더욱 예시적인 운반제이다. 당업자는 이들 제약학적 조성물과 약형에서 이용될 수 있는 다양한 완충액을 쉽게 인식할 것이다. 전형적인 완충액에는 제약학적으로 허용되는 약산, 약염기, 또는 이들의 혼합물이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 실례로서, 완충액 성분은 수용성 물질, 예를 들면, 인산, 주석산, 젖산, 숙신산, 구연산, 아세트산, 아스코르빈산, 아스파르트산, 글루타민산, 그리고 이들의 염일 수 있다. 허용되는 완충제는 예로서, Tris 완충액, N-(2-히드록시에틸)피페라진-N'-(2-에탄술포산) (HEPES), 2-(N-모르폴리노)에탄술포산 (MES), 2-(N-모르폴리노) 에탄술포산 나트륨 염 (MES), 3-(N-모르폴리노)프로판술포산 (MOPS), 그리고 N-트리스[히드록시메틸] 메틸-3-아미노프로판술포산 (TAP)을 포함한다.

[0283] 제약학적 조성물은 조제된 후에, 용액, 현탁액, 겔, 유제, 고체, 또는 탈수된 또는 냉동건조된 분말로서 무균 바이알 내에 보관될 수 있다. 이런 제제는 즉석 이용 형태, 이용에 앞서 재구성을 필요로 하는 냉동건조된 형태, 이용에 앞서 희석을 필요로 하는 액체 형태, 또는 다른 허용되는 형태에서 보관될 수 있다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 단일 이용 용기 (가령, 단일 이용 바이알, 앰플, 주사기, 또는 자기주사기 (가령, EpiPen®과 유사))에 담겨 제공되고, 반면 복수 이용 용기 (가령, 복수 이용 바이알)가 다른 구체예에서 제공된다. 이식물 (가령, 이식가능한 펌프) 및 카테터 시스템을 비롯한 임의의 약물 전달 기구가 폴리펩티드를 전달하는데 이용될 수 있고, 이들 둘 모두 당업자에게 널리 공지된다. 일반적으로 피하 또는 근육내 투여되는 저장소 주사는 규정된 기간에 걸쳐 본원에서 개시된 폴리펩티드를 방출하는데 또한 활용될 수 있다. 저장소 주사는 통상적으로 고체- 또는 오일-기초되고, 그리고 일반적으로 본원에서 진술된 제제 성분 중에서 최소한 하나를 포함한다. 당업자는 저장소 주사의 가능한 제제와 이용에 익숙하다.

[0284] 이들 제약학적 조성물은 무균 주사가능 수성 또는 유성 현탁액의 형태일 수 있다. 이러한 현탁액은 본원에서 언급된 적합한 분산제 또는 적심제와 현탁제를 이용하여 주지 기술에 따라 조제될 수 있다. 무균 주사가능 제조물은 또한, 비독성 비경구-허용되는 희석제 또는 용매에서 무균 주사가능 용액 또는 현탁액, 예를 들면, 1,3-부탄디올에서 용액일 수 있다. 이용될 수 있는 허용되는 희석제, 용매와 분산 매체는 물, 링거액, 등장성 염화나트륨 용액, 크레모포르 EL™ (BASF, Parsippany, NJ) 또는 인산염 완충된 식염수 (PBS), 에탄올, 폴리올 (가령, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 그리고 액체 폴리에틸렌 글리콜), 그리고 이들의 적합한 혼합물을 포함한다. 이에 더하여, 무균, 고정유가 용매 또는 현탁 매체로서 전통적으로 이용된다. 이런 목적으로, 합성 모노- 또는 디글리세리드를 비롯한 임의의 블랜드 고정유가 이용될 수 있다. 게다가, 지방산, 예를 들면, 올레산은 주사가능물질의 제조에서 용도를 발견한다. 특정 주사가능 제제의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제 (가령, 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴)를 포함함으로써 달성될 수 있다.

[0285] 활성 성분을 내포하는 이들 제약학적 조성물은 예로서, 정제, 캡슐, 트로키제, 로젠지, 수성 또는 유성 현탁액, 분산가능 분말 또는 과립, 유제, 경성 또는 연성 캡슐, 또는 시럽, 용액, 마이크로비드 또는 엘릭시르로서 경구 이용에 적합한 형태일 수 있다. 경구 이용에 의도된 제약학적 조성물은 제약학적 조성물의 제조를 위한 당분야

에 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있고, 그리고 이런 조성물은 제약학적으로 우아하고 맛있는 제조물을 제공하기 위해 하나 또는 그 이상의 작용제, 예를 들면, 예로서, 감미제, 풍미제, 착색제와 보존제를 내포할 수 있다. 정제, 캡슐 등은 정제의 제조에 적합한 비독성 제약학적으로 허용되는 부형제와 혼합으로 활성 성분을 내포한다. 이들 부형제는 예로서, 희석제, 예를 들면, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토오스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제와 봉해제, 예를 들면, 옥수수 전분, 또는 알긴산; 결합제, 예를 들면, 전분, 젤라틴 또는 아카시아, 그리고 윤활제, 예를 들면, 마그네슘 스테아르산염, 스테아르산 또는 활석일 수 있다.

[0286] 경구 투여에 적합한 정제, 캡슐 등은 코팅되지 않거나 또는 위장관에서 붕괴와 흡수를 지연시키고, 따라서 지속된 작용을 제공하기 위해 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 가령, 시간-지연 물질, 예를 들면, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트가 이용될 수 있다. 이들은 또한, 제어된 방출을 위한 삼투성 치료적 정제를 형성하기 위해 당분야에서 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 추가 작용제는 투여된 조성물의 전달을 제어하기 위한 생분해성 또는 생체적합성 입자 또는 중합성 물질, 예를 들면, 폴리에스테르, 폴리아민산, 하이드로겔, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 에틸렌-비닐아세테이트, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 프로타민 황산염, 또는 락티드/글리콜리드 공중합체, 폴리락티드/글리콜리드 공중합체, 또는 에틸렌비닐아세테이트 공중합체를 포함한다. 가령, 경구 작용제는 액적형성 기술에 의해 또는 계면 중합화에 의해, 각각 히드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 또는 폴리(메틸메타크롤레이트) 마이크로캡슐의 이용에 의해, 또는 콜로이드 약물 전달 시스템에서 제조된 마이크로캡슐에서 포획될 수 있다. 콜로이드 분산 시스템은 거대분자 복합체, 나노캡슐, 마이크로스피어, 마이크로비드, 그리고 수중유 유제, 미셀, 혼합된 미셀과 리포솜을 비롯한 지질-기초된 시스템을 포함한다. 리포솜을 제조하는 방법은 예로서, U.S. 특허 번호 4,235,871, 4,501,728, 그리고 4,837,028에서 설명된다. 전술한 제제의 제조를 위한 방법은 당업자에게 명백할 것이다.

[0287] 경구 이용을 위한 제제는 경성 젤라틴 캡슐로서 또한 제공될 수 있고, 여기서 활성 성분은 비활성 고체 희석제, 예를 들면, 탄산칼슘, 인산칼슘, 카올린 또는 미정질 셀룰로오스와 혼합되고, 또는 연성 젤라틴 캡슐로서 또한 제공될 수 있고, 여기서 활성 성분은 물 또는 오일 매체, 예를 들면, 낙화생유, 액체 파라핀, 또는 올리브유와 혼합된다.

[0288] 수성 현탁액은 이들의 제조에 적합한 부형제와 혼합으로 활성 물질을 내포한다. 이런 부형제는 현탁제, 예를 들면, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 히드록시-프로필메틸셀룰로오스, 알긴산나트륨, 폴리비닐-피롤리돈, 검 트래거캔스와 검 아카시아; 분산제 또는 적심제, 예를 들면, 자연발생 인지질 (가령, 레시틴), 또는 알킬렌 산화물 및 지방산의 축합 산물 (가령, 폴리옥시-에틸렌 스테아르산염), 또는 에틸렌 산화물 및 긴 사슬 지방족 알코올의 축합 산물 (가령, 헵타데카에틸렌옥시세탄올), 또는 에틸렌 산화물 및 지방산과 헥시톨로부터 유래된 부분적인 에스테르의 축합 산물 (가령, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트), 또는 에틸렌 산화물 및 지방산과 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분적인 에스테르의 축합 산물 (가령, 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트)일 수 있다. 수성 현탁액은 또한, 하나 또는 그 이상의 보존제를 내포할 수 있다.

[0289] 유성 현탁액은 활성 성분을 식물성 오일, 예를 들면, 땅콩 기름, 올리브유, 호마유 또는 코코넛 오일에서, 또는 무기질 오일, 예를 들면, 액체 파라핀에서 현탁함으로써 조제될 수 있다. 유성 현탁액은 농화제, 예를 들면, 밀랍, 경성 파라핀 또는 세틸 알코올을 내포할 수 있다. 감미제, 예를 들면, 상기 진술된 것들, 그리고 풍미제가 맛있는 경구 제조물을 제공하기 위해 첨가될 수 있다.

[0290] 물의 첨가에 의한 수성 현탁액의 제조에 적합한 분산가능 분말과 과립은 분산제 또는 적심제, 현탁제 및 하나 또는 그 이상의 보존제와 혼합으로 활성 성분을 제공한다. 적합한 분산제 또는 적심제와 현탁제는 본원에서 예시된다.

[0291] 본 발명의 제약학적 조성물은 또한, 수중유 유제의 형태일 수 있다. 유성상은 식물성 오일, 예를 들면, 올리브유 또는 땅콩 기름, 또는 무기질 오일, 예를 들면, 액체 파라핀, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 자연발생 검, 예를 들면, 검 아카시아 또는 검 트래거캔스; 자연발생 인지질, 예를 들면, 콩, 레시틴, 그리고 지방산으로부터 유래된 에스테르 또는 부분적인 에스테르; 헥시톨 무수물, 예를 들면, 소르비탄 모노올레이트; 그리고 부분적인 에스테르 및 에틸렌 산화물의 축합 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트일 수 있다.

[0292] 제제, 예를 들면, 이식물, 리포솜, 하이드로겔, 전구약물과 미세캡슐화된 전달 시스템을 비롯한 제어된 방출 제제는 또한, 조성물을 신체로부터 급속한 분해 또는 제거에 대항하여 보호하기 위한 담체를 포함할 수 있다. 가령, 시간 지연 물질, 예를 들면, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 스테아르산염은 단독으로, 또는 약

스와 합동으로, 이용될 수 있다.

- [0293] 본 발명은 약물의 직장 투여를 위한 좌약의 형태에서 조절인자의 투여를 예기한다. 좌약은 일상적인 온도에서 고체이지만 직장 온도에서 액체이고, 이런 이유로 직장에서 용해하여 약물을 방출하는 적합한 비자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조될 수 있다. 이런 물질에는 코코아 버터와 폴리에틸렌 글리콜이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.
- [0294] 본 발명에 의해 예기된 조절인자는 현재 공지된 또는 장래에 개발될 임의의 다른 적합한 제약학적 조성물(가령, 코 또는 흡입 이용을 위한 스프레이)의 형태일 수 있다.
- [0295] 제제에서 폴리펩티드 또는 이의 단편의 농도는 폭넓게(가령, 중량으로 약 0.1% 이하, 통상적으로 약 2% 또는 최소한 약 2% 내지 많게는 20% 내지 50% 또는 그 이상) 변할 수 있고, 그리고 통상적으로, 유체 부피, 점성, 그리고 예로서, 선별된 특정 투여 방식에 따라 개체-기초된 인자에 일차적으로 기초하여 선별될 것이다.
- [0296] **투여 루트**
- [0297] 본 발명은 임의의 적절한 방식으로, 개시된 조절인자(가령, 폴리펩티드), 그리고 이들의 조성물의 투여를 예기한다. 적합한 투여 루트는 비경구(가령, 근육내, 정맥내, 피하(가령, 주사 또는 이식물), 복막내, 대조내, 관절내, 복막내, 뇌내(뇌실질내) 및 뇌실내), 경구, 코, 질, 설하, 안구내, 직장, 국소(가령, 경피), 설하 및 흡입을 포함한다.
- [0298] 일반적으로 피하 또는 근육내 투여되는 저장소 주사는 규정된 기간에 걸쳐 본원에서 개시된 조절인자를 방출하는데 또한 활용될 수 있다. 저장소 주사는 통상적으로 고체- 또는 오일-기초되고, 그리고 일반적으로 본원에서 진술된 제제 성분 중에서 최소한 하나를 포함한다. 당업자는 저장소 주사의 가능한 제제와 이용에 익숙하다.
- [0299] 항체와 관련하여, 한 예시적인 구체예에서 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 4 °C에서 주사를 위해 무균 등장성 수성 식염수에서 10 mg/ml에서 보관되고, 그리고 개체에 투여에 앞서 주사를 위해 100 ml 또는 200 ml 0.9% 염화나트륨에서 희석된다. 항체는 0.2와 10 mg/kg 사이의 분량에서 1 시간의 코스에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여된다. 다른 구체예에서, 항체는 15 분과 2 시간 사이의 기간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여된다. 또 다른 구체예에서, 투여 절차는 피하 일시 주사에 의한다.
- [0300] **복합 요법**
- [0301] 본 발명은 하나 또는 그 이상의 활성 치료적 작용제 또는 다른 예방적 또는 치료적 양상과 합동으로 조절인자(가령, 폴리펩티드)의 이용을 예기한다. 이런 복합 요법에서, 다양한 활성제는 빈번하게, 상이한 작용 기전을 갖는다. 이런 복합 요법은 이들 작용제 중에서 하나 또는 그 이상의 분량 감소를 가능하게 하고, 따라서 이들 작용제 중에서 하나 또는 그 이상과 연관된 부정적인 효과를 감소시키거나 또는 제거함으로써 특히 유리할 수 있다; 게다가, 이런 복합 요법은 기초 질환, 장애, 또는 상태에 대한 상승적인 치료적 또는 예방적 효과를 가질 수 있다.
- [0302] 본원에서 이용된 바와 같이, "복합"은 개별적으로 투여될 수 있는, 예를 들면, 별개의 투여를 위해 개별적으로 조제될 수 있는 요법(가령, 키트에서 제공될 수 있는 바와 같이), 그리고 단일 제제(즉, "공동제제")에서 함께 투여될 수 있는 요법을 포함하는 것으로 의미된다.
- [0303] 일정한 구체예에서, 조절인자는 예로서, 한 작용제가 하나 또는 그 이상의 다른 작용제에 앞서 투여되는 경우에 순차적으로 투여되거나 또는 적용된다. 다른 구체예에서, 조절인자는 예로서, 2개 또는 그 이상의 작용제가 동일한 또는 거의 동일한 시간에 투여되는 경우에 동시에 투여된다; 이들 2개 또는 그 이상의 작용제는 2개 또는 그 이상의 별개의 제제에서 존재하거나 또는 단일 제제(즉, 공동제제) 내로 합동될 수 있다. 이들 2개 또는 그 이상의 작용제가 순차적으로 또는 동시에 투여되는 지에 상관없이, 이들은 본 발명을 위해 합동으로 투여되는 것으로 고려된다.
- [0304] 본 발명의 조절인자는 과혈당증, 고인슐린혈증, 글루코오스 불내성, 그리고 다른 글루코오스 대사 장애로 고통받는 개체에 정상적으로 투여되는 것들을 비롯하여, 본원에서 진술된 질환, 장애 또는 상태의 치료, 예방, 억제 또는 개선에서 유용한 다른 작용제와 합동으로 이용될 수 있다.
- [0305] 본 발명은 1) 술폰닐우레아(가령, 클로르프로파미드, 톨라자미드, 아세토헥사미드, 톨부타미드, 글리부라이드, 글리메피라이드, 글리피지드) 및 메글리티니드(가령, 레파글리니드 (PRANDIN)와 나테글리니드 (STARLIX))를 비롯하여, 인슐린 분비의 자극을 수반하는 인슐린, 인슐린 모방체와 작용제; 2) 글루코오스 활용을 증진하고, 간

글루코오스 생산을 감소시키고 및/또는 장관 글루코오스 출력을 축소함으로써 작용하는 바이구아니드 (가령, 메트포르민 (GLUCOPHAGE)) 및 다른 작용제; 3) 탄수화물 소화와 결과적으로, 소화관으로부터 흡수의 속도를 늦추고 식후 과혈당증을 감소시키는 알파-글루코시다아제 저해제 (가령, 아카보스와 미글리톨) 및 다른 작용제; 4) 인슐린 작용을 증강하고 (가령, 인슐린 감작화에 의해), 따라서 말초 조직에서 글루코오스 활용을 증진하는 티아졸리디네디온 (가령, 로시글리타존 (AVANDIA), 트로글리타존 (REZULIN), 피오글리타존 (ACTOS), 글리피지드, 발라글리타존, 리보글리타존, 네토글리타존, 트로글리타존, 엔글리타존, 시글리타존, 아다글리타존, 다르글리타존; 5) DPP-IV 저해제 (가령, 빌다글립틴 (GALVUS)과 시타글립틴 (JANUVIA)) 및 글루카곤 유사 펩티드-1 (GLP-1)과 GLP-1 효현제와 유사체 (가령, 엑세나티드 (BYETTA와 ITCA 650 (12-개월 기간에 걸쳐 엑세나티드 유사체를 전달하는 피하 삽입된 삼투성 펌프; Intarcia, Boston, MA))를 비롯한 글루카곤-유사-펩티드; 그리고 6) DPP-IV-내성 유사체 (인크레틴 모방체), PPAR 감마 효현제, 이중-작용 PPAR 효현제, 범-작용 PPAR 효현제, PTP1B 저해제, SGLT 저해제, 인슐린 분비촉진제, RXR 효현제, 글리코젠 신타아제 키나아제-3 저해제, 면역 조절인자, 베타-3 아드레날린 수용체 효현제, 11베타-HSD1 저해제, 그리고 아밀린 유사체를 비롯한 다양한 작용제 (및 이들의 부류)와의 복합 요법을 예기한다.

[0306] 게다가, 본 발명은 체중 감소를 증진하기 위한 작용제와 방법, 예를 들면, 물질대사를 자극하거나 또는 식욕을 감소시키는 작용제, 그리고 체중 감소를 증진하기 위한 변형된 식이 및/또는 운동 섭생과의 복합 요법을 예기한다.

[0307] 본 발명의 조절인자는 환경에 따라 적절한 임의의 방식으로 하나 또는 그 이상의 다른 작용제와 합동으로 이용될 수 있다. 한 구체예에서, 최소한 하나의 활성제 및 본 발명의 최소한 하나의 조절인자로 치료는 일정한 기간에 걸쳐 유지된다. 다른 구체예에서, 최소한 하나의 활성제로 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (가령, 개체가 안정될 때), 반면 본 발명의 조절인자로 치료는 일정한 투약 섭생에서 유지된다. 추가의 구체예에서, 최소한 하나의 활성제로 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (가령, 개체가 안정될 때), 반면 본 발명의 조절인자로 치료는 감소된다 (가령, 더욱 낮은 분량, 덜 빈번한 투약 또는 더욱 짧은 치료 섭생). 또 다른 구체예에서, 최소한 하나의 활성제로 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (가령, 개체가 안정될 때), 그리고 본 발명의 조절인자로 치료는 증가된다 (가령, 더욱 높은 분량, 더욱 빈번한 투약 또는 더욱 긴 치료 섭생). 또 다른 구체예에서, 최소한 하나의 활성제로 치료는 유지되고, 그리고 본 발명의 조절인자로 치료는 감소되거나 또는 중단된다 (가령, 더욱 낮은 분량, 덜 빈번한 투약 또는 더욱 짧은 치료 섭생). 또 다른 구체예에서, 최소한 하나의 활성제로 치료 및 본 발명의 조절인자로 치료는 감소되거나 또는 중단된다 (가령, 더욱 낮은 분량, 덜 빈번한 투약 또는 더욱 짧은 치료 섭생).

[0308] **투약**

[0309] 본 발명의 조절인자 (가령, 폴리펩티드)는 예로서, 투여의 목적 (가령, 원하는 분해의 정도); 치료되는 개체의 연령, 체중, 성별, 그리고 건강과 신체 상태; 투여되는 조절인자, 및/또는 제제의 성격; 투여 루트; 그리고 질환, 장애, 상태 또는 이의 증상의 성격 (가령, 글루코오스/인슐린의 조절장애의 심각도 및 장애의 시기)에 좌우되는 양으로 개체에 투여될 수 있다. 투약 섭생은 또한, 투여되는 작용제(들)와 연관된 임의의 불리한 효과의 실존, 성격과 정도를 고려한다. 효과적인 용량과 투약 섭생은 예로서, 안전성과 분량-단계적 확대 시험, 생체내 연구 (가령, 동물 모델), 그리고 당업자에게 공지된 다른 방법으로부터 쉽게 결정될 수 있다.

[0310] 일반적으로, 투약 파라미터는 용량이 개체에 비가역적으로 독성일 수 있는 양 (즉, 최대 내성 분량, "MTD")보다 적지만 개체에 대한 측정가능한 효과를 산출하는데 필요한 양보다 적지 않아야 한다는 것을 진술한다. 이런 양은 예로서, 투여 루트 및 다른 인자를 고려하여, 흡수, 분포, 물질대사와 배출 ("ADME")과 연관된 약동학적 파라미터와 약력학적 파라미터에 의해 결정된다.

[0311] 유효 분량 (ED)은 작용제를 섭취하는 개체의 일부 분율에서 치료적 반응 또는 원하는 효과를 산출하는 작용제의 분량 또는 양이다. 작용제의 "중간 유효 분량" 또는 ED50은 이것이 투여되는 개체군의 50%에서 치료적 반응 또는 원하는 효과를 산출하는 작용제의 분량 또는 양이다. 비록 ED50이 작용제의 효과의 합리적인 기대의 척도로서 통상적으로 이용되긴 하지만, 이것은 반드시, 임상의가 모든 유관한 인자를 고려하여 적절하다고 여길 수도 있는 분량인 것은 아니다. 따라서, 일부 상황에서 효과량은 계산된 ED50보다 많고, 다른 환경에서 효과량은 계산된 ED50보다 적고, 그리고 또 다른 환경에서 효과량은 계산된 ED50과 동일하다.

[0312] 이에 더하여, 본 발명의 조절인자의 유효 분량은 하나 또는 그 이상의 분량에서 개체에 투여될 때, 건강한 개체에 비하여 원하는 결과를 산출하는 양일 수 있다. 가령, 유효 분량은 상승된 혈장 글루코오스 및/또는 혈장 인슐린을 갖는 개체에 투여될 때, 건강한 개체에 비하여 최소한 약 10%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한

약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 60%, 최소한 약 70%, 최소한 약 80%, 또는 80% 이상의 원하는 감소를 달성하는 양일 수 있다.

[0313] 적절한 용량 수준은 일반적으로, 하루에 약 0.001 내지 100 mg/환자 체중 kg일 것인데, 이것은 단일 또는 복수 분량으로 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 용량 수준은 하루에 약 0.01 내지 약 25 mg/kg일 것이고, 그리고 다른 구체예에서 하루에 약 0.05 내지 약 10 mg/kg일 것이다. 적합한 용량 수준은 하루에 약 0.01 내지 25 mg/kg, 하루에 약 0.05 내지 10 mg/kg, 또는 하루에 약 0.1 내지 5 mg/kg일 수 있다. 이러한 범위 내에서, 용량은 하루에 0.005 내지 0.05, 0.05 내지 0.5 또는 0.5 내지 5.0 mg/kg일 수 있다.

[0314] 경구 작용제의 투여를 위해, 조성물은 1.0 내지 1000 밀리그램의 활성 성분, 특히 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 50.0, 75.0, 100.0, 150.0, 200.0, 250.0, 300.0, 400.0, 500.0, 600.0, 750.0, 800.0, 900.0, 그리고 1000.0 밀리그램의 활성 성분을 내포하는 정제, 캡슐 등의 형태에서 제공될 수 있다. 조절인자는 예로서, 하루에 1 내지 4 회, 그리고 종종 하루 1회 또는 2 회의 섭생에서 투여될 수 있다.

[0315] 본 발명의 조절인자의 투약은 적절한 빈도에서 반복될 수 있는데, 이것은 조절인자 (가령, 반감기)의 약물동력학 및 약력학적 반응 (가령, 조절인자의 치료 효과의 지속 시간)에 따라, 하루 1회 내지 3 개월 마다 1회의 범위 안에 있을 수 있다. 조절인자가 항체 또는 이의 단편, 또는 폴리펩티드 또는 이의 변이체인 일부 구체예에서, 투약은 주 1회와 3 개월 마다 1회 사이에서 빈번하게 반복된다. 다른 구체예에서, 이런 조절인자는 대략 월 1회 투여된다.

[0316] 일정한 구체예에서, 개시된 조절인자의 용량은 "단위 약형"에서 내포된다. 관용구 "단위 약형"은 물리적으로 구별된 단위를 지칭하고, 각 단위는 단독으로 또는 하나 또는 그 이상의 추가 작용제와 합동으로, 원하는 효과를 생산하는데 충분한 미리 결정된 양의 본 발명의 조절인자를 내포한다. 단위 약형의 파라미터는 특정 작용제 및 달성되는 효과에 의존하는 것으로 인지될 것이다.

[0317] **키트**

[0318] 본 발명은 또한, 개시된 조절인자 (가령, 폴리펩티드), 그리고 이들의 제약학적 조성물을 포함하는 키트를 예기한다. 키트는 일반적으로, 아래에 설명된 바와 같이, 다양한 성분을 수용하는 물리적 구조의 형태이고, 그리고 예로서, 앞서 설명된 방법 (가령, 글루코오스 항상성을 복원하는 것이 필요한 개체에 조절인자의 투여)을 실시하는데 활용될 수 있다.

[0319] 키트는 본원에서 개시된 조절인자 중에서 하나 또는 그 이상 (가령, 무균 용기에 담겨 제공됨)을 포함할 수 있고, 상기 조절인자는 개체에 투여에 적합한 제약학적 조성물의 형태일 수 있다. 조절인자는 즉석으로 이용되는 형태에서 또는 예로서, 투여에 앞서 재구성 또는 희석을 필요로 하는 형태에서 제공될 수 있다. 조절인자가 사용자에게 의해 재구성되어야 하는 형태일 때, 키트는 또한, 조절인자와 함께 포장된 또는 조절인자와 별개로, 완충액, 제약학적으로 허용되는 부형제, 기타 등등을 포함할 수 있다. 복합 요법이 예기될 때, 키트는 여러 작용제를 개별적으로 내포할 수 있거나 또는 이들은 키트 내에서 미리 합동될 수 있다. 키트의 각 성분은 개별 용기 내에 동봉될 수 있고, 그리고 모든 다양한 용기는 단일 패키지 내에 있을 수 있다. 본 발명의 키트는 그 안에 수용된 성분을 적절하게 유지하는데 필요한 조건 (가령, 냉동 또는 동결)에 맞게 설계될 수 있다.

[0320] 키트는 그 안에 성분에 대한 확인 정보 및 이들의 용도에 대한 사용설명서 (가령, 투약 파라미터, 작용 기전, 약물동력학과 약력학을 비롯한 활성 성분(들)의 임상적 약리학, 부정적인 효과, 금기 등)를 포함하는 라벨 또는 포장 삽입물을 내포할 수 있다. 라벨 또는 삽입물은 제조업체 정보, 예를 들면, 로트 번호 및 유효 기간을 포함할 수 있다. 라벨 또는 포장 삽입물은 예로서, 성분을 수용하는 물리적 구조 내로 통합되거나, 물리적 구조 내에 개별적으로 내포되거나, 또는 키트의 한 성분 (가령, 앰풀, 튜브 또는 바이알)에 부착될 수 있다. 예시적인 사용설명서는 개시된 조절인자, 그리고 이들의 제약학적 조성물로 혈당의 감소 또는 강하, 과혈당증의 치료, 당뇨병의 치료, 기타 등등을 위한 것들을 포함한다.

[0321] 라벨 또는 삽입물은 컴퓨터 판독가능 매체, 예를 들면, 디스크 (가령, 하드 디스크, 카드, 메모리 디스크), 광학 디스크, 예를 들면, CD- 또는 DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, 자성 테이프, 또는 전기 저장 매체, 예를 들면, RAM과 ROM 또는 이들의 하이브리드, 예를 들면, 자성/광학 저장 매체, FLASH 매체 또는 메모리-유형 카드를 부가적으로 포함하거나, 또는 이것 내로 통합될 수 있다. 일부 구체예에서, 실제 사용설명서가 키트 내에 존재하지 않고, 원격 공급원으로부터, 예를 들면, 인터넷을 통해 사용설명서를 획득하기 위한 수단이 제공된다.

[0322] **실험**

- [0323] 다음 실시예는 당업자에게 본 발명을 만들고 이용하는 방법에 관한 완전한 개시와 설명을 제공하기 위해 제안되고, 그리고 본 발명자들이 그들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않고, 또한 이들은 아래 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 이용된 숫자 (가령, 양, 온도 등)에 대하여 정확도를 담보하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차와 편차가 고려되어야 한다.
- [0324] 달리 지시되지 않으면, 분율은 중량에 의한 분율이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도 (°C)이고, 그리고 압력은 대기압 또는 이에 가깝다. 다음을 비롯한 표준 약어가 이용된다: bp = 염기쌍(들); kb = 킬로베이스(들); pl = 피코리터(들); s 또는 sec = 초(들); min = 분(들); h 또는 hr = 시간(들); aa = 아미노산(들); kb = 킬로베이스(들); nt = 뉴클레오티드(들); ng = 나노그램; µg = 마이크로그램; mg = 밀리그램; g = 그램; kg = 킬로그램; dL 또는 dL = 데시리터; µl 또는 µL = 마이크로리터; ml 또는 mL = 밀리리터; l 또는 L = 리터; µM = 마이크로몰; mM = 밀리몰; M = 몰; kDa = 킬로달톤; i.m. = 근육내; i.p. = 복막내; s.c. = 피하; bid = 하루 2 회; HPLC = 고성능 액체크로마토그래피; BW = 체중; U = 단위; ns = 통계학적으로 유의하지 않음; PG = 공복 혈장 글루코오스; FPI = 공복 혈장 인슐린; ITT = 인슐린 내성 검사; PTT = 피루브산염 내성 검사; oGTT = 경구 내당성 검사; GSIS = 글루코오스-자극된 인슐린 분비; PBS = 인산염 완충된 식염수; PCR = 중합효소 연쇄 반응; NHS = N-히드록시숙신이미드; DMEM = Eagle 배지의 Dulbecco 변형; GC = 유전체 사본; EDTA = 에틸렌디아민테트라아세트산.
- [0325] **재료와 방법**
- [0326] 다음의 방법과 재료가 아래 실시예에서 이용되었다:
- [0327] 동물. 수컷, 7-15 주령, B6.V-*LEP^{ob}*/J (렙틴-결함성 (*ob/ob*)) 생쥐 (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)가 차후에 설명된 실험에서 이용되었다. 생쥐는 가압멸균된 증류수에 자유롭게 접근하고, 그리고 상업적인 생쥐 사료 (조사된 2018 Teklad Global 18% 단백질 설치류 규정식, Harlan Laboratories, Dublin, VA)가 무제한으로 사양되었다. 규정식-유도된 비만한 (DIO) 수컷 C57BL/6J 생쥐 (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)는 60 kcal% 지방, 20 kcal% 단백질과 20 kcal% 탄수화물을 내포하는 고지방 규정식 (D12492, Research Diets, Inc, New Brunswick, NJ)에서 12-20 주 동안 유지되었다. 모든 동물 연구는 NGM Institutional Animal Care and Use Committee에 의해 승인되었다.
- [0328] 핵산과 아미노산 서열. GenBank 수탁 번호 BC000529.2는 인간 GDF15 변이체를 인코딩하는 ORF의 cDNA를 진술하고, 그리고 GenBank 수탁 번호 NP_004855.2는 상기 cDNA에 의해 인코딩된 아미노산 서열을 진술한다. 호모 사피엔스 (*Homo sapiens*) 혈청 알부민 cDNA는 Origene (SC319937), GeneBank 수탁 번호 NM_000477.3, NP_000468)로부터 구입되었다.
- [0329] HSA와 인간 GDF15에 대한 융합 PCR 단편은 Sapphire (Clontech) 효소에 의해 산출되고, 겔 정제되고 (Qiagen 겔 추출 키트), 그리고 Gibson Assembly Master Mix (NEB)를 이용하여 EcoRI와 BamHI로 절단된 인간 IgK 신호 펩티드를 내포하는 pTT5 벡터 내로 조립되었다. 클로닝을 위한 2개의 PCR 단편이 산출되었는데, 첫 번째는 HSA를 인코딩하고 두 번째는 인간 GDF15를 인코딩하였다. 다음의 프라이머가 HSA를 증폭하는데 이용되었다: 전방 프라이머: 5'-tggctccgaggtgccagatgtgatgcacacaagagtggaggttgcctcatcg-3' (서열 번호:217); 후방 프라이머: 5'-gctaccgcctccacctaacgctaaggcagcttgacttgc-3' (서열 번호:218). 다음의 프라이머가 GDF15를 증폭하는데 이용되었다: 전방 프라이머: 5'-gctgccttaggcttaggtggagcggtagcggtggaggtgggagtgaggtggaggcagtcgcgcgaacggggaccactgtccgctcg-3' (서열 번호:219); 후방 프라이머: 5'-cagaggtcgaggtcgggggatcctcatatgcagtggtggcagtcctttggctaaca-3' (서열 번호:220).
- [0330] 집락은 도말되고 서열이 확증되었다. 프라이머는 관심되는 영역을 돌연변이시키도록 설계되고, 그리고 돌연변이 유발은 Quikchange Lightning 부위 지향된 돌연변이유발 키트 (Agilent)로 수행되었다. 서열-확증된 집락은 증폭되고, 그리고 플라스미드 DNA는 Qiagen DNA-Maxi prep 키트를 이용하여 정제되었다.
- [0331] HSA-GDF15 돌연변이단백질 융합 분자 발현. 모든 돌연변이단백질은 Expi 293F 세포 (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA)에서 일시적으로 형질감염되었다. 세포는 Expi 발현 배지 (Invitrogen)에서 일과적으로 계대 배양되고 변하는 크기의 진탕 플라스크에서 현탁 배양액으로서 유지되었다. 전형적으로, 세포는 5e5 생존가능 세포/ml의 세포 밀도에서 계대배양되고 계대배양 전 3 일 동안 성장되었다. 이들 플라스크는 110 RPM의 교반 비율에서 New Brunswick 진탕기 플랫폼 (New Brunswick Scientific Company, Edison, NJ) 위에서 가습된 CO₂ 인큐베

이터 (37 °C와 5% CO₂)에서 유지되었다.

- [0332] 형질감염은 배양액의 세포 밀도가 95%보다 큰 생존력에서 2.5e6 생존가능 세포/mL에 도달할 때 수행되었다. 전형적으로, 50 mL 형질감염을 위해, 2.5e6 세포/mL x 50mL 세포가 250mL 진탕기 플라스크에서 42.5 mL 배양 부피에서 접종되었다. 관심되는 유전자를 내포하는 발현 벡터로 구성되는 50 마이크로그램 (50 µg) 플라스미드 DNA는 먼저 2.5mL OPTI-MEM 감소된-혈청 배지 (Invitrogen)에서 희석되었다. 동시에, 2.67 배 부피 (플라스미드 DNA의 양의) Expifectamine 형질감염 시약 (Invitrogen) 역시 2.5mL OPTI-MEM 감소된-혈청 배지에서 희석되었다. 실온에서 5 분 배양 후에, 형질감염 적격성 복합체를 형성하기 위해 희석된 형질감염 시약이 희석된 플라스미드 DNA에 천천히 첨가되었다. 실온에서 추가 20 분 배양 기간 후에, 5 mL의 형질감염 복합체가 42.5 mL 세포 배양액에 첨가되었다. 형질감염된 세포는 이후, 가습된 CO₂ 인큐베이터 내에 110 RPM에서 유지된 레도 진탕기 상에 배치되었다. 형질감염후 24 시에, 형질감염된 배양액은 250 µL 인헨서 1 용액 (Invitrogen) 및 2.5 mL 인헨서 2 용액 (Invitrogen)이 공급되었다. 배양액은 이후, 가습된 CO₂ 인큐베이터 내에 레도 진탕기 상에서 대체되었다. 형질감염후 6-내지-7 일에, 배양액은 0.2 µm 필터 (Nalgene)를 통해 여과되기 전 30 분 동안 3000 RPM에서 원심분리에 의해 수확되었다. 표본은 이후, 쿠마시 염색 겔에서 발현에 대해 분석되었다.
- [0333] HSA-GDF15 융합 분자의 개열. 인간 혈청 알부민 hGDF15 융합 구조체는 95%보다 큰 균질성까지 정제되었다. 돌연변이단백질은 1:500 (w/w) 첨가 (1X 인산염 완충된 식염수에서)를 이용하여 New England Biolabs (P8010)로부터 획득된 인자 Xa를 이용한 실온에서 하룻밤 소화에 의해 절제되었다. 개열 이후에, GDF15 돌연변이단백질은 95%보다 큰 균질성까지 정제되었다.
- [0334] 성숙 GDF15 융합 분자의 생산. hGDF15 돌연변이단백질 역시 작제되고, 그리고 GDF15의 성숙 (112개 아미노산) 서열에 융합된 IgG 신호 펩티드의 활용을 통해 비-HSA 융합체로서 정제되었다 (도면 1b). 성숙 돌연변이단백질은 95%보다 큰 균질성까지 배지로부터 직접적으로 정제되었다.
- [0335] 세균으로-재접힘된 성숙, 비당화된 분자의 생산. N 말단 메티오닌을 갖는 GDF15의 성숙 (112개 아미노산) 서열을 내포하는, 도면 4에서 진술된 hGDF15 돌연변이단백질 (w29, w32, w52, w68 and w89) 역시 봉입체로부터 세균 재접힘체로서 산출되고 95%보다 큰 균질성까지 정제되었다 (도면 1b).
- [0336] 인간 GDF15 돌연변이단백질의 용해도 사정. GDF15 돌연변이단백질의 용해도는 2가지 상보성 검정을 이용하여 사정되었는데, 이들의 결과는 서로를 가깝게 반영하였다. 한 검정 형식에서, 돌연변이단백질은 1X 인산염 완충된 식염수 내로 투석되고 재건된 니트로셀룰로오스 10,000 NMWL로 구성된 Amicon Ultra 원심 필터 (UFC901096)를 이용하여 농축되었다. 농축 이후에, 용해도 사정은 280nm 파장에서 흡광도 및 베에르의 법칙 (흡광 계수 = 14400, 분자량 = 12,287Da).)를 이용하여 1X 인산염 완충된 식염수에서 비워진 NanoDrop ND-1000 분광광도계에서 수행되었다. 두 번째 검정 형식에서, 돌연변이단백질은 0.05% (v/v) 포름산 (pH 2.0) 내로 투석되고 재건된 니트로셀룰로오스 10,000 NMWL (UFC901096)로 구성된 Amicon Ultra 원심 필터를 이용하여 20 mg/mL까지 및 이보다 크게 농축되었다. 각 돌연변이단백질에 대한 시작 농도는 280nm 파장에서 흡광도 및 베에르의 법칙 (흡광 계수 = 14400, 분자량 = 12,287Da)을 이용하여 결정되었다. 각 돌연변이단백질은 이후, 0.01% 포름산 내로 역으로 2-배 연속 희석되고 90 µL의 각 희석액이 96-웰 평판에 첨가되었다. 10 µL의 10X PBS가 각 웰에 첨가되고 pH가 7.3인 것으로 입증되었다. 진탕하면서 실온에서 하룻밤 동안 배양 이후에, 혼탁도가 370nm에서 측정되었다. 혼탁도가 발생하기 시작하는 변곡점은 각 돌연변이단백질에 대한 최대 용해도로써 인정된다.
- [0337] 혈당 검정.
- [0338] 생쥐 꼬리 싹둑 자름으로부터 혈당은 제조업체의 사용설명서에 따라서, ACCU-CHEK 활성 미터 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)에 의해 판독된 ACCU-CHEK 활성 검사 스트립을 이용하여 계속되었다.
- [0339] 혈청 GDF15 돌연변이단백질 노출 수준 검정. 생쥐 꼬리 싹둑 자름으로부터 전혈 (~50 µL/생쥐)은 보통의 모세관 튜브 (BD Clay Adams SurePrep, Becton Dickinson, Sparks, MD) 내로 수집되었다. 혈청과 혈액 세포는 튜브를 Autocrit Ultra 3 (Becton Dickinson, Sparks, MD)에서 회전시킴으로써 분리되었다. 혈청에서 GDF15 노출 수준은 제조업체의 사용설명서를 추종함으로써 인간 GDF-15 Quantikine ELISA 키트 (R&D systems, Minneapolis, MN)를 이용하여 결정되었다.
- [0340] 분석적 겔 여과. 가공된 인간 GDF15 돌연변이단백질의 수력학적 반지름의 증가는 1mL/분의 유속에서 1X 인산염 완충된 식염수로 전평형화된, TOSOH Biosciences TSKgelG3000SW_{XL} 칼럼 (7.8 mm ID X 30 cm, 5 µm)을 이용하여 Agilent 1200-계열 HPLC 용리 시간 (분)에서 A280 용리 흡광도에 의해 모니터링되었다.

- [0341] 성숙 오리너구리 (Oa) GDF15 분자의 생산. 도면 17a를 참조하여, 성숙 OaGDF15는 신호 서열, 프로도메인 (퓨린 절단 부위 밑줄 그어짐), 그 이후에 성숙OaGDF15 (굵음)을 내포하는 전구체 아미노산 서열로부터 작제되었다 (도면 17a를 참조한다).
- [0342] OaGDF15 구조체는 HSA-GDF15 돌연변이단백질 융합 분자에 대해 본원에서 설명된 바와 같은 방식으로 Expi 293F 세포 (Invitrogen; Carlsbad, CA)에서 일시적으로 형질감염되었다. 분비된 OaGDF15는 세포 배지로부터 95%보다 큰 균질성까지 정제되었다. OaGDF15의 성숙 형태의 N 말단은 LC/MS 분석에 의해 입증되었다.
- [0343] **실시예 1: 체중, 식품 섭취 및 공복 혈액에 대한 HSA - GDF15 융합 분자의 효과**
- [0344] 체중, 식품 섭취, 그리고 공복 혈액에 대한 재조합 인간 GDF15에 융합된 재조합 HSA를 갖는 피하 투여된 융합 분자의 효과는 전달후 22 일 기간에 걸쳐 평가되었다. 간단히 말하면, 도면 1h에서 묘사된 융합 분자 (비개열가 능한 3x(4Gly-Ser) 링커 (서열 번호:64)를 통해 성숙 인간 GDF15의 N 말단에 융합된 성숙 HSA)는 다양한 분량에 서, 대략 44 g의 무게가 나가고 대략 340 mg/dl의 비공복 글루코오스 혈청 수준을 갖는 7-15 주령 수컷 *ob/ob* 생쥐에 단일, 피하 일시 주사로서 투여되었다. 운반제 대조 (PBS) 또는 0.04 mg/kg, 0.12 mg/kg, 0.4 mg/kg과 1.2 mg/kg의 분량에서 융합 분자의 투여 이후에, 지정된 파라미터가 22-일 기간에 걸쳐 0, 2, 3, 6, 8, 15와 22 일자에 결정되었다. 혈청 노출은 제조업체의 사용설명서에 따라서, 인간 GDF-15 Quantikine ELISA 키트 (R&D systems, Minneapolis, MN)에 의해 모니터링되었다.
- [0345] 융합 분자는 접합되지 않은, 재조합 인간 GDF15에 대한 2 시간의 반감기와 비교하여, 37 시간의 향상된 반감기 를 증명하였다. 추가적으로, 인간 GDF15의 용해도는 운반제 대조 완충액 (1xPBS)에서 0.2 mg/mL보다 적은 반면, 융합 분자는 용해도가 운반제 대조 완충액 (1xPBS)에서 50 mg/mL보다 많게 향상되었다.
- [0346] 도면 2에서 묘사된 바와 같이, 0.04 mg/kg, 0.12 mg/kg, 0.4 mg/kg과 1.2 mg/kg의 분량에서 융합 분자의 투여 는 운반제 대조와 비교하여, 체중 (도면 2a), 식품 섭취 (도면 2b), 그리고 비공복 혈당 (도면 2c)에서 유의미 한 향상을 유발하였다. 각 생쥐 군에서, $n = 7$ 및 p -값 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)은 각 특정된 시 점에서, 다양한 농도에서 체중, 식품 섭취와 혈당 군을 운반제 대조 군과 비교하는 스튜던트 비대칭 t 검증에 의해 결정되었다.
- [0347] 도면 2a를 참조하면, 운반제 대조의 투여후 22 일 (PBS-주사된 *ob/ob* 생쥐 (52.5 g))과 비교하여, 지정된 분량 에서 융합 분자의 투여후 22 일은 다음의 체중 감소를 유발하였다: 0.04 mg/kg 분량 군의 경우에 3.2% (ns)의 퍼센트 감소를 포함하는 1.7 g의 감소; 0.12 mg/kg 분량 군의 경우에 3.5% (ns)의 퍼센트 감소를 포함하는 1.8 g의 감소; 0.40 mg/kg 분량 군의 경우에 3.6% (*, $p < 0.05$)의 퍼센트 감소를 포함하는 1.9 g의 감소; 그리고 1.2 mg/kg 분량 군의 경우에 6.1% (**, $p < 0.01$)의 퍼센트 감소를 포함하는 3.2 g의 감소.
- [0348] 운반제 대조 또는 지정된 분량에서 융합 분자가 투여된 *ob/ob* 생쥐에서 식품 섭취 (그램/동물/일)는 투여후 22 일 관찰 기간 동안 다양한 시점에서 사정되었다. 도면 2b에서 9-15 일 기간을 참조하면, 운반제 대조 (PBS) -주 사된 *ob/ob* 생쥐 (7.88 g/동물/일)에 비하여 평균 식품 섭취는 다음과 같았다: 0.04 mg/kg 분량 군의 경우에 3.0% (ns)의 퍼센트 감소를 포함하는 줄어든 0.24 g/동물/일의 평균 식품 섭취; 0.12 mg/kg 분량 군의 경우에 11.7% (ns)의 퍼센트 감소를 포함하는 줄어든 0.92 g/동물/일; 0.40 mg/kg 분량 군의 경우에 21.5% (*, $p < 0.01$)의 퍼센트 감소를 포함하는 줄어든 1.70 g/동물/일; 그리고 1.2 mg/kg 분량 군의 경우에 29.3% (**, $p < 0.01$)의 퍼센트 감소를 포함하는 줄어든 2.31 g/동물/일.
- [0349] 운반제 대조 또는 지정된 분량에서 융합 분자가 투여된 *ob/ob* 생쥐에서 비공복 혈당 (mg/dL)이 다양한 시점에서 투여후 22 일 관찰 기간 동안 사정되었다. 도면 2c를 참조하면, 운반제 대조 (PBS) -주사된 *ob/ob* 생쥐 (8 일자 = 357.4 mg/dL)에 비하여, 8 일자에 비공복 혈당 수준은 0.04 mg/kg 분량 군의 경우에 1.1% (ns)의 퍼센트 감 소를 포함하는 3.9 mg/dl의 감소; 0.12 mg/kg 분량 군의 경우에 17.5% (ns)의 퍼센트 감소를 포함하는 62.7 mg/dL의 감소; 0.40 mg/kg 분량 군의 경우에 29.7% (*, $p < 0.05$)의 퍼센트 감소를 포함하는 106.1 mg/dL의 감소; 그리고 1.2 mg/kg 분량 군의 경우에 53.5% (**, $p < 0.01$)의 퍼센트 감소를 포함하는 191.1 mg/dL의 감소를 증명 하였다.
- [0350] 도면 2에서 데이터는 GDF15와의 HSA 융합이 활성이고, 그리고 이런 융합 분자가 GDF15 돌연변이단백질의 일정한 유익한 성질을 증강하기 위한 실행가능한 접근법을 나타낸다는 것을 증명한다. 상기 데이터는 또한, 지정된 파

라미터의 측정이 돌연변이단백질의 고처리량 선별검사를 위한 플랫폼으로서 유용할 수 있다는 것을 지시한다.

[0351] **실시예 2: 표면 소수성의 감소에 의한 GDF15 성질의 향상**

[0352] 성숙 인간 GDF15의 물리적 성질 (가령, 용해도와 안정성)을 향상시키기 위한 수단을 확인하려는 노력에서, 표면-접근가능한 것으로 예측된 한 세트의 6개 소수성 잔기는 표면 소수성을 증가시키는 수단으로서 알라닌으로 돌연변이되었다.

[0353] 융합 분자가 산출되었는데, 여기서 6개의 GDF15 돌연변이단백질 서열 각각이 도면 1h에서 묘사된 링커 (비개열 가능한 3x(4Gly-Ser) 링커; (서열 번호:64))를 통해 HSA에 융합되었다; 도면 3에서 진술된 서열은 융합 분자의 HSA 성분뿐만 아니라 링커 성분을 묘사하지 않는다.

[0354] 이들 융합 분자는 이후, 분비된 이황화 연결된 동종이합체로서 발현에 대해 모니터링되었다. 도면 4는 각 융합 분자에 대한 데이터를 요약한다. 첫 2개의 칼럼은 돌연변이된 성숙 인간 GDF15의 잔기를 확인하고, 세 번째 칼럼은 알라닌에 의해 치환된 선천적 잔기를 확인하고, 그리고 네 번째 칼럼은 각 결과의 융합 분자가 분비된 이합체로서 발현되는 지를 지시한다. 6개 소수성-감소 돌연변이단백질 중에서 5개는 이황화 연결된 동종이합체로서 발현되고 분비되고, 그리고 물리적 성질에서 향상에 대해 더욱 평가되었다 (w65는 동종이합체로서 발현되지 않았고 더 이상 추구되지 않았다).

[0355] **실시예 3: 향상된 용해도 특징을 갖는 인간 GDF15 돌연변이단백질**

[0356] 실시예 2에서 진술된 데이터는 성숙 인간 GDF15에 내재하는 표면 소수성과 연관된 용해 한계를 해소하는데 이용되었다. 이에 더하여, 성숙 인간 GDF15의 서열을 따라서 N-연결된 당화 공통 부위(들)를 도입하는 용해도에 대한 효과가 평가되었다.

[0357] 용해도의 사정 및 생체내 효능의 결정을 용이하게 하기 위해, 성숙, 재조합 인간 GDF15와 GDF15 돌연변이단백질은 인자 Xa 소화를 이용하여 HSA 샤프롱으로부터 GDF15 또는 GDF15 돌연변이단백질의 절제를 허용하는 인자 Xa 단백질분해-민감한 링커 (2x(4Gly-Ser) 인자 Xa 개열가능한 링커 (서열 번호:56); 도면 1f에서 설명된 바와 같음)를 내포하는 N 말단 HSA 융합 분자로서 작제되었다. 성숙, 재조합 인간 GDF15와 GDF15 돌연변이단백질은 또한, IgK를 hGDF15의 성숙 112개 아미노산 서열 (도면 1b) 또는 관심되는 돌연변이단백질 서열과 직접적으로 융합된 신호 펩티드로서; 또는 N 말단 메티오닌을 갖는 돌연변이단백질의 세균 재조합으로서 활용하여 작제되었다. 용해도 사정은 돌연변이단백질의 용해도에서 향상이 성숙 인간 GDF15 (이것은 1X PBS에서 <0.2mg/mL의 최고 관찰된 용해도를 갖는다)에 비하여 사정될 수 있는 엄격한 완충액, 1X PBS에서 수행되었다.

[0358] 용해도의 사정은 흡광 계수 (성숙 인간 GDF15 = 14,400/단위체) 및 분자량 (성숙 인간 GDF15 = 12,278Da/단위체)을 이용하여 계산된 베에르의 법칙을 이용하여 280nm에서 흡광도에 기초하여 결정되었다. 돌연변이단백질은 그들의 용해도 수준에 따라 5가지 군 중에서 한 가지로 분류되었다: 0.0 - 0.2mg/mL = +; 0.2 - 0.5mg/mL = ++; 0.5 - 1.0mg/mL = +++; 1.0 - 5.0mg/mL = ++++; 그리고 >5.0mg/mL = +++++.

[0359] 도면 5에서 진술된 GDF15 돌연변이단백질 중에서 5개 (w29, w32, w52, w68과 w89)의 표면 소수성의 감소는 소수성 잔기의 알라닌으로의 선별적인 돌연변이유발에 의해 사정되었다. 성숙 인간 GDF15에 대한 이들 5개 돌연변이단백질의 상대적 용해도의 비교는 w52와 w89가 성숙 인간 GDF15 (+)에 비하여 향상된 용해도 (++)를 전시하는, 이러한 부류에서 유일한 돌연변이단백질이라는 것을 지시하였다. 다른 3개의 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15와 동일한 범위 내에 용해도를 전시하였다.

[0360] 인간 GDF15의 표면 친수성의 감소는 산성 잔기의 알라닌으로의 선별적인 돌연변이유발에 의해 사정되었는데, 5개 서열은 도면 5에서 표시되고 차후에 요약된다: w113, w114, w115, w116과 w117. 성숙 인간 GDF15에 대한 이들 5개 돌연변이단백질의 상대적 용해도의 비교는 w116이 성숙 인간 GDF15 (+)에 비하여 향상된 용해도 (++)를 전시하는, 이러한 부류에서 유일한 돌연변이단백질이라는 것을 지시하였다. 다른 4개의 돌연변이단백질 중에서, w113과 w115는 성숙 인간 GDF15와 동일한 범위 내에 용해도를 전시하였고, 반면 돌연변이단백질 w114와 w117은 이용된 조건 하에 불용성이었다.

[0361] 그 다음, 성숙 인간 GDF15 서열은 N-연결된 당화 공통 부위(들)의 도입을 수용하는 능력에 대해 사정되었다. 이러한 문맥에서, 단일 아미노산 치환은 성숙 인간 GDF15 서열 내에 필요한 공통 부위를 부여할 것인데, N-연결된 당화를 위한 공통 부위는 "Asn-Xxx-Ser/Thr"로서 규정되고, 여기서 "Xxx"는 프롤린 잔기일 수 없다. 성숙 인간 GDF15 서열의 스캔에 기초하여, N-글리칸 공통 부위의 도입을 수용하는 14개 가능한 단일-점 돌연변이단백질이 확인되었다. 도면 6은 14개 모노-당화 돌연변이단백질뿐만 아니라 추가 조합 디-당화 돌연변이단백질의 서열을

묘사한다.

- [0362] 용해도에 대해 사정되기 전에, 도면 6에서 진술된 각각의 가공된 N-글리칸 돌연변이단백질은 포유류 조직 배양 배지 내로 접합된 GDF15 동종이합체로서 분비 및 N-글리칸 부위 점유 둘 모두에 대해 평가되었다. 도면 7에서 진술된 바와 같이, 14개 모노-당화된 돌연변이단백질 중에서 10개는 접합된 GDF15 동종이합체로서 분비되었고, 반면 돌연변이단백질 w123, w125, w127과 w129는 이합체 형성을 유발하지 않았다. 동종이합체로서 분비된 이들 10개 모노-당화 돌연변이단백질은 이후, 공통 부위에서 N-글리칸 기의 점유를 결정하기 위해 LC/MS 및 SDS-PAGE 겔 이동에 의해 사정되었다; 이들 돌연변이단백질 중에서 2개 (w121과 w124)는 낮은 점유를 전시하였고 그들의 용해도가 차후에 평가되지 않았다.
- [0363] 동종이합체로서 분비될 뿐만 아니라 공통 부위 내에 높은 글리칸 점유를 소유하는 가공된 N-글리칸 GDF15 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15에 비하여 용해도에 향상에 대해 모니터링되었다. 도면 8a에서 표시된 바와 같이, 원심 검정 형식을 이용하여 사정된 각각의 N-글리칸 GDF15 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하였다: w118: +++; w120: ++++; w122: ++; w126: ++++; w128: ++++; w130: ++++; w131: ++++; w132n: ++++; w133: ++++; w134: ++++; w135: +++++; w136: ++++; w137: ++++; w138: +++++; w139: +++++; 그리고 w140: +++++. +++++. 도면 8b에서 표시된 바와 같이, 혼탁도 검정 형식을 이용하여 사정된 각각의 N-글리칸 GDF15 돌연변이단백질은 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하였다: w120: ++++; w122: ++; w126: ++++; w128: ++++; w130: +++++; w131: ++++.
- [0364] 급성 생체내 효능은 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하는 인간 모노-당화된 GDF15 돌연변이단백질에 대해 확증되었다.
- [0365] 도면 9a를 참조하면, 7-15 주령 수컷 *ob/ob* 생쥐 ($n = 7$)에 성숙 인간 GDF15 또는 N-글리칸 돌연변이단백질의 단일 0.3 mg/kg 분량의 피하 투여 이후에, 16-시간 하룻밤 기간에 걸쳐 식품 섭취 (그램/동물)가 운반제 (PBS) 대조 군에 비하여 모니터링되었다. 생쥐의 3가지 코호트가 평가되고, 그리고 p-값이 비대칭 스튜던트 t 검증에 의해 결정되었다.
- [0366] 도면 9a에 나타나 있는 바와 같이, 생쥐의 첫 번째 코호트에서, 식품 섭취는 성숙 인간 GDF15 분량 군의 경우에 평균 0.82 g/동물 줄어들고 (17.3%의 퍼센트 감소 (**, $p < 0.001$)); w120 분량 군의 경우에 0.16 g/동물 줄어들고 (3.4% (ns)의 퍼센트 감소); w128 분량 군의 경우에 0.87 g/동물 줄어들고 (18.3%의 퍼센트 감소 (**, $p < 0.001$)); w130 분량 군의 경우에 0.77 g/동물 줄어들고 (16.2%의 퍼센트 감소 (**, $p < 0.001$)); 그리고 w131 분량 군의 경우에 0.45 g/동물 줄어든다 (9.4%의 퍼센트 감소 (*, $p < 0.05$)). 운반제 대조 분량 군에 대한 평균 식품 섭취는 4.76 g/동물이었다.
- [0367] 도면 9a에서 도시된 생쥐의 두 번째 코호트의 경우에, 식품 섭취는 야생형 인간 GDF15 분량 군의 경우에 평균 0.77 g/동물 줄어들고 (17.1%의 퍼센트 감소 (*, $p < 0.05$)); w118 분량 군의 경우에 0.35 g/동물 줄어들고 (7.9% (ns)의 퍼센트 감소); 그리고 w126 분량 군의 경우에 0.59 g/동물 줄어든다 (13.0%의 퍼센트 감소 (*, $p < 0.05$)). 운반제 대조 분량 군에 대한 평균 식품 섭취는 4.53 g/동물이었다.
- [0368] 도면 9a에서 도시된 생쥐의 세 번째 코호트의 경우에, 식품 섭취는 야생형 인간 GDF15 분량 군의 경우에 평균 1.10 g/동물 줄어들고 (23.4%의 퍼센트 감소 (**, $p < 0.001$)); 그리고 w122 분량 군의 경우에 1.29 g/동물 줄어든다 (27.4%의 퍼센트 감소 (**, $p < 0.001$)). 운반제 대조 분량 군에 대한 평균 식품 섭취는 4.70 g/동물이었다.
- [0369] 도면 9b를 참조하면, 단일 1.0 mg/kg 분량의 PBS 운반제의 8-시간 빠른, 피하 투여 이후에, 성숙 인간 GDF15 또는 N-글리칸 돌연변이단백질이 17 주령 수컷 DIO 생쥐 ($n = 9$)에 제공되었다. 16-시간 하룻밤 기간에 걸쳐 재사양 이후에 식품 섭취 (그램/동물)가 운반제 (PBS) 대조 군에 비하여 모니터링되었다. P-값은 비대칭 스튜던트 t 검증에 의해 결정되었다. 도면 9b를 참조하면, 식품 섭취 감소는 PBS 운반제에 비하여 모니터링되고 보고된다. 성숙 인간 GDF15 분량 군 (**; $p = 0.0000003$), w122 (**; $p = 0.000006$), w120 (**; $p = 0.00003$), w118 (**; $p = 0.000001$), w126 (**; $p = 0.000008$), w128 (ns; $p > 0.05$), w130 (**; $p = 0.0000005$) 및 w131 (ns; $p > 0.05$).
- [0370] 실시예 4: 가공된 N-글리칸 GDF15 돌연변이단백질의 분석적 겔 여과 분석
- [0371] GDF15 N-글리칸 돌연변이단백질의 수력학적 반지름은 분석적 겔 여과 크로마토그래피를 활용하여 성숙 인간

GDF15에 비하여 사정되었다 (도면 10 참조). 1mL/분의 유속에서 1X 인산염 완충된 식염수에서 전평형화된 TOSOH Biosciences TSKgelG3000SW_{XL} (7.8 mm ID X 30 cm, 5 μm) 분석적 크기산정 칼럼이 평가에서 이용되었다. 2 μg의 각 GDF15 돌연변이단백질이 20 μL 부피 (0.1 mg/mL)에서 주사되고, 그리고 용리 횟수가 280 nm에서 계측에 의해 벨-모양 곡선의 용리 동안 최고 흡광도에서 기록되었다.

[0372] 성숙 인간 GDF15의 분석적 겔 여과 크로마토그래피는 10.837 분에서 용리하는 비응집된, 이황화 연결된 동종이합체를 지시하였다 (도면 10). 각각의 N-연결된 글리칸 돌연변이단백질은 인간 GDF15 이황화 연결된 이합체의 수력학적 반지름을 증가시켰다. 따라서, 각 돌연변이단백질은 예로서, 우호적인 생체내 반감기를 갖는 분자를 산출하기 위한 출발점으로서 잠재적으로 역할할 수 있다.

[0373] **실시예 5: HSA를 용합 상대로서 활용하는 GDF15 오르소로그의 발현**

[0374] 실시예 5에서 진술된 데이터는 GDF15 오르소로그 및 다른 BMP 패밀리 구성원의 발현과 정제를 위한 용합 상대로서 HSA의 유용성을 강조한다.

[0375] 도면 11a는 개열가능한 링커 (굵고 밑줄 그어짐; 서열 번호:56)를 통해 성숙 GDF15 생쥐 (*Mus musculus*) (굵음; 서열 번호:54)와 히말라야 원숭이 (*Macaca mulatta*) (굵음; 서열 번호:55)의 종 오르소로그의 N 말단에 융합된 IgK 신호 서열 (신호 서열 밑줄 그어짐; 서열 번호:53)을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열을 묘사한다. 도면 11b는 개열가능한 링커 (굵고 밑줄 그어짐; 서열 번호:61)를 통해 성숙 인간 TGF-β1 (굵음; 서열 번호:59)과 성숙 인간 BMP2 (굵음; 서열 번호:60)의 N 말단에 융합된 IgK 신호 서열 (신호 서열 밑줄 그어짐; 서열 번호:53)을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열을 묘사한다.

[0376] 생쥐 GDF15 (NP_035949.2)와 마카카 GDF15 (EHH29815.1)에 대한 프로파일은 이들이 HSA 융합체의 배경에서 접힘된 동종이합체로서 발현되고 정제되었다는 점에서, 인간 GDF15에 대해 관찰된 것을 반영하였다. 정제된 HSA 융합 구조체의 인자 Xa 개열 및 GDF15 오르소로그의 방출/정제는 인간 서열의 물리적 성질에 동등한 물리적 성질을 갖는 동종이합체를 드러냈다 (데이터 제시되지 않음). 인간 서열에 비하여 생쥐와 마카카 GDF15 분자 각각에 대한 성숙 형태의 상동성은 각각 67%와 95%인데, 이것은 HSA 융합 분자 원형이 GDF15 융합 상대에서 서열 다양성을 수용할 수 있다는 것을 지시한다.

[0377] 접힘과 분비 성질은 패밀리 구성원, 예를 들면, BMP 부류 및 TGF-β 부류의 분자에 대해 인간 GDF15에 비하여 더욱 낮은 상동성 서열을 위해 변경되는 것으로 보였다. 실제로, 발현이 인간 GDF15, 생쥐와 마카카 GDF15에 대해 견실한 분비를 위해 HSA 원형에서 시도되었을 때; 인간 BMP2 (인간 GDF15에 비하여 27% 서열 동일성) 및 인간 TGF-β1 (인간 GDF15에 비하여 22% 서열 동일성)은 불량한 접힘과 분비 성질을 전시하였다 (도면 12).

[0378] 완전히 기능적 및 생물학적으로 활성 분자로서 발현되고 분비되는 인간 GDF15의 능력은 인간 GDF15에 45% 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 (가령, 예로서 생쥐와 마카카 GDF15)를 이용하여 달성될 수 있다. 가변적 길이와 조성의 링커를 내포하는 인간 GDF15 (또는 밀접하게 관련된 분자)의 N 말단에 융합된 HAS를 발현하고 정제하는 능력은 GDF15의 약학적 성질, 예를 들면, 용해도, 발현 프로파일, 조제와 안정성에 유익한 향상에 대한 직접적인 함의를 갖는다.

[0379] **실시예 6: 향상된 물리적 성질을 위한 가공을 허용하는 인간 GDF15 내에 돌연변이유발에 순응하는 잔기의 확인**

[0380] 포괄적인 알라닌 스캔이 수행되었는데, 여기서 인간 GDF15의 성숙 서열 내에 각 아미노산은 알라닌으로 개별적으로 돌연변이되었다 (GDF15의 시스테인-매듭 구조/접힘을 유지하기 위한 시스테인 잔기 제외). 각 돌연변이단백질에 대한 서열은 도면 13에서 진술되고, 그리고 발현 결과는 도면 14에서 상술된다. 도면 14에서 설명된 각 돌연변이단백질은 정제되고, 그리고 동종이합체성 접힘과 응집 상태를 비롯한 물리적 성질에 대해 사정되었다.

[0381] 알라닌 스캔의 결과는 인간 GDF15가 5개 돌연변이단백질을 제외하고 모든 잔기에서 돌연변이유발에 순응한다는 것을 지시하였다; w36, w46, w62, w65와 w83 (또는 부가적으로 도면 7에서 규정된 바와 같은 신규한 당화 공통 부위(들)의 도입: w123, w125, w127 또는 w129). 모든 다른 돌연변이단백질은 야생형 인간 GDF15에서와 유사한 방식으로 발현되고, 접힘되고, 분비되었다.

[0382] 본원에서 설명된 바와 같이 돌연변이유발을 수용할 수 있는 GDF15 내에 특정한 잔기의 확인은 향상된 물리적 성질을 갖는 GDF15 분자의 설계와 가공을 보조한다. 이들 성질에는 생체내 및/또는 시험관내 단백질분해의 원치 않는 부위; 및/또는 화학적 이질성, 예를 들면, 탈아미드화, 탈수, 숙신이미드 형성의 부위 및/또는 산화작용의 부위의 교정이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다; 이들은 약물 비활성화 및/또는 줄어든 활성을 야기할 수 있

다.

- [0383] 인간 GDF15의 성숙 서열의 가속된 안정성 연구 (데이터 제시되지 않음)로부터 발생하는 실험적으로 규정된 화학적 이질성은 부위 N3, Q40, Q51, N56, Q60, N84, Q90과 Q95에서 발생하는 탈아미드화 이벤트; 그리고 부위 W29, W32, M43, M57과 M86에서 발생하는 산화작용 이벤트의 증거를 증명하였다.
- [0384] 알라닌 스캔 및 돌연변이유발에 가용한 부위의 확인으로부터 결과는 증명된 화학적 이질성을 향상시키고 교정하기 위해, 가공된 구조체를 생산하는데 이용될 수 있다.
- [0385] 가령, 돌연변이원에 순응하는 부위의 확인은 GDF15의 성숙 서열 내에 N3에서 발생하는 탈아미드화 이벤트를 교정하는데 이용될 수 있다. 앞서 설명된 N3A 돌연변이에 의해 예시된 바와 같이 N3이 손상 없이 돌연변이유발에 순응한다는 것이 증명되었기 때문에, 다른 아미노산이 이러한 부위, 예를 들면, N3Q, N3E, N3T 또는 N3S에서 치환될 수 있다고 예상하는 것은 합리적이다. 치환에 적합한 아미노산은 예로서, 인간 GDF15와 비-인간 오르소로그 (가령, 북부큰갈라고 (*Otolemur garnettii*) (XP_003796612.1; 가령, N3T) 또는 고양이 (*Felis catus*) (XP_003982125.1; 가령, N3S)의 정렬에 의해 확인될 수 있다. 최종적으로, N3에서 탈아미드화 이벤트는 위치 3에서 비정상적인 아스파르트산염 잔기를 창출하고, 이것은 탈아미드화 이벤트의 C 말단 (즉, Asp-Gly 부위)에 직접적으로 G4의 존재로 인해 이소-아스파르트산염 이성화를 야기할 수 있었다. 부위 N3에서 탈아미드화는 이성화 상대 Gly를 Pro로 돌연변이 (G4P)시켜 Asp-Gly 짝짓기를 교란함으로써 예방될 수 있었다. 추가적으로, 탈아미드화는 D5의 D5T 또는 D5S로의 돌연변이유발에 의해 N3에서 N-연결된 당화 부위의 창출을 통해 감소될 수 있다. 게다가, 탈아미드화는 첫 3개 잔기 ($\Delta A1-N3$), 4개 잔기 ($\Delta A1-G4$), 5개 잔기 ($\Delta A1-D5$), 6개 잔기 ($\Delta A1-H6$) 또는 그 이상의 제거에 의한 성숙 GDF15의 N 말단의 절두에 의할 수 있다.
- [0386] 앞서 설명된 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 결과에 기초하고, 그리고 부위 N3에 적용된 바와 유사한 분석을 적용하여, 인간 GDF15의 성숙 서열 내에서 비균질성의 다른 관찰된 부위에 교정 돌연변이에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다: N3A, N3Q, N3E, N3S, N3T, G4P, D5S, D5T, Q40A, Q40E, Q40D, Q40H, M43A, M43V, M43F, Q51A, Q51E, Q51L, Q51H, N56A, N56S, M57A, M57I, M57T, Q60A, Q60L, N84A, N84E, N84Q, N84T, M86A, M86V, Q90A, Q90E, Q90E, Q90H, Q95A, Q95E, Q95D, Q95H, Q95T, Q95S.
- [0387] 실시예 6에서 진술된 데이터는 비개열가능한 링커로 성숙 GDF15의 N 말단에 융합된 HSA를 포함하는 융합 단백질로서 발현될 때, GDF15의 접힘 또는 분비에 유의미하게 충격을 주지 않도록 돌연변이유발에 순응하는 잔기를 강조하였다.
- [0388] **실시예 7: GDF15의 N 말단 융합을 포함하는 용해도 향상된, 반감기 연장된 분자의 발현.**
- [0389] 성숙 인간 GDF15의 N 말단에 유전자 융합을 도입하는 용해도에 대한 효과가 평가되었다. 실시예 7에서 진술된 데이터는 도면 15a에서 개략적으로 묘사되고 도면 15b - 15e에서 진술된 아미노산 서열을 갖는 여러 융합 구조체를 이용하여 산출되었다.
- [0390] 도면 15b는 3X(Glu-3Gly-Ser) 링커 (굵고 밑줄 그어짐)를 통해 성숙 GDF15 (굵음)의 N 말단에 융합된 신호 서열 (밑줄 그어짐) - Fc를 포함하는 융합 분자이다;
- [0391] 도면 15c는 신호 서열 [밑줄 그어짐] -(Fc(+)-3X(Glu-3Gly-Ser)-GDF15와 Fc(-)를 내포하는 Fc(+)/GDF15/Fc(-) 하전된 쌍)을 포함하는 융합 분자이고, 여기서 Fc(+)/GDF15/Fc(-) 하전된 쌍은 도면 15c에서 굵고 밑줄 그어진 Fc 도메인 내에 음성 전하 돌연변이 (K392D와 K409D)를 내포하는 Fc(-) 도메인으로 동시형질감염될 수 있는, 도면 15c에서 굵고 밑줄 그어진 Fc 도메인 내에 양성 전하 돌연변이 (D356K와 D399K)를 내포하는 Fc(+)/GDF15 융합체로서 설계되었다.
- [0392] 도면 15d는 5XGly 링커 (굵고 밑줄 그어짐)를 통해 GDF15 (굵음)의 N 말단에 융합된 알부민 결합 도메인 (ABD)을 포함하는 융합 분자이다; N 말단 메티오닌은 밑줄 그어진다.
- [0393] 도면 15e는 엔테로키나아제-개열가능한 5XGly 링커 (굵고 밑줄 그어짐)를 통해 GDF15 (굵음)의 N 말단에 융합된 신호 서열 (밑줄 그어짐) - 말토오스 결합 도메인 (MBD)을 포함하는 융합 분자이다.
- [0394] 앞서 설명된 융합 구조체를 참조하면, Fc와 MBD를 내포하는 것들은 일시적으로 형질감염된 293 세포 배양액으로부터 직접적으로 정제되었다. ABD 융합체는 세균으로 발현된 봉입체로부터 성숙 GDF15의 것과 유사한 방식으로 발현되고 정제되었다.
- [0395] 동종이합체성 Fc 융합 구조체 (FcGDF15)의 경우에, 관찰된 분리된 형태는 배양 배지에서 고분자량 산화된 응집

체로 구성되었다. 이러한 관찰된 응집을 회피하기 위해, Fc(+)GDF15/Fc(-) 하전된 쌍은 Fc 도메인 내에 음성 전하 돌연변이 (K392D와 K409D)를 내포하는 Fc(-) 도메인으로 동시형질감염될 수 있는, Fc 도메인 내에 양성 전하 돌연변이 (D356K와 D399K)를 내포하는 Fc(+)GDF15 융합체로서 설계되었다.

[0396] ABD-GDF15, MBD-GDF15와 인간 GDF15 (대조)의 용해도 사정은 돌연변이단백질의 용해도에서 항상성이 성숙 인간 GDF15 (이것은 <0.2mg/mL의 최대 용해도를 갖는다)에 비하여 사정될 수 있는 엄격한 완충액, 1X PBS에서 수행되었다. 용해도의 사정은 각 개별 융합 분자에 대한 흡광 계수와 분자량을 이용하여 계산된 베에르의 법칙을 이용하여 280nm에서 흡광도에 기초하여 결정되었다. A280 농도는 BSA 표준 대조에 비하여 595nm에서 Bradford 단백질 쿠안트 (quant)로 측정되었다. 융합 분자는 그들의 용해도 수준에 따라 5가지 군 중에서 한 가지로 분류되었다: 0.0 - 0.2mg/mL = +; 0.2 - 0.5mg/mL = ++; 0.5 - 1.0mg/mL = +++; 1.0 - 5.0mg/mL = ++++; 그리고 >5.0mg/mL = +++++. 사정된 각각의 발현되고 정제된 융합 분자는 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하였다: hGDF15: +; ABD-GDF15: +++++; MBD-GDF15: ++++ (도면 16 (패널 A) 참조).

[0397] 15 일에 걸쳐 체중에서 감소는 성숙 인간 GDF15와 비교하여 향상된 용해도를 전시하는 ABD 융합체에 대해 생체 내에서 입증되었다. 10 주령 수컷 *ob/ob* 생쥐 (n = 6) 내로 단일 3 mg/kg 분량의 ABD-GDF15의 피하 투여 이후에, 15 일 기간에 걸쳐 체중 (그램/동물)이 운반체 대조 군에 비하여 모니터링되고, 그리고 p-값이 이원 변량분석 분석에 의해 결정되었다 (* = p<0.05; ** = P<0.01; *** = p<0.001). ABD-GDF15의 경우에, 체중에서 유의미한 감소가 15 일자에 관찰되었는데, 이것은 연장된 효능을 갖는 분자를 지시한다. 2 주에 걸쳐 취해진 시점에서 0.3 mg/kg과 3 mg/kg 분량에서 피하 투여되고 모니터링된 *ob/ob* 생쥐에서 ABD-GDF15 분자의 추적 PK 프로파일링 (데이터 제시되지 않음)은 54.2 시간 (0.3 mg/kg)과 28.4 시간 (3 mg/kg)의 T1/2를 증명하였다 (도면 16 (패널 B) 참조).

[0398] **실시예 8: 오리너구리 GDF15 오르소로그 재조합 단백질의 발현 및 DIO 생쥐에서 식품 섭취와 체중에 대한 효과**

[0399] 실시예 8에서 진술된 데이터는 신호 펩티드 및 퓨린-개열가능한 프로도메인을 이용한 생물학적으로 활성 GDF15 오르소로그의 구성과 발현의 유용성을 예증한다.

[0400] 성숙 오리너구리 GDF15 (오리너구리 (*Ornithorhynchus anatinus*) (Oa); AFV61279)는 도면 17a에서 묘사된 구조체를 이용하여 본원에서 설명된 바와 같이 재조합적으로 생산되었다. 성숙 오리너구리 GDF15 폴리펩티드는 성숙 인간 GDF15 폴리펩티드에 ~45% 동일성을 전시한다.

[0401] 하루밤 식품 섭취와 체중 감소에 대한 효과는 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3과 1.0 mg/kg의 성숙 OaGDF15의 단일, 피하 분량 이후에 17 주령 DIO 생쥐 (n=8)에서 결정되었다. 비록 성숙 오리너구리 GDF15 폴리펩티드가 성숙 인간 GDF15 폴리펩티드에 단지 45% 서열 동일성만을 전시하지만, 각각 복용전 대 복용후 24의 차이에 기초하여, 식품 섭취 감소 (OaGDF15 = 0.03 mg/kg; hGDF15 = 0.04 mg/kg) 및 체중 감소 (OaGDF15 = 0.04 mg/kg; hGDF15 = 0.01 mg/kg)에 대한 유사한 생체내 효과가 관찰되었다 (도면 17b 참조 (인간 GDF15에 대한 결합 곡선은 도시되지 않는다)).

[0402] 본 발명을 실행하기 위한 본 발명자들에게 공지된 최적 방식을 비롯하여, 본 발명의 특정 구체예가 본원에서 설명된다. 진술한 설명을 읽은 후에, 개시된 구체예의 변이는 당업자에게 명백해질 수 있고, 그리고 당업자는 타당하면 이런 변형을 이용할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서, 본 발명은 본원에서 특이적으로 설명된 것과 달리 실시될 수 있고, 그리고 본 발명은 근거 법률에 의해 허용되는, 여기에 첨부된 청구항 내에 언급된 요부의 모든 변형과 등가물을 포함하는 것으로 의도된다. 게다가, 모든 가능한 변이에서 상기-설명된 원소의 임의의 조합은 본원에서 달리 지시되지 않으면 또는 문맥에 의해 달리 명백하게 부인되지 않으면 본 발명에 의해 포괄된다.

[0403] 본 명세서에서 인용된 모든 간행물, 특허 출원, 수탁 번호, 그리고 다른 참고문헌은 마치 각 개별 간행물 또는 특허 출원이 참조로서 편입되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 지시되는 것처럼 본원에 참조로서 편입된다.

도면

도면1a

인간 GDF15 전구체 아미노산 서열 (GenBank 수탁 번호 NP_004855.2; 서열 번호 1)

```

1  MPGQELRTVN  GSQMLLVLLV  LSWLPHGGAL  SLAEASRAS  PGPSELHSED  SRFELRKRY
61  EDLLIRLRAN  QSWEDSNTDL  VPAPAVRILT  PEVLGSGGH  LHLRISRAAL  PEGLPEASRL
121  HRALFRLSPT  ASRSWDVTRP  LRRQLSLARP  QAPALHLRLS  PPPSQDQLL  AESSSARPQL
181  ELHLRPQAAH  GRRRARARNG  DHCPLPGRC  CRLHTVRASL  EDLGWADWVL  SPREVQVTMC
241  IGACPSQFRA  ANMHAQIKTS  LHRLKPDTP  APCCVPASYN  PMVLIQKIDI  GVSLSQTYDDL
301  LAKDCHCI

```

인간 GDF15 전구체 핵산 서열 (GenBank 수탁 번호 NM_004864.2; 서열 번호 2)

```

1  AGTCCAGCT  CAGAGCCGCA  ACCTGCACAG  CCATGCCCGG  GCAAGAACTC  AGGACGGTGA
61  ATGGCTCTCA  GATGCTCTTG  GTGTGCTGG  TGCCTCTGIG  GCTGCCGCAI  GGGGGCGCCC
121  TGCTCTGGC  CGAGGCGAGC  CGCGCAAGIT  TCCGGGACC  CTCAGAGTIG  CACTCCGAAG
181  ACTCCAGAT  CCGAGAGTIG  CGGAACGCT  ACGAGGACCT  GCTAACGAG  CTGGGGCCA
241  ACCAGAGCTG  GGAAGATTGG  AACACCGACC  TCGTCCCGG  CCCTGCAGTC  CGGATACTCA
301  CGCCAGAAGT  GCGGCTGGGA  TCCGGCGGCC  ACCTGCACCT  GCGTATCTCT  CGGGCCGCC
361  TCCCGAGGG  GCTCCCGGAG  GCCTCCGGC  TTCACCGGG  TCTGTCGG  CTGTCCCGCA
421  CGCGTCAAG  GTCGTGGGAC  GTGACACGAC  CGCTGGGG  TCAGTTCAGC  CTTGCAAGAC
481  CCCAGGCGC  CGCGTGCAC  CTGCGACTGT  CGCCGCCGC  GTGCGAGTGG  GACCAACTGC
541  TGGCAGAATC  TTCGTCCGCA  CGGCCCCAGC  TGGAGTTGCA  CTTGGGGCG  CAAGCCGCCA
601  GGGGGCGCG  CAGAGCGCGT  GCGCGCAACG  GGGACCACTG  TCCGTCGGG  CCGGGCGT
661  GCTGCCGTCT  GCACACGGTC  CGCGCTCGC  TGGAGAGACT  GGGCTGGGC  GATTGGGTGC
721  TGTCGCCACG  GGAGGTGCAA  GTGACCATGT  GCATCGGCG  GTGCCGAGC  CAGTCCGGG
781  CGGCAACAT  GCACGCGCAG  ATCAAGACGA  GCCTGCACCG  CCTGAAGCC  GACACGGTGC
841  CAGCGCCCTG  CTGCGTGCCC  GCCAGTACA  ATCCATGGT  GCTCATTCAA  AAGACCGACA
901  CCGGGGIGIC  GCTCCAGACC  TATGATGACT  TGTAGCCAA  AGACTGCCAC  TGCATATGAG
961  CAGTCTGTGI  CCTTCCACTG  TGCACCTGCG  CGGAGGACGC  GACCTCAGTI  GTCCTGCCCT
1021  GTGGAATGGG  CTCAGGTTTC  CTGAGACACC  CGATTCCCTG  CCAACAGCT  GTATTATAT
1081  AAGTCTGTTA  TTATATATTA  ATTATATGGG  GTGACCTTCT  TGGGGACTCG  GGGCTGGTC
1141  TGATGGAAC  GTGTATTAT  TTAATACTCT  GGTGATAAAA  ATAAAGCTGT  CTGAACTGTT
1201  AAAAAAAA  AAAAAAAA

```

도면1b

성숙 인간 GDF15 아미노산 서열 (GenBank 수탁 번호 NP_004855.2; 서열 번호:3)

ARNGDHCPILGPGRCRLHTVRSLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNFMVLIQKTDGTGVSLL
QTYDDLLAKDCHCI

성숙 인간 GDF15 핵산 서열 (GenBank 수탁 번호 NM_004864.2; 서열 번호:4)

GCCTGTACGGGGATCACTGTCCGCTCGGGCCCGGGCGTTGCTGCCGCTGTGCACACGGTCCGCGCGT
CCCTGGAAGACCTGGGCTGGCCGATTGGTCTGTCCGACGGGAGTGCAAGTGACCATGTGCATCGG
CGGTGCTCCGAGCCAGTCCGGGGCGCAACATGCACGCGCAGATCAAGACGAGCTGCACCGCTGAAG
CCCGACACGGTGCCAGCGCCCTGTGCTGCGCCGCCAGTACAAATCCCATGGTGCTCATTTCAAAGACCG
ACACCGGGGTGTGGCTCCAGACCTATGATGACTTGTAGCCAAAGACTGCCACATGCATATAA

도면1c

전구체 (내인성 신호 펩티드와 작은 프로도메인)와 성숙 인간 혈청 알부민의 아미노산 서열 (GenBank 수탁 번호
 AAA98797.1; 서열 번호:5)

MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDDAHKSEVAHREKDLGEENFKALVLIAPAOYLQOCFFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKL
 CTVAITLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYEIIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAFTTECCQAA
 DKAACLLPKLDELREDEKASSAKORLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCCHGDLLECADRADLAKYICENQDS
 ISSKLKECCCKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYETITLEKCCCAADPHE
 CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVWLNQLCVLHEK
 TPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETTFHADICILSEKERQIKKQITALVELVKKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDK
 ETCFAEEGKKLVAASQAALGL

도면1ca

도면 1C, 계속

전구체 (내인성 신호 펩티드와 작은 프로도메인)와 성숙 인간 혈청 알부민을 인코딩하는 DNA 서열 (GenBank 수탁 번호 NM_000477.5; 서열 번호 6)

```

1  agtatattag  tgcataatttc  cctcggtttg  tcttagcttt  tcttttctgt  caacccaca
61  cgcctttggc  acaatgaagt  gggtaacctt  tattccctt  ctttttctct  ttagctcggc
121  ttattccagg  ggtgtgtttc  gtcgagatgc  acacaagagt  gaggttgcct  atcggtttaa
181  agatttggga  gaagaaaatt  tcaaaagcctt  ggtgttgatt  gcctttgcct  agtatcttca
241  gcagtgtcca  ttggaagatc  atgtaaaatt  agtgaatgaa  gtaactgaat  ttgcaaaaac
301  atgtgttgct  gatgagtcag  ctgaaaattg  tgacaaatca  ottcataacc  tttttggaga
361  caaattatgc  acagttgcaa  ctcttcgtga  aacctatggt  gaaatggctg  actgctgtgc
421  aaaaacagaa  cctgagagaa  atgaatgctt  cttgcaacac  aaagatgaca  acccaacctt
481  ccccgattg  gtgagaccag  aggttgatgt  gatgtgaact  gcttttcatt  acaatgaaga
541  gacatctttg  aaaaaatact  tatatgaat  tgccagaaga  catccttact  tttatgcccc
601  ggaactctt  ttctttgcta  aaaggtataa  agctgctttt  acagaatgtt  gccaaagctgc
661  tgataaagct  gctgctgt  tgcctaaagt  cgtgaactt  cgggatgaag  ggaaggcttc
721  gtctgccaaa  cagagactoa  agtgtgccag  tctccaaaa  ttgggagaaa  gagctttcaa
781  agcatgggca  gtgctcgcc  tgagccagag  atttccaaa  gotgagttg  cagaagtctc
841  caagttagtg  acagatctta  ccaaagtcac  caggaatgc  tgccatggag  atctgttga
901  atgtgtgat  gacagggcgg  accttgccaa  gtatatctgt  gaaaatcaag  attcgatctc
961  cagttaactg  aaggaatgct  gtgaaaaacc  tctgttgga  aaatcccaat  gcattgccga
1021  agtggaaaat  gatgagatgc  ctgctgactt  gcttcatta  gctgctgatt  ttgttgaag
1081  taaggatgtt  tgcaaaaact  atgctgagcg  aaaggatgc  ttcttgggca  tgtttttgta
1141  tgaatatgca  agaaggcatc  ctgattactc  tgtgtgctg  ctgctgagac  ttgccaaagc
1201  atatgaaacc  actctagaga  agtgcgtgtg  cgtgcagat  cctcatgaat  gctatgccaa
1261  agtgttcgat  gaatttaaac  ctcttggtga  agagctcag  aatttaata  acaaaaattg
1321  tgagctttt  gagcagctg  gagatcaaa  attcagaat  gogctattag  ttcttacac
1381  caagaaagta  cccaagtgt  caactccaac  tctttagag  gtctcaagaa  acctagaaa
1441  agtgggcagc  aaatgttgta  aacatcctga  agcaaaaaga  atgacctgtg  cagaagaacta
1501  tctatccgtg  gtctgaacc  agttatgtgt  gttgcatgag  aaaaacgccc  taagtgcacag
1561  agtcaccaaa  tgctgcacag  aatccttgtt  gaaacggcga  ccattgcttt  cagctctgga
1621  agtcgatgaa  acatagcttc  ccaagaggtt  taatgtgaa  acattcacct  tccatgcaga
1681  tatatgcaca  ctltctgaga  aggagagaca  aatcaagaaa  caaactgcac  ttgttgagct
1741  cgtgaaacac  aagcccaagg  caacaaaaga  gcaactgaaa  gctgttatgg  atgatttcgc

```

도면1cb

도면 1C, 계속

```

1801 agcttttcta gagaaagtgt gaaaggtgt gataaggag acctgttttg ccgaggaggag
1861 taaaaaactt gttgctgcaa gtaagctgc ctaggctta taacatcaca tttaaaagca
1921 tctcagccta ccatgagat aagaaaaaga aatgaagat caaagctta ttcactgtt
1981 tttcttttct gttggtgtaa agcaaacacc ctgtctaaaa aacataaatt tcttaataca
2041 ttttgacctt tttctctgtg cttaaatata taaaaaatgg aaagaatcta atagagtgtg
2101 acagcactgt tattttcaa agatgtgtg ctatcctgaa aattctgtag gttctgtgga
2161 agttccagtg ttctctctta ttccacttcg gtagaggatt tctagtttct tgtgggctaa
2221 ttaataaat catataact cttctaaaaa aaaaaaaaaa aaaa
    
```

IgK 신호 펩티드와 성숙 인간 혈청 알부민의 아미노산 서열 (서열 번호:7)

```

MDMRVPAQLGLLLWLRGARCDAAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCT
VATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADK
AACLPLKLDLRDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERATKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSIS
SKLKECCCKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADVESKDVCKNVAAEKDVLGMFLYEVARRHPDYSVWLLRLAKTYETTLKCCCAADPHECY
AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALIVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKIP
VSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETVVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDDKET
CFAEEGKKLVAAASQAALGL
    
```

도면1cc

도면 1C, 계속

IgK 신호 펩티드와 성숙 인간 혈청 알부민을 인코딩하는 DNA 서열 (서열 번호 8)

ATGGACATGAGGTCCTCCCGCTCAGCTCCTGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTCCAGATGTGATGACACACAGAGTGAGGTTGCTCATCGGTT
TAAAGATTGGGAGAAGAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGGCTTTGCTCAGTATCTTCAGCAGTGTCCATTTGAAGATCATGTAAATTAGTGA
ATGAAGTAACTGAATTTGCAAAACATGTGTGCTGATGAGTCAGCTGAAAATTGTGACHAATCATTCAATCCCTTTTGGAGACAAATTAATGCACA
GTTGCAACTCTTCGTGAACCTATGGTGAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAGAACCTGAGAGAAATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAA
CCCAACCTCCCGGATTTGGTGAACCAAGAGTTGATGTGCACTGCTTTTCATGACAAATGAAGACATTTTGGAAAATATCTTTATATGAAA
TTGCCAAGACATCCTTACTTTTATGCCCGGAATCCTTTTCTTTGCTAAAAGTATAAAGCTGCTTTTACAGATGTTGCCAAGCTGCTGATAAA
GCTGCTGCTTGTCCCAAGCTCGATGAACTTCGGATGAAGGAAGGCTTCGCTGCGCAACACAGACATCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGG
AGAAAGACTTTCAAAGCATGGGCAGTAGCTCGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAAGCTGAGTTTGCAGAAGTTTCCAAAGTTAGTGACAGATCTTACCA
AAGTCCACACGGAAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGCTGATGACAGGCGGACCTTGCCAAAGTATATCTGTGAAATCAAGATTCGATCTCC
AGTAACTGAAGGAATGCTGTCAAAAACCTCTGTTGAAAAATCCCACTGCAATGCCGAATGGAAATGATGAGATGCCCTGCTGACTTGCTTCAAT
AGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCAAAACTATGCTGAGGCAAGGATGCTTCTTGGCATGTTTTGTATGATATATGCAAGAGGC
ATCCTGATTACTCTGCTGCTGCTGAGACTTGGCAAGACATATGAACCACTCTAGAGAGTGTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGATGCTAT
GCCAAGTGTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGAAGAGCCTCAGAAATTTAATCAACAAAAATTTGTGAGCTTTTGTAGCAGCTTGGAGAGTACAAAT
CCAGATGCGCTATTAGTTCGTTACACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCACTCCAACTCTGTAGAGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGGCAGCA
AATGTTGTAACATCCTGAAGCAAAAAGAAATGCCCTGTGCAAGAGCTATCTATCCGTGGTCCCTGAACCACTTATGTGTGCTGATGAGAAACGCCA
GTANGTGACAGAGTCAACAAATGCTGCACAGAAATCCTTGGTGAACAGGCGACCATGCTTTTCAGCTCTGGAAGTCGATGAACATACGTTCGCCAAGA
GTTTAAATGCTGAACATTCACCTTCCATGCAAGATATATGCACACTTCTGAGAGGAGAGACAAATCAAGAAACAAACTGCACCTGTTGTGAGCTCGTGA
AFCACAGGCCCAAGGCAACAAAGAGCAACTGAAGCTGTTATGATGATGATTTCCGAGCTTTGTAGAGAGTGTCTCAAGGCTGACGATAAAGGAGACC
TGCTTTTCCCGAGGAGGGTAAAAAACTTGTGTGCAAGTCAAGCTGCCCTTAGGCTTA

도면1e

프로테아제-민감성 개 열가능 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N-말단에 융합된 IgK 신호 서열을 갖는 HSA 아미노산 서열을 포함하는 융합 분자 (서열 번호:11)

MDMRVPAQLGLLLWLRGARCDAHKSEVAHRFKDLGFENFKALVLIATAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCT
VATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPNLPRLVVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTCCQAADK
AACLLPKLDELDRDEGKASSAKQRLKCA SLQKFGGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTCCCHGDLLECAADDRADLAKYICENQDSIS
SKLKECCERKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPFLAADFVESKDVCKNVAEAKDVF LGMFLYEVARRHPDYSWVLLRLAKTYETILEKCCAAADPHECY
AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPILVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMFCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTP
VSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKET
CFAEEGKKLVAAASQAALGLGGGGGGGGSTEGRARNGDHCPLGPGRCCLHTVTRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSL
HRLKPDVTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVSLSQTYDDILLAKDCHCI

도면1f

프로테아제-민감성 개 열가능 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N-말단에 융합된 성숙 HSA 아미노산 서열을 포함하는 융합 분자 (서열 번호:13)

DAHKSEVAHREFKDLGEENFKALVLIIFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER
NECFLQHKDDNPNLPRIVRPEVDVMCTAFHDNEETFLLKKVLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAFTCCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQ
RLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTCCCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCEKPLLEKSHCIAEVE
NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYAYARRHPDYSVLLRLAKTYETTLKCCAAADPHECYAKVDFEFLVEEPQNLIKQNC
ELFEQLGEYKFQNALVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAVFEKCKADDKETCFEEGKKLVAASQAALGLGGG
GSGGGGSIEGRARNGDHCPLGPGRCCLRLHTVRSASLEDLGWADNVLSFREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDITVPAPCCVPASYNFMV
LIQKTDIGVSLQTYDDLLAKDCHCI

도면1fa

도면 1F, 계속

프로테아제-민감성 개열가능 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N-말단에 융합된 성숙 HSA 아미노산 서열을 포함하는 융합 분자를 인코딩하는 핵산 (서열 번호:14)

GATGCACACAAAGAGTGAGGTTGGTTCATCGGTTTAAAGATTGGGAGAGAAATTTCAAAGCTTGGTGTGTGATTGGCTTTGGCTCAGTATCTTCAGCA
GTGTCCATTGAGAGATCAATGTAAAAATTAGTAATTAAGTAACATGTAATTTGCAAAAACATGTGTGTGTGATGAGTCAAGCTGAAAATTGTGACAAATCAC
TTTCATACCCCTTTTGGAGACAAATTATGCACAGTTGCACTCTTCGTGAAAACCTATGTTGTAATGGCTGACTGCTGTGCAAAACAGAAACCTTGAGAGA
AATGAATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACAAACCAACCTCCCGGATTGGTGAGACCAAGAGTTGATGTGATGIGCACTGCTTTTCATGACAATGA
AGAGACATTTTGAATAAATACTTATATGAAATTGCCAAGACATCCTTACTTTATGCCCGGAACCTCTTTTGTGCTAAAAGGATATAAGCTG
CTTTACAGAAATGTTCCCAAGCTGTGATAAAGCTGCCCTGTTGCCAAAGCTCGATGAATTCGGGATGAAGGAGGCTTCGTCTGCCAAACAG
AGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAATTTGGAGAAAGAGCTTTCAAAGCATGGGCAGTAGTGGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAGCTGAGTTTGC
AGAAGTTTCCAAAGTTAGTGACAGATCTTACCAAAGTCCACACGGAATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGTGTGATGACAGGCGGACCTTGCCA
AGTATATCTGTGAATAACAAGATTCGATCTCCAGTAAACTGAAGGAATGCTGTGAAAAACCTCTGTTGAAAAATCCCACTGCATTGCCGAAGTGGAA
AATGATGAGATGCCCTGACTTGCCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAGGATGTTTGCAAAACTATGCTGAGGCAAGGATGTCTTCCT
GGCATGTTTTTGTATGAATATGCAAGAAGGCATCCTGATTACTCTGTGCTGTGCTGAGACTTGCCAAGACATATGAACCACTCTAGAGAAGT
GCTGTGCCGCTGCAGATCCTCATGAATGCTATGCCAAAGTGTTCGATGAATTTAAACCTCTGTGGAGAGCCTCAGAAATTTAATCAACAAAAATGTT
GAGCTTTTGTGACAGCTTGGAGAGTACAAATTCAGAAATGGGTATTAGTTCGTACACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACTCTTGTAGA
GGTCTCAAGAAACCTAGGAAAAGTGGCAGCAATGTTTAAACATCCTGAAGCAAAAAGAAATGCCCTGTCCAGAACTATCTATCCGTGGTCTCTGA
ACCAAGTTATGTGTGTGATGAGAAAACCGCCAGTAAGTCACAGAGTACCAAAATGCTGCACAGAAATCCTTGTGTAACAGGCGCACCATGCTTTTCAGCT
CTGGAAGTCGATGAACATACGTTCCCAAGAGTTTAAATGCTGAACATTCACCTCCATGCAGATATATGCACACTTCTGAGAGAGGAGAGACAAAT
CAAGAAACAACACTGCACTTGTTGAGCTCGTGAACACACAGCCCAAGCCCAAGCAAAAGAGCAACTGAAGCTGTTAIGGATGATTTGCGAGCTTTGTAG
AGAAGTGTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGTAAAAAATTTGTTGCTGCAAGTCAAGCTGCCTTAGGCTTAGGTGAGGC
GGTAGGGTGGAGGTGGAGTATTGAAGGAGGCGCGTAACGGGATCACTGTCGCTCGGCGCCGGGGTGTGCTGCTGCTGCAACACGCTCCGCGC
GTCGCTGGAAGACCTTGGGCTGGGCGGATTGGGTGCTGTGCGCCACGGAGGTGCAAGTGAACATGTGCAATCGGCGGTGCCCCGAGCCAGTTCCGGGGCG
CAACATGCAACGCGGAGATCAAGACGAGCCTGCACCGCTGAAGCCCGACACGGTCCAGGCCCCCTGCTGCTGCTGCCGCCAGCTACAAATCCCATGGTG
CTCATTCAAAAGACCGACACCCGGGTGTGCGCTCCAGACCTATGATGACTTGTAGCCAAAGACTGCCACTGCATATAA

도면1h

비개열가능 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N-말단에 융합된 성숙 HSA 아미노산 서열을 내포하는 융합 분자 (서열 번호:17)

DAHKSEVAHREKFDLGEENFKALVLIIFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPER
NECFLOHKDDNPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKVLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAFTCCQAADKAACLLPKLDELDRDEGKASSAKQ
RLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCGHDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLEKCCCKPILLESKSHCIAEVE
NDMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFGLGMFLVEYARRHPDYSVLLLLRAKTYETTLKCCAAADPHECVAKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNC
ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGVGSKCKCKHPEAKRMPCEADYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA
LEVDEITYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAVFVEKCKKADDDKETCFEEGKKLVAASQAALGLGGG
GSGGGSGGGGSARNGDHCHPLGPGRCCLRLHTVRALEDILGWADWVLSPREVQVTMCIGACFSQFRAANMHAQIKTISLHRLKPDVTVPAPCCVFPASYNPM
VLIQKTDIGVSLQ TYDDLAKDCHCI

도면 1ha

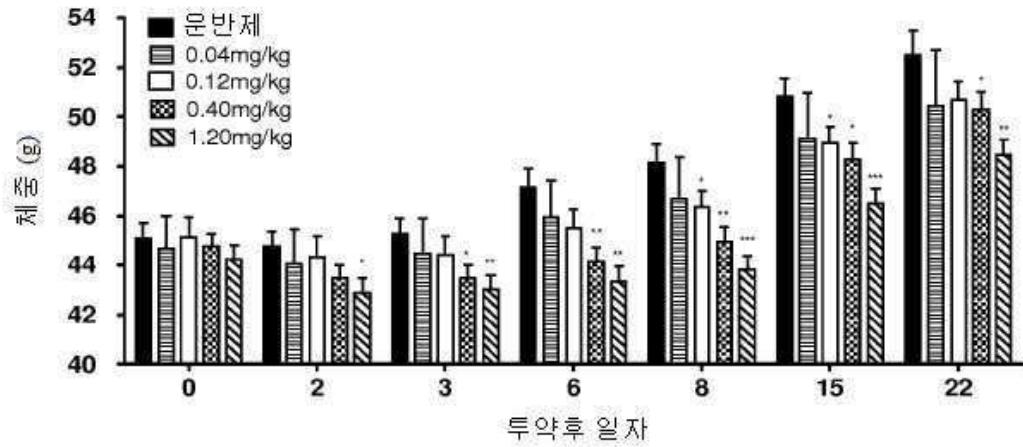
도면 1H, 계속

비개열가능 링커를 통해 성숙 인간 GDF15 아미노산 서열의 N-말단에 융합된 성숙 HSA 아미노산 서열을 내포하는 융합 분자를 인코딩하는 핵산 (서열 번호:18)

GATGCACACAGAGTGAAGTTGGTCTCATCGGTTTAAAGATTGGGAGAGAAATTTCAAAGCCTTGGTGTGATTGGCTTGGCTCAGTATCTTCAGCA
GTGTCCATTGAAGATCATGTAAATTAGTGAATGAAGTAACTGAATTTGCAAAACATGTGTGCTGATGAGTCAGTGAGAAATTTGTGACAAATCAC
TTCATACCTTTTGGAGACAAATTAAGCAGATTGCAACTCTTGGTGAACCTATGTTGAATGGTGTGCTGTCTGCAAAACAGAACCTGAGAGA
AATGATGCTTCTTGCAACACAAAGATGACACCCAACTCCCGATTGGTGAGACCGAGGTTGATGATGTGCATGCTTTTCATGACAATGA
AGAGACATTTTGAATAATACCTATATGAAATTGCCAGAGACATCCTTACTTTATGCCCGGAACCTCTTTCTTGTAAAGGTATAAAGCTG
CTTTACAGAAITGCCAAGCTGTGATAAAGCTGCTGCCCTGTTCCAAAGCTGATGAATTCGGGATGAAGGAGGCTTCGTCTGCCAAACAG
AGACTCAAGTGTGCCAGTCTCCAAAAATTTGGAGAAAGAGCTTCAAAGCATGGCAGTAGCTGCTGAGCCAGAGATTTCCCAAGCTGAGTTTGC
AGAAGTTTCCAAAGTTAGTGACAGATCTTACCAAGTCCACACGGATGCTGCCATGGAGATCTGCTTGAATGCTGATGACAGGCGGACCTTGCCA
AGTATATCTGTGAATCAAGATCGATCTCCAGTAAACTGAGGAGTGTGTGAATAACCTGTGTGAATAATCCACTGCATTCGCGAAGTGGA
AATGATGAGATGCCTGCTGACTTGCCTTCATTAGCTGCTGATTTTGTGAAAGTAAAGATGTTGCAAAACTATGCTGAGGCAAGGATGTCTTCCT
GGCATGTTTTGTATGAATAIGCAAGAAGGCATCCTGATTAATCTGCTGCTGCTGAGACTTGCACAGACATAIGAAACCACTCTAGBAAGT
GCTGTGCCCTGCGAGTCCCTCATGAATGCTATGCCAAGTGTTCGATGAATTTAAACCTCTTGTGGAAGAGCCTCAGAAATTTAATCAACAAATTTGT
GAGCTTTTGTGACAGCTTGGAGATACAAATTCAGAAATGGCTATTAGTTTACACCAAGAAAGTACCCCAAGTGTCAACTCCAACTCTTGTAGA
GGTCTCAAGAAACCTAGGAAAGTGGGCAGCAATGTTGTAACATCTGAAGCAAAAGAAATGCCCTGTGCAGAGACTATCTATCCGTGGTCTCTGA
ACCAAGTTATGTGTGTCATGAGAAACGCCAGTAAGTACAGAGTACCAATGCTGCACAGAAATCCTTGGTGAACAGGCGCACTGCTTTTCAGCT
CTGGAAGTCGATGAACATACGTTCCCAAGATTTAATGCTGAACATTCACCTCCATGCAGATATATGCACACTTCTGAGAGGAGAGACAAAT
CAAGAAACAACTGCACTTGTGAGCTCGTGAACACAGCCCAAGGCAACAAAGAGCAACTGAAGCTGTTAIGGATGATTTTCGACAGCTTTGTAG
AGAAGTGTGCAAGGCTGACGATAAGGAGACCTGCTTTGCCGAGGAGGTAAATAAATCTTGTCTGCAAGTCAAGTGCCTTAGGCTTAGGTGAGGC
GGTAGCGGTGGAGGTGGGAGTGGTGGAGTGGGAGTGGCGTAAACGGGGATCACTGTCCGCTCGGGCCCCGGCGGTGTGTCCGCTGTCACACAGGTCGG
CGGTGCTGGAGAGACCTGGGCTGGGCGGATTGGGTGCTGTCGCCACGGGAGGTGCAAGTGACCAATGTGCAATCGGGGCTGCCGAGCCAGTTCGGG
CGGCAACATGCAACGCGCAGATCAAGACAGACCTGACACGCTGACACGCTGACAGCGCTGCTGCTGCTGCCCGCAGCTACAAATGCCATG
GTGCTCATTTCAAAAGACCCGACACCGGGGTGTGCTCCAGACCTATGATGACTTGTTAGCCAAAGACTGCCACTGCATATAA

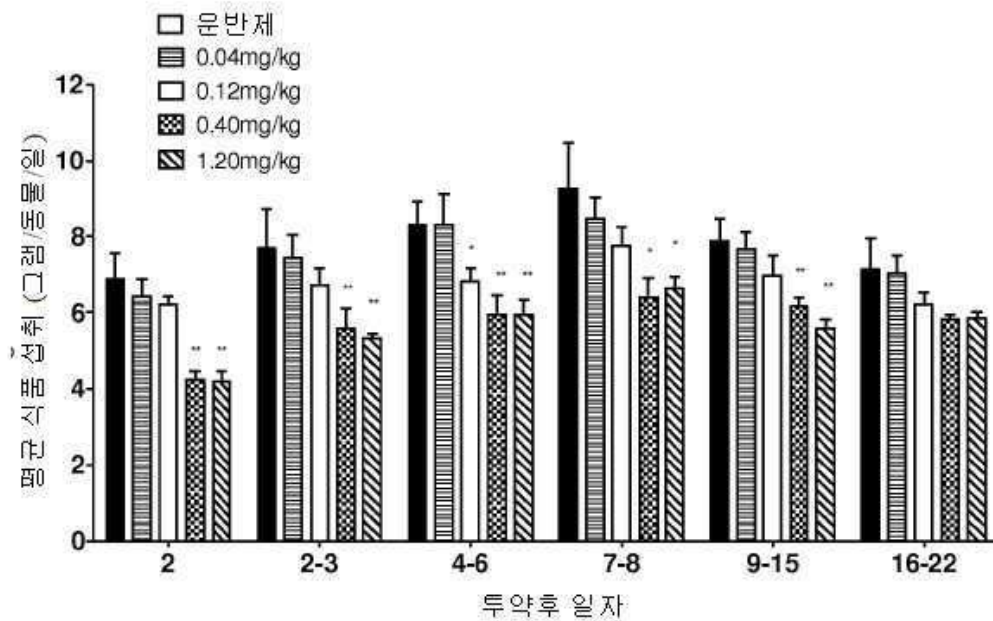
도면2a

체중에 대한 성숙 인간 GDF15에 융합된 성숙 HSA를 포함하는 융합 분자의 단일 급성 분량의 효과



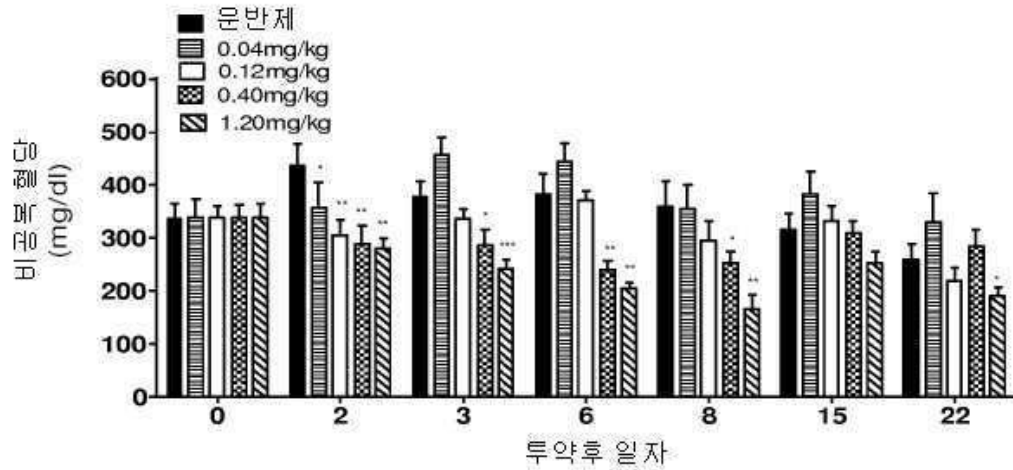
도면2b

식품 섭취에 대한 성숙 인간 GDF15에 융합된 성숙 HSA를 포함하는 융합 분자의 단일 급성 분량의 효과



도면2c

혈당에 대한 성숙 인간 GDF15에 융합된 성숙 HSA를 포함하는 융합 분자의 단일 급성 분량의 효과



도면3

알라닌 돌연변이유발에 의해 산출된 GDF15 돌연변이단백질

w29 -(서열 번호 :19) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGAADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
 ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w32 -(서열 번호 :20) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADAVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
 ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w52 -(서열 번호 :21) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQARA
 ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w65 -(서열 번호 :22) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
 ANMHAQIKTS AHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w68 -(서열 번호 :23) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
 ANMHAQIKTS LHRKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w89 -(서열 번호 :24) :
 ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
 ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLAQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면4

물리적 성질의 사정을 위한 GDF15 돌연변이단백질 잔기의 확인

돌연변이단백질	잔기	돌연변이단백질	이합체
w29	TRP	ALA	예
w32	TRP	ALA	예
w52	PHE	ALA	예
w65	LEU	ALA	아니오
w68	LEU	ALA	예
w89	ILE	ALA	예

도면5

GDF15에 비하여 물리적 성질의 평가를 위한 GDF15 돌연변이단백질

w113 - (서열 번호 :25):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL AALGWAAWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL
LAKDCHCI

w114 - (서열 번호 :26):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL AALGWAAWVL SPRAVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w115 - (서열 번호 :27):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDG GVSLQTYAAL LAKACHCI

w116 - (서열 번호 :28):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTAT GVSLQTYAAL LAKACHCI

w117 - (서열 번호 :29):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTAT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면6

GDF15에 비하여 향상된 물리적 성질의 평가를 위한 가공된 N-글리칸 돌연 변이단백질

w118 - (서열 번호 :30):

ARNG THCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w119 - (서열 번호 :31):

ARNG DHCPLGPGRC CRNHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w120 - (서열 번호 :32):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVNASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w121 - (서열 번호 :33):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWNL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w122 - (서열 번호 :34):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVNVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w123 - (서열 번호 :35):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMTAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w124 - (서열 번호 :36):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQNKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w125 - (서열 번호 :37):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQINTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w126 - (서열 번호 :38):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKNDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w127 - (서열 번호 :39):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVNASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w128 - (서열 번호 :40):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLINKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w129 - (서열 번호 :41):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKNDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면6a

도면 6. 계속

w130 - (서열 번호:42):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI NVSLQTYDDL LAKDCHCI

w131 - (서열 번호:43):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSNTQTYDDL LAKDCHCI

w132 - (서열 번호:44):

ARNG THCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLINKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w133 - (서열 번호:45):

ARNG THCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI NVSLQTYDDL LAKDCHCI

w134 - (서열 번호:46):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVNVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLINKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w135 - (서열 번호:47):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVNVTMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI NVSLQTYDDL LAKDCHCI

w136 - (서열 번호:48):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKNDTVP APCCVPASYN PMVLINKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w137 - (서열 번호:49):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKNDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI NVSLQTYDDL LAKDCHCI

w138 - (서열 번호:50):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLINKTDI NVSLQTYDDL LAKDCHCI

w139 - (서열 번호:51):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLINKTDI GVSNTQTYDDL LAKDCHCI

w140 - (서열 번호:52):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA
ANMHAQIKTS LHRLKPDTVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI NVSNQTYDDL LAKDCHCI

도면7

인간 GDF15 돌연변이단백질 이합체 형성과 N-글리칸 부위 점유

돌연변이단백질	이합체	N-Glyc
w118	예	예
w119	예	예
w120	예	예
w121	예	아니오
w122	예	예
w123	아니오	-
w124	예	아니오
w125	아니오	-
w126	예	예
w127	아니오	-
w128	예	예
w129	아니오	-
w130	예	예
w131	예	예
w132	예	예
w133	예	예
w134	예	예
w135	예	예
w136	예	예
w137	예	예
w138	예	예
w139	예	예
w140	예	예

도면8a

원심분리 농축기를 이용한 인간 GDF15 돌연변이단백질의 최대 용해도

돌연변이단백질	PBS에서 최대 용해도
hGDF15	+
w29	+
w32	+
w52	+
w68	+
w89	++
w113	+
w115	+
w116	++
w118	+++
w120	++++
w122	++

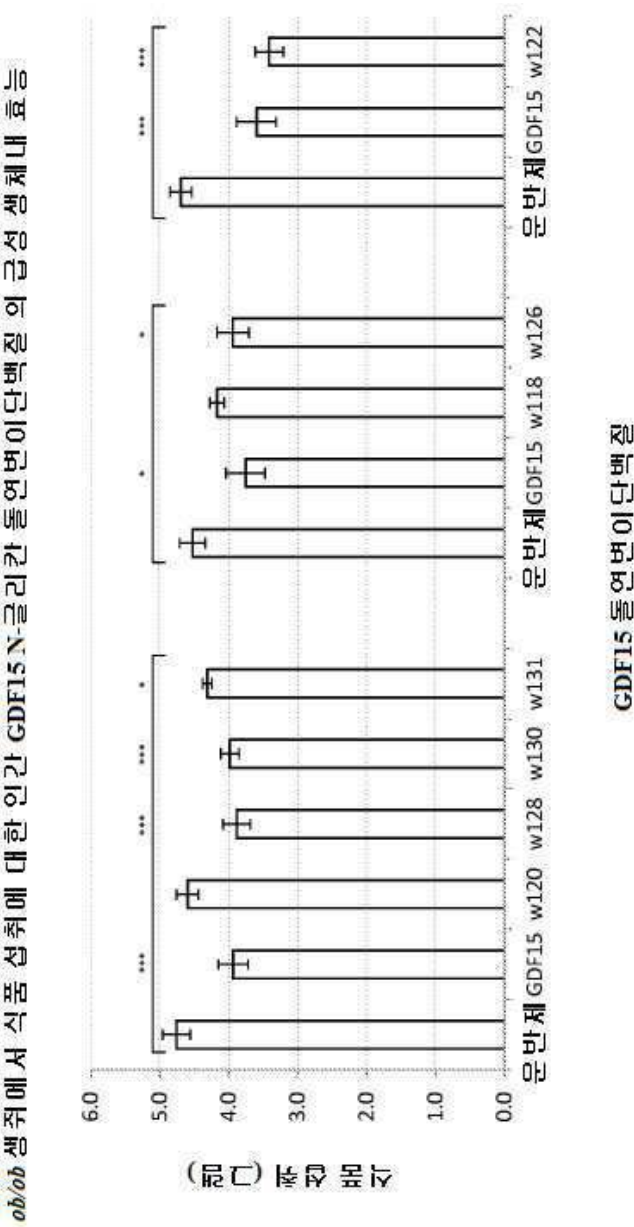
돌연변이단백질	PBS에서 최대 용해도
w126	+++
w128	++++
w130	++++
w131	++++
w132	++++
w133	++++
w134	++++
w135	+++++
w136	++++
w137	++++
w138	+++++
w139	+++++
w140	+++++

도면8b

훈탁도 사정을 이용한 인간 GDF15 돌연변이단백질의 최대 용해도

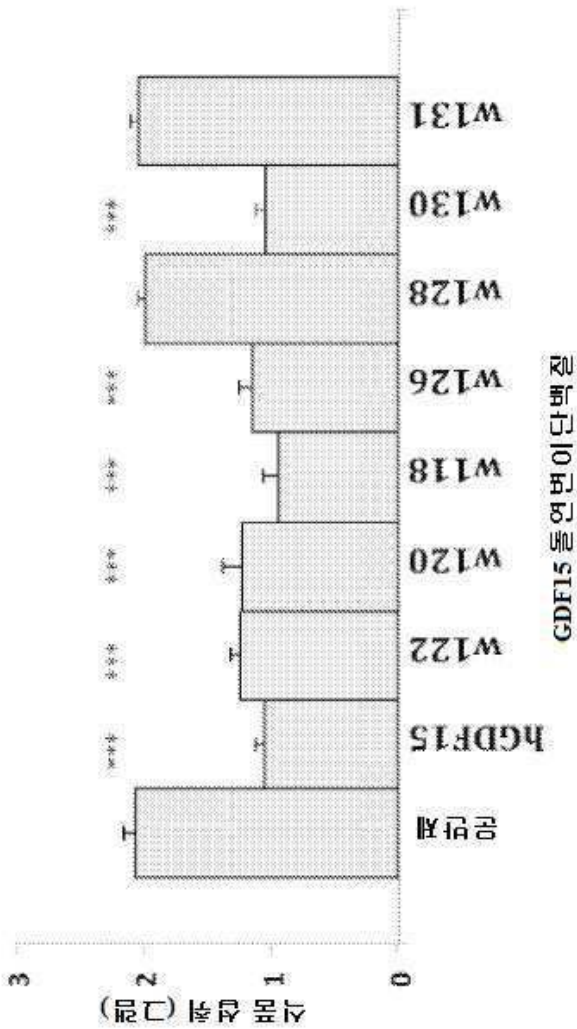
돌연변이단백질	PBS에서 최대 용해도
hGDF15	+
w120	++++
w122	++
w126	++++
w128	++++
w130	+++++
w131	++++

도면9a



도면9b

DIO 생쥐에서 식품 섭취에 대한 인간 GDF15 N-글리칸 돌연변이 단백질의 급성 생체내 효과



도면10

N-글리칸 돌연변이단백질과 성숙 인간 GDF15의 분석적 겔 여과

돌연변이단백질	용리 시간 (분)
hGDF15	10.837
w118	10.029
w120	9.201
w122	9.123
w126	10.011
w128	9.854
w130	9.198
w131	9.153
w132	9.342
w133	8.810
w134	8.967
w135	8.667
w136	9.787
w138	9.221
w139	9.281

도면11a

개열가능 링커 (굵고 밑줄 그어짐; 서열 번호:56)를 통해 성숙 GDF15 생쥐 (*Mus musculus*) (굵음; 서열 번호:54)와 히말라야 원숭이 (*Macaca mulatta*) (굵음; 서열 번호:55)의 중 오르 소로그의 N-말단에 융합된 Igk 신호 서열 (신호 서열 밑줄 그어짐; 서열 번호:53)을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열

생쥐 (*Mus musculus*) (NP_035949.2)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL
VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK
DDNPNLPRPVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQ
AADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKL
VTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM
PADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA
AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEV
SRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
VEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAA SQAALGL **GGGGSGGGGSIEGRSAHAHPRDSCPLGPGRCCH**
LETVQATLEDLGWSDWVLSPRQLQLSMCVGECPHLYRSANTHAQIKARLHGLQDPDKVPAPCCVP
SSYTPVVLHRTDSGVSLQTYDDLVARGCHCA (서열 번호 :57)

히말라야 원숭이 (*Macaca mulatta*) (EHH29815.1)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL
VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK
DDNPNLPRPVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQ
AADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKL
VTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM
PADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA
AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQNAL LVRYTKKVPQVSTPTLVEV
SRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
VEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAA SQAALGL **GGGGSGGGGSIEGRARNGDRCP LGPGRCRLHT**
VHASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFREANMHAQIKMNLHRLKPDTPAPCCVPASY
NPMVLIQKTD TGVS LQTYDDLAKDCHCV (서열 번호 :58)

도면11b

개열가능 링커 (굵고 밑줄 그어짐; 서열 번호:61)를 통해 성숙 인간 TGF- β 1 (굵음; 서열 번호:59)와 성숙 인간 BMP2 (굵음; 서열 번호:60)의 N-말단에 융합된 IgK 신호 서열 (신호 서열 밑줄 그어짐; 서열 번호:53)을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열

인간 TGF- β 1 (CAA26580.1)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL
VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK
DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQ
AADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL
VTDLT KVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM
PADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA
AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV
SRNLGKV GSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
VEKCKKADDKETCF AE EGKKLVAASQAALGL **GGGGSIEGRDYKDDDDKALDTNYCFSSTEKNCC**
VRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVP
QALEPLPIVYVYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS (서열 번호 :62)

인간 BMP2 (NM_001200):

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKL
VNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHK
DDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQ
AADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL
VTDLT KVHTECCHGDLLE CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM
PADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL LRLAKTYETTLEKCCA
AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELFQ LGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEV
SRNLGKV GSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF
VEKCKKADDKETCF AE EGKKLVAASQAALGL **GGGGSIEGRDYKDDDDKQAKHKQRKRLKSSCKR**
HPLYVDVSDVGWNDWIVAPPGYHAFYCHGECFPFLADHLNSTNHAIVQTLVNSVNSKIPKACCV
PTELSAISMLYLDENEKVVLKNYQDMVVEGCGCR (서열 번호 :63)

도면12

성숙 GDF15 중 오르소로그, 인간 TGF β 1과 인간 BMP2의 N-말단에 융합된 HSA를 포함하는 융합 분자의 분비

구조체	이합체 분비
생쥐 (Mus musculus) - GDF15	예
히말라야 원숭이 (Macaca mulatta) - GDF15	예
인간 TGF- β 1	아니오
인간 BMP2	아니오

도면13

비개열가능 링커 (굵고 밑줄 그어짐; (서열 번호:64) 를 통해 알라닌-스캔에 의해 산출된 성숙 인간 GDF15 돌연변이단백질의 N-말단에 융합된 IgK 신호 서열 (신호 서열 밑줄 그어짐; 서열 번호:53)을 갖는 HSA를 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열

MDMRVPAQLLGLLLWLRLGARCDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLV
NEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD
NPNLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAAD
KAACLLPKLDELRLDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDL
TKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAEVENDEMPADLP
SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE
CYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFELQGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKV
GSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYV
PKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADD
KETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGSGGGGSARNGDHCPLGPGRCRLHTVRSLEDLG
WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTD
TGVSLQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호 :15)

상기 굵게 표시된 서열의 돌연변이단백질은 아래와 같다:

w2 (서열 번호 :65):

AANG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w3 - (서열 번호 :66):

ARAG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w4 - (서열 번호 :67):

ARNA DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w5 - (서열 번호 :68):

ARNG AHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w6 - (서열 번호 :69):

ARNG DAPLGPGRG CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w8 - (서열 번호 :70):

ARNG DHCALGPGRG CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w9 - (서열 번호 :71):

ARNG DHCPLGPGRG CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

w10 - (서열 번호 :72):

ARNG DHCPLAPGRG CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTD TGVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13a

도면 13, 계속

w11 - (서열 번호:73):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w12 - (서열 번호:74):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w13 - (서열 번호:75):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w16 - (서열 번호:76):

ARNG DHCPLGPGRC CALHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w17 - (서열 번호:77):

ARNG DHCPLGPGRC CRAHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w18 - (서열 번호:78):

ARNG DHCPLGPGRC CRLATVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w19 - (서열 번호:79):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHAVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w20 - (서열 번호:80):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTARASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w21 - (서열 번호:81):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVAASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w23 - (서열 번호:82):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRAAL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w24 - (서열 번호:83):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASA EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w25 - (서열 번호:84):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL ADLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w26 - (서열 번호:85):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EALGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13b

도면 13, 계속

w27 - (서열 번호:86):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDAGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w28 - (서열 번호:87):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLAWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w29 - (서열 번호:88):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGAADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w31 - (서열 번호:89):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGAAWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w32 - (서열 번호:90):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADAVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w33 - (서열 번호:91):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWAL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w34 - (서열 번호:92):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVA SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w35 - (서열 번호:93):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL APREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL
LAKDCHCI

w36 - (서열 번호:94):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SAREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w37 - (서열 번호:95):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPAEVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w38 - (서열 번호:96):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPRAVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w39 - (서열 번호:97):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREAQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w40 - (서열 번호:98):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREAVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13c

도면 13, 계속

w41 - (서열 번호 :99):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQATMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w42 - (서열 번호 :100):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVAMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w43 - (서열 번호 :101):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIAC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w45 - (서열 번호 :102):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC AGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w46 - (서열 번호 :103):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IAACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w49 - (서열 번호 :104):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACASQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w50 - (서열 번호 :105):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPAQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w51 - (서열 번호 :106):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSAFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w52 - (서열 번호 :107):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQARA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w53 - R53A (서열 번호 :108):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFAA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w56 - N56A (서열 번호 :109):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA AAMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w57 - (서열 번호 :110):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANAHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w58 - (서열 번호 :111):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMAAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13d

도면 13, 계속

w60 - (서열 번호:112):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAAIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w61 - (서열 번호:113):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQAKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w62 - (서열 번호:114):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIATS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w63 - (서열 번호:115):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKAS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w64 - (서열 번호:116):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTA
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w65 - (서열 번호:117):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w66 - (서열 번호:118):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w67 - (서열 번호:119):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w68 - (서열 번호:120):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w69 - (서열 번호:121):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLAPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w70 - (서열 번호:122):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKADTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w71 - (서열 번호:123):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w72 - (서열 번호:124):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDAPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13e

도면 13, 계속

w73 - (서열 번호:125):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTP APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w74 - (서열 번호:126):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPA APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w76 - (서열 번호:127):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV AACCPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w79 - (서열 번호:128):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCAPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w80 - (서열 번호:129):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVAASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w82 - (서열 번호:130):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPAAYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w83 - Y83A (서열 번호:131):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASAN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w84 - (서열 번호:132):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYA PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w85 - (서열 번호:133):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN AMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w86 - (서열 번호:134):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PAVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w87 - (서열 번호:135):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMALIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w88 - (서열 번호:136):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVAIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w89 - (서열 번호:137):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLAQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

도면13f

도면 13, 계속

w90 - (서열 번호:138):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w91 - (서열 번호:139):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQATDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w92 - (서열 번호:140):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKADT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w93 - (서열 번호:141):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIAT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w94 - (서열 번호:142):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDA GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w95 - (서열 번호:143):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT AVSLQTYDDL LAKDCHCI

w96 - (서열 번호:144):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GASLQTYDDL LAKDCHCI

w97 - (서열 번호:145):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVALQTYDDL LAKDCHCI

w98 - (서열 번호:146):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSAQTYDDL LAKDCHCI

w99 - (서열 번호:147):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYDDL LAKDCHCI

w100 - (서열 번호:148):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQAYDDL LAKDCHCI

w101 - (서열 번호:149):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTADDL LAKDCHCI

w102 - (서열 번호:150):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVTMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDTPV APCCVPASYN PMVLIQKIDT GVSLQTYADL LAKDCHCI

도면13g

도면 13, 계속

w103 - (서열 번호:151):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDAL LAKDCHCI

w104 - (서열 번호:152):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDA LAKDCHCI

w105 - (서열 번호:153):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL AAKDCHCI

w107 - (서열 번호:154):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAADCHCI

w108 - (서열 번호:155):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKACHCI

w110 - (서열 번호:156):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCACI

w112 - (서열 번호:157):

ARNG DHCPLGPGRC CRLHTVRASL EDLGWADWVL SPREVQVIMC IGACPSQFRA ANMHAQIKTS
LHRLKPDIVP APCCVPASYN PMVLIQKTDI GVSLQTYDDL LAKDCHCA

도면14

돌연변이유발에 가용한 GDF15 돌연변이단백질 잔기의 확인 및 비개열가능 링커를 포함하는 HSA 융합을 이용한 분비 성질의 사정

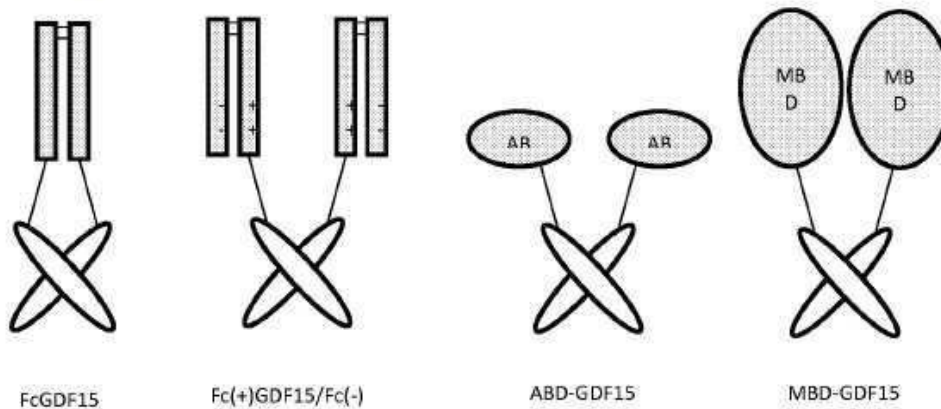
돌연 변이 단백 질	잔기	돌연 변이 단백 질	이합 체
w2	ARG	ALA	예
w3	ASN	ALA	예
w4	GLY	ALA	예
w5	ASP	ALA	예
w6	HIS	ALA	예
w8	PRO	ALA	예
w9	LEU	ALA	예
w10	GLY	ALA	예
w11	PRO	ALA	예
w12	GLY	ALA	예
w13	ARG	ALA	예
w16	ARG	ALA	예
w17	LEU	ALA	예
w18	HIS	ALA	예
w19	THR	ALA	예
w20	VAL	ALA	예
w21	ARG	ALA	예
w23	SER	ALA	예
w24	LEU	ALA	예
w25	GLU	ALA	예
w26	ASP	ALA	예
w27	LEU	ALA	예
w28	GLY	ALA	예
w29	TRP	ALA	예
w31	ASP	ALA	예
w32	TRP	ALA	예
w33	VAL	ALA	예
w34	LEU	ALA	예
w35	SER	ALA	예
w36	PRO	ALA	아니 오
w37	ARG	ALA	예
w38	GLU	ALA	예
돌연 변이 단백 질	잔기	돌연 변이 단백 질	이합 체
w39	VAL	ALA	예
w40	GLN	ALA	예
w41	VAL	ALA	예
w42	THR	ALA	예
w43	MET	ALA	예
w45	ILE	ALA	예
w46	GLY	ALA	아니 오
w49	PRO	ALA	예
w50	SER	ALA	예
w51	GLN	ALA	예
w52	PHE	ALA	예
w53	ARG	ALA	예
w56	ASN	ALA	예
w57	MET	ALA	예
w58	HIS	ALA	예
w60	GLN	ALA	예
w61	ILE	ALA	예
w62	LYS	ALA	아니 오
w63	THR	ALA	예
w64	SER	ALA	예
w65	LEU	ALA	아니 오
w66	HIS	ALA	예
w67	ARG	ALA	예
w68	LEU	ALA	예
w69	LYS	ALA	예
w70	PRO	ALA	예
w71	ASP	ALA	예
w72	THR	ALA	예
w73	VAL	ALA	예
w74	PRO	ALA	예
w76	PRO	ALA	예
w79	VAL	ALA	예
돌연 변이 단백 질	잔기	돌연 변이 단백 질	이합 체
w80	PRO	ALA	예
w82	SER	ALA	예
w83	TYR	ALA	아니 오
w84	ASN	ALA	예
w85	PRO	ALA	예
w86	MET	ALA	예
w87	VAL	ALA	예
w88	LEU	ALA	예
w89	ILE	ALA	예
w90	GLN	ALA	예
w91	LYS	ALA	예
w92	THR	ALA	예
w93	ASP	ALA	예
w94	THR	ALA	예
w95	GLY	ALA	예
w96	VAL	ALA	예
w97	SER	ALA	예
w98	LEU	ALA	예
w99	GLN	ALA	예
w100	THR	ALA	예
w101	TYR	ALA	예
w102	ASP	ALA	예
w103	ASP	ALA	예
w104	LEU	ALA	예
w105	LEU	ALA	예
w107	LYS	ALA	예
w108	ASP	ALA	예
w110	HIS	ALA	예
w112	ILE	ALA	예

도면15a

도면 15A-15E

Fc (IgG), ABD, 그리고 MBD에 융합된 신호 서열을 포함하는 융합 분자의 아미노산 서열; 가변성 링커를 통해 성숙 GDF15의 N-말단에 융합됨

도면 15A: 융합 분자의 개요도



도면15b

도면 15B: 3X(Glu-3Gly-Ser) 링커를 내포하는 FcGDF15:

```

MGVKVLFALI  CIAVAEADKT  HTCPCPCAPE  LLGGPSVFLF  PPKPKDTLMI
SRTPEVTCVV  VDVSHEDPEV  KFNWYVDGVE  VHNAKTKPRE  EQYNSTYRVV
SVLTVLHQDW  LNGKEYKCKV  SNKALPAPIE  KTISKAKGQP  REPQVYTLPP
SRDELTKNQV  SLTCLVKGFY  PSDIAVEWES  NGQPENNYKI  TPPVLDSDGS
FFLYSKLTVD  KSRWQQGNVF  SCSVMHEALH  NHYTQKSLSL  SPGKEGGGSE
GGGSEGGGSA  RNGDHCPGPF  GRCCRLHTR  ASLEDLGWAD  WVLSPREVQV
TMCIGACPSQ  FRAANMHAQI  KTSLHRLKPD  TVPAPCCVPA  SYNPMVLIQK
TDGTGVSLOTY  DDLLAKDCHC  I ( 서열 번호 :158)
    
```

도면15c

도면 15C: Fc(+)-3X(Glu-3Gly-Ser)-GDF15와 hFc(-)를 내포하는 Fc(+)-GDF15/Fc(-) 하전된 쌍

```

MDMRVPAQLL  GLLLLWLRGA  RCDKTHTCPP  CPAPELLGGP  SVFLFPPKPK
DTLMISRPIE  VTCVVVDVSH  EDPEVKFNWY  VDGVEVHNAK  TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV  LHQDWLNGKE  YKCKVSNKAL  PAPIEKTISK  AKGQPREPQV
YTLPPSRKEL  TKNQVSLTCL  VKGFYPSDIA  VEWESNGQPE  NNYKTTTPVL
KSDGSFFLYS  KLTVDKSRWQ  QGNVFSQSV  HEALHNHYTQ  KSLSLSPGK
GGGSEGGGSE  GGGSARNGDH  CPLGPGRCCR  LHTVRASLED  LGWADWVLSP
REVQVTMCIG  ACPSQFRAAN  MHAQIKTSLH  RLKPDTPVAP  CCVPASYNPM
VLIQKTDGTG  SLQTYDDLLA  KDCHCI ( 서열 번호 :159)
    
```

```

MDMRVPAQLL  GLLLLWLRGA  RCDKTHTCPP  CPAPELLGGP  SVFLFPPKPK
DTLMISRPIE  VTCVVVDVSH  EDPEVKFNWY  VDGVEVHNAK  TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV  LHQDWLNGKE  YKCKVSNKAL  PAPIEKTISK  AKGQPREPQV
YTLPPSRDEL  TKNQVSLTCL  VKGFYPSDIA  VEWESNGQPE  NNYDTTPVL
DSDGSFFLYS  DLTVDKSRWQ  QGNVFSQSV  HEALHNHYTQ  KSLSLSPGK
( 서열 번호 :160)
    
```

도면15d

도면 15D: 5XGly 링커를 내포하는 알부민 결합 도메인 (ABD) (ABD-GDF15)

MLAEAKVLAN RELDKYGVSD FYKRLINKAK TVEGVEALKL HILAALP**GGG**
GGARNGDHCP LGPGRCCRLH TVRASLEDLG WADWVLSPRE VQVTMCIGAC
PSQFRAANMH AQIKTSLHRL KPDTVPAPCC VPASYNPMVL IQKTDGTGVS**L**
QTYDDLLAKD CHCI (서열 번호 :161)

도면15e

도면 15E: 멘테로키나아제 개열가능 5XGly 링커를 내포하는말토오스 결합 도메인 (MBD) (MBD-GDF15)

MGVKVLFALI CIAVAEAMKI EEGKLVIIWIN GDKGYNGLAE VGKKFEKDTG
 IKVTVEHPDK LEEKFPQVAA TGDGPDIIFW AHDRFGGYAQ SGLLAEITPD
 KAFQDKLYPF TWDAVRYNGK LIAYPIAVEA LSLIYNKDLL PNPPKTWEEI
 PALDKELKAK GKSALMFNLQ EPYFTWPLIA ADGGYAFKYE NGKYDIKDVG
 VDNAGAKAGL TFLVDLIKNN HMNADTDYSI AEAFAFNKGET AMTINGPWA
 SNIDTSKVN Y GVTVLPTFKG QPSKPFVGV L SAGINAASPN KELAKEFLEN
 YLLTDEGLEA VNKDKPLGAV ALKSYEEELV KDPRIAATME NAQKGEIMPN
 IPQMSAFWYA VRTAVINAAS GRQTVDEALK DAQTNSSSNN NNNNNNNNLG
 DDDDK**GGGGG** ARNGDHCPLG PGRCCRLHTV RASLEDLGWA DWVLSPREVQ
 VTMCI**GACPS** QFRAANMHAQ IKTSLHRLKP DTVPAPCCVP ASYNPMVLIQ
 KTDGTGVS**LQT** YDDLLAKDCH CI (서열 번호 :162)

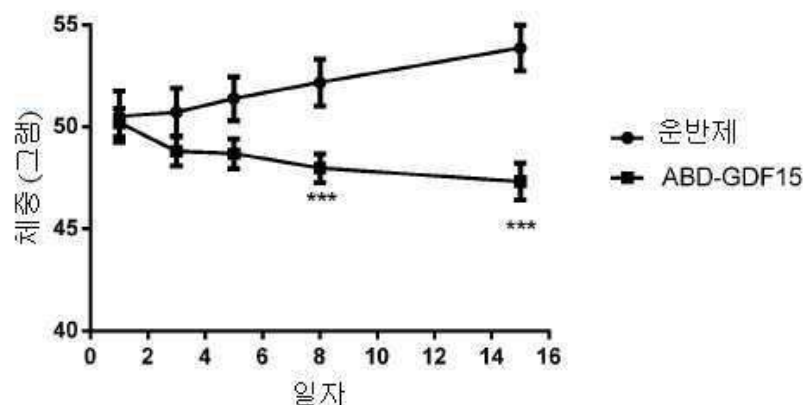
도면16

(패널 A) 성숙 GDF15의 N-말단에 융합된 ABD와MBD를 포함하는 융합 분자의 용해도 향상; 그리고 (패널 B) 3mg/kg의 ABD-GDF15의 단일 피하 주사 이후에 *ob/ob* 생쥐에서 체중에서 감소

(A)

구조체	PBS에서 최대 용해도
hGDF15	+
ABD-GDF15	++++
MBD-GDF15	++++

(B)



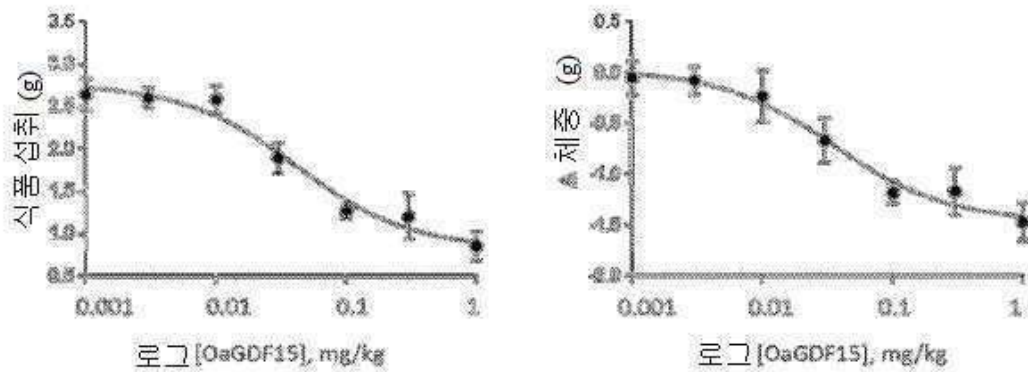
도면17a

오리너구리 (Oa) GDF15 전구체 아미노산 서열

MVGSVPGLRL AAAASLLLL LLLSPGTEP RALGPQESIN SKSLQHYEE ALAEMWGNQS RGETGPASRA
IRLLTPKCRA GKGRLGLQL SRSAVEAGLP WEPQAESLTL DLTPTLQOWL QGSSRPLLRL QLVGPREVME
ALASPGAKPP VLEVQFQELQ SRANRRARAL GQDCEHQGGK CCPRTHVVSF QELGWADWVL APKDYMMKFC
QGSCPHNYKP ASMHSLIKAR MHNLAGTTP EPCCVPSSYE PMVLMHYNSE GKITLSPFEN MIAKDCHCA
(서열 번호 : 163)

도면17b

OaGDF15의 피하 주사 이후에 DIO 생쥐에서 식품 섭취와 체중에서 감소.



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Matern, Hugo
Lindhout, Darrin A
Haldankar, Raj
Horner, Geoffrey
- <120> COMPOSITIONS AND METHODS OF USE FOR TREATING METABOLIC DISORDERS
- <130> NGMB-130WO
- <150> 61/758,456
- <151> 2013-01-30
- <150> 61/882,542
- <151> 2013-09-25
- <160> 231
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 308
- <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Gly Gln Glu Leu Arg Thr Val Asn Gly Ser Gln Met Leu Leu
1 5 10 15

Val Leu Leu Val Leu Ser Trp Leu Pro His Gly Gly Ala Leu Ser Leu
20 25 30

Ala Glu Ala Ser Arg Ala Ser Phe Pro Gly Pro Ser Glu Leu His Ser
35 40 45

Glu Asp Ser Arg Phe Arg Glu Leu Arg Lys Arg Tyr Glu Asp Leu Leu
50 55 60

Thr Arg Leu Arg Ala Asn Gln Ser Trp Glu Asp Ser Asn Thr Asp Leu
65 70 75 80

Val Pro Ala Pro Ala Val Arg Ile Leu Thr Pro Glu Val Arg Leu Gly
85 90 95

Ser Gly Gly His Leu His Leu Arg Ile Ser Arg Ala Ala Leu Pro Glu
100 105 110

Gly Leu Pro Glu Ala Ser Arg Leu His Arg Ala Leu Phe Arg Leu Ser
115 120 125

Pro Thr Ala Ser Arg Ser Trp Asp Val Thr Arg Pro Leu Arg Arg Gln
130 135 140

Leu Ser Leu Ala Arg Pro Gln Ala Pro Ala Leu His Leu Arg Leu Ser
145 150 155 160

Pro Pro Pro Ser Gln Ser Asp Gln Leu Leu Ala Glu Ser Ser Ser Ala
165 170 175

Arg Pro Gln Leu Glu Leu His Leu Arg Pro Gln Ala Ala Arg Gly Arg
180 185 190

Arg Arg Ala Arg Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly
195 200 205

Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly
210 215 220

Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys

225 230 235 240
 Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln
 245 250 255
 Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro
 260 265 270

Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr
 275 280 285
 Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp
 290 295 300

Cys His Cys Ile

305

<210> 2

<211> 1220

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ala Gly Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys
 1 5 10 15
 Cys Gly Cys Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys

 20 25 30
 Ala Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys
 35 40 45
 Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly Ala Ala Thr Gly Gly
 50 55 60
 Cys Thr Cys Thr Cys Ala Gly Ala Thr Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly
 65 70 75 80
 Gly Thr Gly Thr Thr Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Thr Cys Thr

 85 90 95
 Cys Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Gly Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Thr Cys Thr Gly
 115 120 125

Gly Cys Cys Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly
130 135 140
Cys Ala Ala Gly Thr Thr Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Cys Cys
145 150 155 160
Cys Thr Cys Ala Gly Ala Gly Thr Thr Gly Cys Ala Cys Thr Cys Cys
165 170 175
Gly Ala Ala Gly Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Thr Cys Cys
180 185 190
Gly Ala Gly Ala Gly Thr Thr Gly Cys Gly Gly Ala Ala Ala Cys Gly
195 200 205
Cys Thr Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly Cys Thr Ala
210 215 220
Ala Cys Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Cys Gly Gly Gly Cys Cys Ala
225 230 235 240
Ala Cys Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Gly Ala
245 250 255
Thr Thr Cys Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Gly Ala Cys Cys Thr Cys
260 265 270
Gly Thr Cys Cys Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly
275 280 285
Thr Cys Cys Gly Gly Ala Thr Ala Cys Thr Cys Ala Cys Gly Cys Cys
290 295 300
Ala Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala
305 310 315 320
Thr Cys Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys
325 330 335
Ala Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Ala Thr Cys Thr Cys Thr Cys Gly
340 345 350
Gly Gly Cys Cys Gly Cys Cys Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Ala Gly
355 360 365
Gly Gly Gly Cys Thr Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr

370 375 380
 Cys Cys Cys Gly Cys Cys Thr Thr Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys
 385 390 395 400
 Thr Cys Thr Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys

 405 410 415
 Cys Cys Gly Ala Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr
 420 425 430
 Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Thr Gly Ala Cys Ala Cys Gly
 435 440 445
 Ala Cys Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Gly Cys Gly Thr Cys Ala Gly
 450 455 460
 Cys Thr Cys Ala Gly Cys Cys Thr Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Cys

 465 470 475 480
 Cys Cys Cys Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr
 485 490 495
 Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Gly Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly
 500 505 510
 Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Thr Cys Gly Cys Ala Gly Thr
 515 520 525
 Cys Gly Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Cys

 530 535 540
 Ala Gly Ala Ala Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys Cys Gly Cys Ala
 545 550 555 560
 Cys Gly Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr
 565 570 575
 Thr Gly Cys Ala Cys Thr Thr Gly Cys Gly Gly Cys Cys Gly Cys Ala
 580 585 590
 Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Cys

 595 600 605
 Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys
 610 615 620

Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly
 625 630 635 640
 Thr Cys Cys Gly Cys Thr Cys Gly Gly Gly Cys Cys Cys Gly Gly Gly
 645 650 655
 Cys Gly Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Gly Thr Cys Thr Gly Cys

 660 665 670
 Ala Cys Ala Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Gly Cys Gly Thr Cys
 675 680 685
 Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Cys
 690 695 700
 Thr Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys
 705 710 715 720
 Thr Gly Thr Cys Gly Cys Cys Ala Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Thr

 725 730 735
 Gly Cys Ala Ala Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Thr Gly Thr Gly Cys
 740 745 750
 Ala Thr Cys Gly Gly Cys Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Ala
 755 760 765
 Gly Cys Cys Ala Gly Thr Thr Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Gly Cys
 770 775 780
 Ala Ala Ala Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Gly Cys Gly Cys Ala Gly

 785 790 795 800
 Ala Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Gly Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys
 805 810 815
 Ala Cys Cys Gly Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Ala
 820 825 830
 Cys Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Gly Cys Cys Cys
 835 840 845
 Thr Gly Cys Thr Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Cys Cys Ala

 850 855 860
 Gly Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Cys Cys Cys Ala Thr Gly Gly Thr

865 870 875 880
 Gly Cys Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Ala Cys Cys
 885 890 895
 Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Gly Thr Cys Gly Cys
 900 905 910
 Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Cys Thr Ala Thr Gly Ala Thr Gly Ala

 915 920 925
 Cys Thr Thr Gly Thr Thr Ala Gly Cys Cys Ala Ala Ala Gly Ala Cys
 930 935 940
 Thr Gly Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Thr Ala Thr Gly Ala Gly
 945 950 955 960
 Cys Ala Gly Thr Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Cys Thr Thr Cys Cys
 965 970 975
 Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Gly

 980 985 990
 Gly Ala Gly Gly Ala Cys Gly Cys Gly Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly
 995 1000 1005
 Thr Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly
 1010 1015 1020
 Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr
 1025 1030 1035
 Thr Cys Cys Thr Gly Ala Gly Ala Cys Ala Cys Cys Cys Gly Ala

 1040 1045 1050
 Thr Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Ala Ala Ala Cys Ala Gly
 1055 1060 1065
 Cys Thr Gly Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr Ala Ala Gly
 1070 1075 1080
 Thr Cys Thr Gly Thr Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Thr
 1085 1090 1095
 Thr Ala Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly Gly Gly Thr Gly

 1100 1105 1110

Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr Thr Gly Gly Gly Gly Ala Cys Thr
 1115 1120 1125
 Cys Gly Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Ala
 1130 1135 1140
 Thr Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr Ala Thr Thr Thr
 1145 1150 1155
 Ala Thr Thr Thr Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Thr

1160 1165 1170
 Gly Ala Thr Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Ala Ala Gly Cys Thr
 1175 1180 1185
 Gly Thr Cys Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Thr Thr Ala Ala Ala
 1190 1195 1200
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1205 1210 1215

Ala Ala

1220

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80
 Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val

85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110
 <210> 4
 <211> 339
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 gcgcgtaacg gggatcactg tccgctcggg cccgggcgtt gctgccgtct gcacacggtc 60
 cgcgctcgc tggaagacct gggctgggcc gattgggtgc tgtcgccacg ggagggtgcaa 120
 gtgaccatgt gcatcggcgc gtgcccagc cagttccggg cggcaaacaat gcacgcgcag 180
 atcaagacga gcctgcaccg cctgaagccc gacacgggtgc cagcgccctg ctgcgtgccc 240
 gccagctaca atcccatggt gctcattcaa aagaccgaca cgggggtgtc gctccagacc 300
 tatgatgact tgtagccaa agactgccac tgcataata 339
 <210> 5
 <211> 609
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5
 Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15
 Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
 20 25 30
 His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
 35 40 45
 Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
 50 55 60
 Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
 65 70 75 80
 Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
 85 90 95
 Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala

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

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

595	600	605	
Leu			
<210> 6			
<211> 2264			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<400> 6			
agtatattag tgctaatttc cctccgtttg tcctagcttt tctcttctgt caaccccaca			60
cgcccttggc acaatgaagt gggtaacctt tatttcctt ctttttctt ttagctcggc			120
ttattccagg ggtgtgtttc gtcgagatgc acacaagagt gaggttgctc atcggtttaa			180
agatttggga gaagaaaatt tcaaagcctt ggtgttgatt gcctttgctc agtatcttca			240
gcagtgtcca ttgaagatc atgtaaaatt agtgaatgaa gtaactgaat ttgcaaaaac			300
atgtgttgcg gatgagtcag ctgaaaattg tgacaaatca cttcataccc tttttggaga			360
caaattatgc acagtgtcaa ctcttcgtga aacctatggt gaaatggctg actgctgtgc			420
aaaacaagaa cctgagagaa atgaatgctt cttgcaacac aaagatgaca acccaaacct			480
ccccgattg gtgagaccag aggttgatgt gatgtgcact gcttttcacg acaatgaaga			540
gacatttttg aaaaaaact tatatgaaat tgccagaaga catccttact tttatgcccc			600
ggaactcctt ttctttgcta aaaggtataa agctgctttt acagaatgtt gccaaagctgc			660
tgataaagct gcctgcctgt tgccaaagct cgatgaactt cgggatgaag ggaaggcttc			720
gtctgccaaa cagagactca agtgtgccag tctccaaaaa tttggagaaa gagctttcaa			780
agcatgggca gtagctcgcc tgagccagag atttccaaa gctgagtttg cagaagtttc			840
caagttagtg acagatctta ccaaagtcca cacggaatgc tgccatggag atctgcttga			900
atgtgctgat gacagggcgg accttgccaa gtatatctgt gaaaatcaag attcgatctc			960
cagtaaaactg aaggaatgct gtgaaaaacc tctgttggaa aaatcccact gcattgccga			1020
agtggaaaat gatgagatgc ctgctgactt gccttcatta gctgctgatt ttgttgaaag			1080
taaggatgtt tgcaaaaact atgctgaggc aaaggatgct ttctctgggca tgtttttgta			1140
tgaatatgca agaaggcatc ctgattactic tgtcgtgctg ctgctgagac ttgccaagac			1200
atatgaaacc actctagaga agtgctgtgc cgctgcagat cctcatgaat gctatgccaa			1260
agtgttcgat gaatttaaac ctcttgtgga agagcctcag aatttaatca aacaaaattg			1320
tgagcttttt gagcagcttg gagagtacaa attccagaat gcgctattag ttcgttacac			1380

caagaaagta ccccaagtgt caactccaac tctttagtag gtcicaagaa acctaggaaa 1440

agtgggcagc aaatgttgta aacatcctga agcaaaaaga atgccctgtg cagaagacta 1500

tctatccgtg gtcctgaacc agttatgtgt gttgcatgag aaaacgccag taagtacag 1560

agtcaccaa tgctgcacag aatccttggg gaacaggcga ccatgctttt cagctctgga 1620

agtcgatgaa acatacgttc ccaaagagtt taatgctgaa acattcacct tccatgcaga 1680

tatatgcaca ctttctgaga aggagagaca aatcaagaaa caaactgcac ttgttgagct 1740

cgtgaaacac aagcccaagg caacaaaaga gcaactgaaa gctgttatgg atgatttcgc 1800

agcttttgta gagaagtgt gcaaggctga cgataaggag acctgctttg ccgaggaggg 1860

taaaaaactt gtigctgcaa gtcaagctgc cttaggctta taacatcaca tttaaaagca 1920

tctcagccta ccatgagaat aagagaaaga aatgaagat caaaagctta ttcattctgtt 1980

tttctttttt gttggtgtaa agccaacacc ctgtctaaaa aacataaatt tctttaatca 2040

ttttgcctct tttctctgtg cttcaattaa taaaaaatgg aaagaatcta atagagtgg 2100

acagcactgt tatttttcaa agatgtgttg ctatcctgaa aattctgtag gttctgtgga 2160

agttccagt gttctcttta ttccacttcg gttagaggatt tctagtttct tgtgggctaa 2220

ttaaataaat cattaatact cttctaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2264

<210> 7

<211> 607

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu

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

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

580	585	590
Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu		
595	600	605
<210> 8		
<211> 1821		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 8		
atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc	60	
agatgtgatg cacacaagag tgaggttgct catcggttta aagatttggg agaagaaaat	120	
ttcaaagcct tgggtgtgat tgcctttgct cagtatcttc agcagtgtcc atttgaagat	180	
catgtaaaat tagtgaatga agtaactgaa ttgcaaaaa catgtgttgc tgatgagtca	240	
gctgaaaatt gtgacaaatc acttcatacc ctttttggag acaaattatg cacagttgca	300	
actcttcgtg aaacctatgg tgaaatggct gactgctgtg caaaacaaga acctgagaga	360	
aatgaatgct tcttgaaca caaagatgac aacccaaacc tccccgatt ggtgagacca	420	
gaggttgatg tgatgtgcac tgcttttcat gacaatgaag agacattttt gaaaaaatac	480	
ttatatgaaa ttgccagaag acatccttac ttttatgccc cggaactcct ttcttttgct	540	
aaaaggtata aagctgcttt tacagaatgt tgccaagctg ctgataaagc tgcctgcctg	600	
ttgccaaagc tcgatgaact tcgggatgaa gggaaggctt cgtctgccaa acagagactc	660	
aagtgtgcc agtctccaaa atttggagaa agagctttca aagcatgggc agtagctcgc	720	
ctgagccaga gatttccaa agctgagttt gcagaagttt ccaagttagt gacagatctt	780	
accaaagtcc acacggaatg ctgccatgga gatctgcttg aatgtgctga tgacagggcg	840	
gaccttgcca agtatatctg tgaaaatcaa gattcgatct ccagtaaact gaaggaatgc	900	
tgtgaaaaac ctctgttgg aaaaatccac tgcattgccg aagtggaaaa tgatgagatg	960	
cctgctgact tgccttcatt agctgctgat ttgtttgaaa gtaaggatgt ttgcaaaaac	1020	
tatgctgagg caaaggatgt cttcctgggc atgtttttgt atgaatatgc aagaaggcat	1080	
cctgattact ctgtcgtgct gctgctgaga cttgccaaaga catatgaaac cactctagag	1140	
aagtgtgtg ccgtgcaga tcctcatgaa tgctatgcc aagtgttcga tgaatttaaa	1200	
cctcttgtgg aagagcctca gaatttaatc aaacaaaatt gtgagctttt tgagcagctt	1260	
ggagagtaca aattccagaa tgcgctatta gtctgttaca ccaagaaaagt accccaagtg	1320	
tcaactccaa ctctttaga ggtctcaaga aacctaggaa aagtgggcag caaatgttgt	1380	

aaacatcctg aagcaaaaag aatgccctgt gcagaagact atctatccgt ggtcctgaac 1440
cagttatgtg tgttgcatga gaaaacgcca gtaagtgaca gagtcaccaa atgctgcaca 1500
gaatccttgg tgaacaggcg accatgcttt tcagctctgg aagtcgatga aacatacgtt 1560
cccaaagagt ttaatgctga aacattcacc ttccatgcag atatatgcac actttctgag 1620
aaggagagac aaatcaagaa acaaactgca cttgttgagc tcgtgaaaca caagcccaag 1680
gcaacaaaag agcaactgaa agctgttatg gatgatttcg cagcttttgt agagaagtgc 1740
tgcaaggctg acgataagga gacctgcttt gccgaggagg gtaaaaaact tgttgctgca 1800

agtcaagctg ccttaggctt a 1821

<210> 9

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

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

145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

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

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

 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 10

<211> 1755

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

 aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240
 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300
 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtag accagaggtt 360
 gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat 420
 gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg 480
 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540
 aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600

 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
 cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
 gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780
 gccaaagtata tcttgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
 gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
 gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020

 tactctgtcg tgcgtctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
 tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
 gtggaagagc ctcaaatat aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200
 tacaaattcc agaatgcgt attagtctg tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
 ccaactcttg tagaggctc aagaacctta ggaaaagtgg gcagcaaag ttgtaaacat 1320
 cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctc gaaccagtta 1380
 tgtgtgttc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440

 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa 1500
 gattttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacacttgc tgagaaggag 1560
 agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620
 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
 gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740
 gctgccttag gctta 1755

<210> 11

<211> 733

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 11

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu

85 90 95

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys

100 105 110

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys

115 120 125

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

130 135 140

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr

145 150 155 160

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu

165 170 175

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln

180 185 190

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg

195 200 205

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser

210 215 220

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
 225 230 235 240
 Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu

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

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

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

 435 440 445
 Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
 450 455 460
 Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn

465 470 475 480
 Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
 485 490 495
 Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala

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

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

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

 690 695 700
 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
 705 710 715 720

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

725

730

<210> 12

<211> 2202

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 12

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60

agatgtgatg cacacaagag tgaggttgct catcggttta aagatttggg agaagaaaat 120

ttcaaagcct tgggtgtgat tgcctttgct cagtatcttc agcagtgtcc atttgaagat 180

catgtaaaat tagtgaatga agtaactgaa tttgcaaaaa catgtgttgc tgatgagtca 240

gctgaaaatt gtgacaaatc acttcatacc ctttttggag acaaattatg cacagttgca 300

actcttcgtg aaacctaagg tgaaatggct gactgctgtg caaaacaaga acctgagaga 360

aatgaatgct tcttgcaaca caaagatgac aacccaaacc tccccgatt ggtgagacca 420

gaggttgatg tgatgtgcac tgcttttcat gacaatgaag agacattttt gaaaaaatac 480

ttatatgaaa ttgccagaag acatccttac ttttatgccc cggaactcct ttcttttgct 540

aaaaggtata aagctgcttt tacagaatgt tgccaagctg ctgataaagc tgcctgcctg 600

ttgccaaagc tcgatgaact tcgggatgaa gggaaggctt cgtctgcca acagagactc 660

aagtgtgcca gtctccaaaa atttgagaga agagctttca aagcatgggc agtagctcgc 720

ctgagccaga gatttcccaa agctgagttt gcagaagttt ccaagttagt gacagatctt 780

accaaagtcc acacggaatg ctgccatgga gatctgcttg aatgtgctga tgacagggcg 840

gaccttgcca agtatatctg tgaaaaatca gattcgatct ccagtaaaact gaaggaaatgc 900

tgtgaaaaac ctctgttgga aaaatccac tgcattgccg aagtggaaaa tgatgagatg 960

cctgctgact tgccttcatt agctgctgat tttgttgaaa gtaaggatgt ttgcaaaaac 1020

tatgctgagg caaaggatgt cttcctgggc atgtttttgt atgaatatgc aagaaggcat 1080

cctgattact ctgtcgtgct gctgctgaga cttgccaaaga catatgaaac cactctagag 1140

aagtgtgtg ccgtgcaga tcctcatgaa tgctatgcca aagtgttcga tgaatttaaa 1200

cctcttgtgg aagagcctca gaatttaatc aaacaaaatt gtgagctttt tgagcagctt 1260

ggagagtaca aattccagaa tgcgctatta gttcgttaca ccaagaaaagt accccaagtg 1320

tcaactccaa ctctttaga ggtctcaaga aacctaggaa aagtgggcag caaatgttgt 1380

aaacatcctg aagcaaaaag aatgccctgt gcagaagact atctatccgt ggtcctgaac 1440
cagttatgtg tgttgcatga gaaaacgcca gtaagtgaca gagtaccaa atgctgcaca 1500
gaatccttgg tgaacaggcg accatgcttt tcagctctgg aagtcgatga aacatacgtt 1560
cccaaagagt ttaatgtga aacattcacc ttccatgcag atatatgcac actttctgag 1620
aaggagagac aaatcaagaa acaaaactgca ctgtttgagc tcgtgaaaca caagcccaag 1680
gcaacaaaag agcaactgaa agctgttatg gatgatttcg cagcttttgt agagaagtgc 1740
tgcaaggctg acgataagga gacctgcttt gccgaggagg gtaaaaaact tgttgctgca 1800

agtcaagctg ccttaggctt aggtggaggc ggtagcgggtg gaggtgggag tattgaaggg 1860
agggcgcgta acggggatca ctgtccgctc gggcccgggc gttgctgccg tctgcacacg 1920
gtccgcgcgt cgctggaaga cctgggctgg gccgattggg tgctgtcgcc acgggagggtg 1980
caagtgacca tgtgcatcgg cgctgcccg agccagttcc gggcggcaaa catgcacgcg 2040
cagatcaaga cgagcctgca ccgcctgaag cccgacacgg tgccagcgcc ctgctgcgtg 2100
cccgccagct acaatcccat ggtgctcatt caaaagaccg acaccggggt gtcgtccag 2160
acctatgatg acttggttagc caaagactgc cactgcatat aa 2202

<210> 13

<211> 711

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 13

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

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

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

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

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

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

340	345	350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
355	360	365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
370	375	380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
385	390	395
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
405	410	415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
420	425	430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys		
435	440	445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His		
450	455	460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
465	470	475
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
485	490	495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp		
500	505	510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala		
515	520	525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu		
530	535	540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
545	550	555
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
565	570	575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
580	585	590

Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu

595 600 605

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu

610 615 620

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val

625 630 635 640

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met

645 650 655

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val

660 665 670

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile

675 680 685

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu

690 695 700

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

705 710

<210> 14

<211> 2136

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 14

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt 360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat 420

gaaattgcc aagaacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600

gccagctctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctggaatgtg ctgatgacag ggccggacctt 780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
aaacctctgt tggaataatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
gacttgccct cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccgat 1020

tactctgtcg tgctgtgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
tgtgccgtg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200
tacaattcc agaatgcgt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
ccaactcttg tagaggctc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgtg cacagaatcc 1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaaacata cgttcccaaa 1500
gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620
aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa 1740
gctgccttag gcttaggtgg aggcggtagc ggtggagggt ggagtattga agggagggcg 1800
cgtaacgggg atcactgtcc gctcgggcc gggcgttgct gccgtctgca cacggtccgc 1860

gcgtcgttg aagacctggg ctgggccgat tgggtgctgt cgccacggga ggtgcaagtg 1920
accatgtgca tcggcgctg cccgagccag ttccgggcgg caaacatgca cgcgagatc 1980
aagacgagcc tgcaccgct gaagcccgac acggtgccag cgccctgtg cgtgcccgc 2040
agctacaatc ccatggtgct cattcaaaag accgacaccg gggtgtcgct ccagacctat 2100
gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc atataa 2136

<210> 15
<211> 734
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 15

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

20 25 30
Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala

35 40 45
Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu

50 55 60
Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser

65 70 75 80
Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu

85 90 95
Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys

100 105 110
Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys

115 120 125
Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

130 135 140
Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr

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

165 170 175
Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln

180 185 190
Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg

195 200 205
Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser

210 215 220
Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg

225 230 235 240
 Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
 245 250 255
 Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu

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

 325 330 335
 Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
 340 345 350
 Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
 355 360 365
 Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
 370 375 380
 Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys

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

 450 455 460
 Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
 465 470 475 480

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
485 490 495
Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
500 505 510
Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
515 520 525
Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
530 535 540
Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
545 550 555 560
Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
565 570 575
Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
580 585 590
Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
595 600 605
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Arg
610 615 620
Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
625 630 635 640
Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
645 650 655
Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
660 665 670
Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His
675 680 685
Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
690 695 700
Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu
705 710 715 720
Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

725

730

<210> 16

<211> 2205

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 16

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60

agatgtgatg cacacaagag tgaggttgct catcggttta aagatttggg agaagaaaat 120

ttcaaagcct tgggtgtgat tgcctttgct cagtatcttc agcagtgtcc atttgaagat 180

catgtaaaat tagtgaatga agtaactgaa ttgcaaaaa catgtgttgc tgatgagtca 240

gctgaaaatt gtgacaaatc acttcatacc ctttttggag acaaattatg cacagttgca 300

actcttcgtg aaacctatgg tgaaatggct gactgctgtg caaaacaaga acctgagaga 360

aatgaatgct tcttgcaaca caaagatgac aacccaaacc tccccgatt ggtgagacca 420

gaggttgatg tgatgtgcac tgcttttcat gacaatgaag agacattttt gaaaaaatac 480

ttatatgaaa ttgccagaag acatccttac ttttatgccc cggaactcct tttctttgct 540

aaaaggtata aagctgcttt tacagaatgt tgccaagctg ctgataaagc tgcctgcctg 600

ttgccaaagc tcgatgaact tcgggatgaa gggaaggctt cgtctgcaa acagagactc 660

aagtgtgcca gtctccaaaa atttggagaa agagctttca aagcatgggc agtagctcgc 720

ctgagccaga gatttcccaa agctgagttt gcagaagttt ccaagttagt gacagatctt 780

accaaagtcc acacggaatg ctgccatgga gatctgcttg aatgtgctga tgacagggcg 840

gaccttgcca agtatatctg tgaaaaatca gattcgatct ccagttaaact gaaggaatgc 900

tgtgaaaaac ctctgttga aaaatccac tgcattgccg aagtggaaaa tgatgagatg 960

cctgctgact tgccttcatt agctgctgat ttgttgaaa gtaaggatgt ttgcaaaaac 1020

tatgctgagg caaaggatgt ctctctgggc atgtttttgt atgaatatgc aagaaggcat 1080

cctgattact ctgtcgtgct gctgctgaga cttgccaaga catatgaaac cactctagag 1140

aagtgtgtg ccgctgcaga tctcatgaa tgctatgcca aagtgttcga tgaatttaaa 1200

cctcttgtgg aagagcctca gaatttaatc aaacaaaatt gtgagctttt tgagcagctt 1260

ggagagtaca aattccagaa tgcgctatta gtctgttaca ccaagaaagt accccaagtg 1320

tcaactccaa ctctttaga ggtctcaaga aacctaggaa aagtgggcag caaatgttgt 1380

aaacatcctg aagcaaaaag aatgcctgt gcagaagact atctatccgt ggtcctgaac 1440

cagttatgtg tgttgcatga gaaaacgcca gtaagtgaca gaggcaccaa atgctgcaca 1500
 gaatccttgg tgaacaggcg accatgcttt tcagctctgg aagtcgatga aacatacgtt 1560
 cccaaagagt ttaatgtcga aacattcacc ttccatgcag atatatgcac actttctgag 1620
 aaggagagac aaatcaagaa acaaactgca cttgttgagc tcgtgaaaca caagcccaag 1680
 gcaacaaaag agcaactgaa agctgttatg gatgatttcg cagcttttgt agagaagtgc 1740
 tgcaaggctg acgataagga gacctgcttt gccgaggagg gtaaaaaact tgttgctgca 1800
 agtcaagctg ccttaggctt aggtggaggc ggtagcgggtg gaggtgggag tggtaggagt 1860

gggagtgcgc gtaacgggga tcaactgtccg ctggggcccg ggcgttgctg ccgtctgcac 1920
 acggtccgcg cgtcgtctga agacctgggc tgggcccatt gggtagctgc gccacgggag 1980
 gtgcaagtga ccatgtgcat cggcgcgtgc ccgagccagt tccgggcggc aaacatgcac 2040
 gcgcagatca agacgagcct gcaccgcctg aagcccgaca cggtagccagc gccctgctgc 2100
 gtgcccgcga gctacaatcc catggtgctc attcaaaaga ccgacaccgg ggtgtcgctc 2160
 cagacctatg atgacttggt agccaaagac tgccactgca tataa 2205

<210> 17

<211> 712

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 17

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

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

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

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

595 600 605
 Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu
 610 615 620
 Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln

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

690 695 700
 Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

705 710

<210> 18

<211> 2139

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 18

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt gtccatttga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600

gccagctctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660

cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720

gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaagtata tcigtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaatgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900

gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080

tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttggagag 1200

tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaacctta ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaacat 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaacata cgttcccaaa 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560

agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680

gctgacgata aggagacctg ctttcccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740

gctgccttag gcttaggtgg aggcggtagc ggtggagggt ggagtggtgg aggtgggagt 1800

gcgcgtaacg gggatcactg tccgctcggg cccgggcgtt gctgccgtct gcacacggtc 1860

cgcgctgcg tggaaacct gggctgggcc gattgggtgc tgtcgccacg ggaggtgcaa 1920

gtgaccatgt gcatcggcgc gtgcccagc cagttccggg cggcaaacat gcacgcgag 1980

atcaagacga gctgcaccg cctgaagccc gacacggtgc cagcgccctg ctgctgccc 2040

gccagctaca atccatggt gctcattcaa aagaccgaca ccggggtgtc gctccagacc 2100

tatgatgact tgtagccaa agactgccac tgcataaa 2139

<210> 19

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 19

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Ala Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 20

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Ala
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 21

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 21

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Ala Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 22

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 22

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 23

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 23

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 24

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 24

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ala Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 25

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 25

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Ala Ala Leu Gly Trp Ala Ala Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60
 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 26

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Ala Ala Leu Gly Trp Ala Ala Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Ala Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 27

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 27

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Ala Ala Leu Leu Ala Lys Ala Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 28

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 28

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Ala Thr Gly Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Ala Ala Leu Leu Ala Lys Ala Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 29

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 29

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Ala Thr Gly Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 30

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 30

Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 31

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 31

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Asn His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 32

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 32

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Asn Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 33

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 33

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 34

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 34

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Asn Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 35

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 35

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met Thr Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 36

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 36

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Asn Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 37

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 37

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Asn Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 38

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 38

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Asn Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 39

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 39

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Asn
65 70 75 80

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

85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 40

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 40

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 41

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 41

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Asn Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 42

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Asn Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 43

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 43

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Asn Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 44

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 44

Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 45

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 45

Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Asn Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 46

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 46

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Asn Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 47

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Asn Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Asn Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 48

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Asn Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Gly Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 49

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 49

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Asn Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 50

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 50

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Asn Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 51

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 51

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Asn Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 52

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 52

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60
 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Asn Val
 85 90 95
 Ser Asn Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 53

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys
 20

<210> 54

<211> 115

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 54

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

50 55 60
 Lys Ala Arg Leu His Gly Leu Gln Pro Asp Lys Val Pro Ala Pro Cys
 65 70 75 80

Cys Val Pro Ser Ser Tyr Thr Pro Val Val Leu Met His Arg Thr Asp
85 90 95

Ser Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Val Ala Arg Gly Cys
100 105 110

His Cys Ala
115

<210> 55

<211> 112

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<400> 55

Ala Arg Asn Gly Asp Arg Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val His Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Glu Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Met Asn

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Val
100 105 110

<210> 56

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 56

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg

1 5 10

<210> 57

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 57

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu

85 90 95

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys

100 105 110

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys

115 120 125

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

130 135 140

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr

145 150 155 160

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu

165 170 175

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln

180 185 190

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg

195	200	205	
Asp Glu Gly Lys Ala Ser	Ser Ala Lys Gln Arg	Leu Lys Cys Ala Ser	
210	215	220	
Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg	Ala Phe Lys Ala Trp	Ala Val Ala Arg	
225	230	235	240
Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys	Ala Glu Phe Ala Glu	Val Ser Lys Leu	
245	250	255	
Val Thr Asp Leu Thr Lys Val	His Thr Glu Cys Cys His	Gly Asp Leu	
260	265	270	
Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg	Ala Asp Leu Ala Lys Tyr	Ile Cys Glu	
275	280	285	
Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser	Lys Leu Lys Glu Cys Cys	Glu Lys Pro	
290	295	300	
Leu Leu Glu Lys Ser His Cys	Ile Ala Glu Val Glu Asn	Asp Glu Met	
305	310	315	320
Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu	Ala Ala Asp Phe Val Glu	Ser Lys Asp	
325	330	335	
Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu	Ala Lys Asp Val Phe Leu	Gly Met Phe	
340	345	350	
Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg	His Pro Asp Tyr Ser Val	Val Leu Leu	
355	360	365	
Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr	Glu Thr Thr Leu Glu Lys	Cys Cys Ala	
370	375	380	
Ala Ala Asp Pro His Glu Cys	Tyr Ala Lys Val Phe Asp	Glu Phe Lys	
385	390	395	400
Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln	Asn Leu Ile Lys Gln Asn	Cys Glu Leu	
405	410	415	
Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr	Lys Phe Gln Asn Ala Leu	Leu Val Arg	
420	425	430	
Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln	Val Ser Thr Pro Thr Leu	Val Glu Val	
435	440	445	

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
450 455 460

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
465 470 475 480

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
485 490 495

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
500 505 510

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
515 520 525

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
530 535 540

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
545 550 555 560

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
565 570 575

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
580 585 590

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
595 600 605

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg Ser Ala His
610 615 620

Ala His Pro Arg Asp Ser Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys His
625 630 635 640

Leu Glu Thr Val Gln Ala Thr Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ser Asp Trp
645 650 655

Val Leu Ser Pro Arg Gln Leu Gln Leu Ser Met Cys Val Gly Glu Cys
660 665 670

Pro His Leu Tyr Arg Ser Ala Asn Thr His Ala Gln Ile Lys Ala Arg
675 680 685

Leu His Gly Leu Gln Pro Asp Lys Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

690 695 700
 Ser Ser Tyr Thr Pro Val Val Leu Met His Arg Thr Asp Ser Gly Val
 705 710 715 720
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Val Ala Arg Gly Cys His Cys Ala
 725 730 735

<210> 58

<211> 733

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 58

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

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

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

165	170	175
Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln		
180	185	190
Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg		
195	200	205
Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser		
210	215	220
Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg		
225	230	235
		240
Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu		
245	250	255
Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu		
260	265	270
Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu		
275	280	285
Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro		
290	295	300
Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met		
305	310	315
		320
Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp		
325	330	335
Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe		
340	345	350
Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu		
355	360	365
Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala		
370	375	380
Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys		
385	390	395
		400
Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu		
405	410	415

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
 420 425 430

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

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

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

 Gly Asp Arg Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
 625 630 635 640
 Val His Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
 645 650 655
 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln

660 665 670
Phe Arg Glu Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Met Asn Leu His Arg
675 680 685

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
690 695 700
Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
705 710 715 720
Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Val
725 730

<210> 59

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys
1 5 10 15

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

Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro
85 90 95
Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
100 105 110

<210> 60

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Gln Ala Lys His Lys Gln Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg

1 5 10 15

His Pro Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile

20 25 30

Val Ala Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro

35 40 45

Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln

50 55 60

Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly

100 105 110

Cys Arg

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Gly Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp

1 5 10 15

Lys

<210> 62

<211> 736

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223

> synthetic polypeptide

<400> 62

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

245	250	255
Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu		
260	265	270
Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu		
275	280	285
Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro		
290	295	300
Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met		
305	310	315
		320
Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp		
325	330	335
Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe		
340	345	350
Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu		
355	360	365
Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala		
370	375	380
Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys		
385	390	395
Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu		
405	410	415
Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg		
420	425	430
Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val		
435	440	445
Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu		
450	455	460
Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn		
465	470	475
Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr		
485	490	495

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
500 505 510

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
515 520 525

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
530 535 540

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
545 550 555 560

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
565 570 575

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
580 585 590

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
595 600 605

Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
610 615 620

Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys
625 630 635 640

Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp
645 650 655

Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys Leu Gly Pro Cys
660 665 670

Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu
675 680 685

Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro
690 695 700

Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr Tyr Val Gly Arg Lys Pro
705 710 715 720

Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys Lys Cys Ser
725 730 735

<210> 63

<211> 738

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 63

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu

85 90 95

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys

100 105 110

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys

115 120 125

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

130 135 140

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr

145 150 155 160

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu

165 170 175

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln

180 185 190

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg

195 200 205

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
 210 215 220
 Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
 225 230 235 240
 Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
 245 250 255
 Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
 260 265 270

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

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

 Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
 405 410 415
 Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
 420 425 430
 Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
 435 440 445
 Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu

450 Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
 465 470 475 480
 Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
 485 490 495
 Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
 500 505 510
 Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
 515 520 525

 Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
 530 535 540
 Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
 545 550 555 560
 Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
 565 570 575
 Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
 580 585 590

 Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 610 615 620
 Gln Ala Lys His Lys Gln Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg
 625 630 635 640
 His Pro Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile
 645 650 655

 Val Ala Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro
 660 665 670
 Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln
 675 680 685
 Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val
 690 695 700

Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu
705 710 715 720

Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly
725 730 735

Cys Arg

<210> 64

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 64

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 65

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 65

Ala Ala Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 66

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 66

Ala Arg Ala Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 67

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 67

Ala Arg Asn Ala Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 68

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 68

Ala Arg Asn Gly Ala His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 69

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 69

Ala Arg Asn Gly Asp Ala Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu

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

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

<210> 70

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 70

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Ala Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

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

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 71

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 71

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Ala Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 72

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 72

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Ala Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 73

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 73

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Ala Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 74

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 74

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Ala Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 75

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 75

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Ala Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 76

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 76

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Ala
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 77

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Ala His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 78

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu Ala Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60
Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 79

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 79

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Ala Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 80

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 80

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Ala Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 81

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 81

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Ala Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 82

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 82

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ala Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 83

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 84

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 85

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 85

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Ala Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 86

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 86

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Ala Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 87

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 87

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Ala Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 88

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 88

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Ala Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 89

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 89

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Ala Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 90

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Ala

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 91

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 91

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Ala Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 92

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 92

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Ala Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 93

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 93

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ala Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 94

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 94

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 95

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 95

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Ala Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 96

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 96

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Ala Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 97

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 97

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Ala Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 98

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Ala Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 99

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Ala Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 100

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 100

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Ala Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 101

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Ala Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 102

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 102

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 103

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 103

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 104

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 104

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Ala Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 105

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 105

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ala Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60
 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 106

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 106

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Ala Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 107

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 107

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Ala Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 108

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Ala Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 109

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Ala Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 110

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 110

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 111

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 111

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 112

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 112

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Ala Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 113

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ala Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 114

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Ala Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 115

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Ala Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 116

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 116

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ala
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 117

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 117

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Ala His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 118

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 118

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu Ala Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 119

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 119

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Ala Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 120

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 120

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Ala Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 121

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 121

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 122

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Ala Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 123

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 123

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Ala Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 124

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 124

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Ala Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 125

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 125

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Ala Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 126

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 126

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Ala Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 127

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 127

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Ala Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 128

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 128

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Ala Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 129

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 129

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 130

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 130

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ala Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 131

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 131

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 132

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 132

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60
 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Ala Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 133

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 133

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Ala Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 134

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 134

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 135

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 135

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Ala Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 136

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 136

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Ala Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 137

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 137

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ala Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 138

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 138

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Ala Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 139

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 139

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Ala Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 140

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 140

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60
Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Ala Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 141

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 141

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Ala Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 142

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 142

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Ala Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 143

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 143

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Ala Val

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 144

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 144

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 145

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 145

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 146

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 146

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Ala Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 147

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 147

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Ala Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 148

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 148

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 Ser Leu Gln Ala Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 149

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 149

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Ala Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 150

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 150

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Ala Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 151

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 151

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Ala Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 152

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 152

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Ala Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 153

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 153

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Ala Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 154

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 154

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Ala Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 155

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 155

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Ala Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 156

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 156

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys Ala Cys Ile
100 105 110

<210> 157

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 157

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

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

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ala
100 105 110

<210> 158

<211> 371

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 158

Met Gly Val Lys Val Leu Phe Ala Leu Ile Cys Ile Ala Val Ala Glu

1 5 10 15

Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

20 25 30

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

35 40 45

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

50 55 60

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

65 70 75 80

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

85 90 95

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

145 150 155 160

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

165 170 175

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

180 185 190

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

195 200 205

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 210 215 220
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 225 230 235 240
 Ser Pro Gly Lys Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg
 260 265 270

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

Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp
 340 345 350
 Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys
 355 360 365
 His Cys Ile
 370

<210> 159

<211> 376

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 159

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro
260 265 270

Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu

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

Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu
 340 345 350
 Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu
 355 360 365
 Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375

<210> 160

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 160

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

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

65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

100 105 110
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

130 135 140
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
145 150 155 160
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190
Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

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

245

<210> 161

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 161

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

50

55

60

Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly

65

70

75

80

Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys

85

90

95

Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln

100

105

110

Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro

115

120

125

Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr

130

135

140

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

145

150

155

160

Cys His Cys Ile

<210> 162

<211> 522

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 162

Met Gly Val Lys Val Leu Phe Ala Leu Ile Cys Ile Ala Val Ala Glu

1

5

10

15

Ala Met Lys Ile Glu Glu Gly Lys Leu Val Ile Trp Ile Asn Gly Asp

20

25

30

Lys Gly Tyr Asn Gly Leu Ala Glu Val Gly Lys Lys Phe Glu Lys Asp

35

40

45

Thr Gly Ile Lys Val Thr Val Glu His Pro Asp Lys Leu Glu Glu Lys

50

55

60

Phe Pro Gln Val Ala Ala Thr Gly Asp Gly Pro Asp Ile Ile Phe Trp

65

70

75

80

Ala His Asp Arg Phe Gly Gly Tyr Ala Gln Ser Gly Leu Leu Ala Glu
85 90 95

Ile Thr Pro Asp Lys Ala Phe Gln Asp Lys Leu Tyr Pro Phe Thr Trp
100 105 110

Asp Ala Val Arg Tyr Asn Gly Lys Leu Ile Ala Tyr Pro Ile Ala Val
115 120 125

Glu Ala Leu Ser Leu Ile Tyr Asn Lys Asp Leu Leu Pro Asn Pro Pro
130 135 140

Lys Thr Trp Glu Glu Ile Pro Ala Leu Asp Lys Glu Leu Lys Ala Lys
145 150 155 160

Gly Lys Ser Ala Leu Met Phe Asn Leu Gln Glu Pro Tyr Phe Thr Trp
165 170 175

Pro Leu Ile Ala Ala Asp Gly Gly Tyr Ala Phe Lys Tyr Glu Asn Gly
180 185 190

Lys Tyr Asp Ile Lys Asp Val Gly Val Asp Asn Ala Gly Ala Lys Ala
195 200 205

Gly Leu Thr Phe Leu Val Asp Leu Ile Lys Asn Lys His Met Asn Ala
210 215 220

Asp Thr Asp Tyr Ser Ile Ala Glu Ala Ala Phe Asn Lys Gly Glu Thr
225 230 235 240

Ala Met Thr Ile Asn Gly Pro Trp Ala Trp Ser Asn Ile Asp Thr Ser
245 250 255

Lys Val Asn Tyr Gly Val Thr Val Leu Pro Thr Phe Lys Gly Gln Pro
260 265 270

Ser Lys Pro Phe Val Gly Val Leu Ser Ala Gly Ile Asn Ala Ala Ser
275 280 285

Pro Asn Lys Glu Leu Ala Lys Glu Phe Leu Glu Asn Tyr Leu Leu Thr
290 295 300

Asp Glu Gly Leu Glu Ala Val Asn Lys Asp Lys Pro Leu Gly Ala Val
305 310 315 320

Ala Leu Lys Ser Tyr Glu Glu Glu Leu Val Lys Asp Pro Arg Ile Ala

[illegible]

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

 50 55 60
Gly Pro Ala Ser Arg Ala Ile Arg Leu Leu Thr Pro Lys Cys Arg Ala
65 70 75 80
Gly Gly Lys Gly Arg Leu Gly Leu Gln Leu Ser Arg Ser Ala Val Glu
 85 90 95
Ala Gly Leu Pro Trp Glu Pro Gln Ala Glu Ser Leu Thr Leu Asp Leu
 100 105 110
Thr Pro Thr Leu Gln Gln Trp Leu Gln Gly Ser Ser Arg Pro Leu Leu

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

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

245 250 255
Tyr Asn Ser Glu Gly Lys Ile Thr Leu Ser Pro Phe Glu Asn Met Ile

260 265 270

Ala Lys Asp Cys His Cys Ala

275

<210> 164

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 164

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 165

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 165

Arg Gly Val Phe Arg Arg

1 5

<210> 166

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 166

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 167

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 167

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15
 Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110

<210> 168

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 168

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Gln Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 169

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 169

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Gln Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80
Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Arg Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 170

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 170

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 171

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 171

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15
Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

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

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 172
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 172

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15
Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

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

85

90

95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100

105

110

<210> 173

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 173

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1

5

10

15

Leu Gln Ser Leu Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20

25

30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35

40

45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50

55

60

Leu His Arg Leu Gln Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65

70

75

80

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

85

90

95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile

100

105

110

<210> 174

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 174

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1

5

10

15

Leu Gln Ser Leu Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 175

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 175

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu Gln Ser Leu Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Gln Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Arg Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 176

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 176

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

1 5 10 15

Leu Gln Ser Leu Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp

20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys

35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Gln Thr Ser

50 55 60

Leu His Arg Leu Gln Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105 110

<210> 177

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 177

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 178

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 178

Arg Arg Gln Arg Arg Thr Ser Lys Leu Met Lys Arg

1 5 10

<210> 179

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 179

Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu

1 5 10 15

Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu

20 25

<210> 180

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 180

Lys Ala Leu Ala Trp Glu Ala Lys Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala

1 5 10 15

Leu Ala Lys His Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala Leu Lys Cys Glu

20 25 30

Ala

<210> 181

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 181

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys

1 5 10 15

<210> 182

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 182

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1 5

<210> 183

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 183

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg

1 5

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 184

Tyr Ala Arg Ala Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala

1 5 10

<210> 185

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 185

Thr His Arg Leu Pro Arg Arg Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 186

Gly Gly Arg Arg Ala Arg Arg Arg Arg Arg

1 5 10

<210> 187

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(50)

<223> amino acids in this region may be present or absent

<400> 187

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Ser

50

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 188

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg

1 5 10

<210> 189

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 189

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 190

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(50)

<223> amino acids in this region may be present or absent

<400> 190

Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly

20 25 30

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly

35 40 45

Gly Ser

50

<210> 191

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> amino acids Xaa can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)
 <223> amino acid Xaa is a hydrophobic amino acid
 <400> 191
 Pro Xaa Xaa Xaa
 1
 <210> 192
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 <223> amino acids Xaa can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> amino acid Xaa is a hydrophobic amino acid
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> amino acid Xaa can be either Ser or Thr
 <400> 192
 Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 <210> 193
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> amino acid Xaa can be Leu or Gln
 <400> 193
 Pro Xaa Gly Met Thr Ser
 1 5

<210> 194

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> where amino acid Xaa can be Leu or Gln

<400> 194

Pro Xaa Gly Met Thr

1 5

<210> 195

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 195

Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro

1 5 10

<210> 196

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> synthetic polypeptide

<400> 196

Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 197

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 197

Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 198

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 198

Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn

1 5 10

<210> 199

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 199

Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn

1 5 10

<210> 200

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 200

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn

1 5 10

<210> 201

<211> 12

<212>

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 201

Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn

1 5 10

<210> 202

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 202

Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 203

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400>

203

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

1 5 10

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 204

Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 205

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 205

Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 206

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 206

Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr

1 5 10

<210> 207

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 207

Ser Leu Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln Phe Asn

1 5 10

<210> 208

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 208

Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val

1 5 10

<210> 209

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 209

Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly

1 5 10

<210> 210

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 210

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met

1	5	10	15
Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr			
	20	25	30

<210> 211

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 211

Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly Ile Val

1	5	10
---	---	----

<210> 212

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<

<400> 212

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

1	5	10
---	---	----

<210> 213

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 213

Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn

1	5	10
---	---	----

<210> 214

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 214

Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn

1 5 10

<210> 215

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 215

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

1 5 10

<210> 216

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 216

Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro

1 5 10

<210> 217

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 217

tggctccgag gtgccagatg tgatgcacac aagagtgagg ttgctcatcg g

51

<210> 218

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 218

gctaccgcct ccacctaagc ctaaggcagc ttgacttgc 39

<210> 219

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 219

gctgccttag gcttaggtgg aggcggtagc ggtggaggtg ggagtgaggagg tggaggcagt 60

gcgcgcaacg gggaccactg tccgctcggg 90

<210> 220

<211> 53

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 220

cagaggtcga ggtcggggga tcctcatatg cagtggcagt ctttggttaa caa 53

<210> 221

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> where amino acid Xaa can be either Glu or Asp

<400> 221

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Xaa Gly Arg

1 5 10

<210> 222

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <400> 222
 Arg Gly Arg Arg
 1
 <210> 223
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <400> 223
 Arg Lys Arg Lys Lys Arg
 1 5
 <210> 224
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <400> 224
 Arg Lys Lys Arg
 1
 <210> 225
 <211> 6
 <212> PRT
 <213>
 > Artificial Sequence
 <220><223> synthetic polypeptide
 <400> 225
 Arg Arg Arg Lys Lys Arg
 1 5
 <210> 226
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic polypeptide

<400> 226

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 227

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 227

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 228

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> synthetic polypeptide

<400> 228

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 229

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 229

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 230

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 230

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 231

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 231

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5