(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0088743
(43) 공개일자 2023년06월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/61 (2017.01) *A61P 27/02* (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01) *C07K 16/44* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6811 (2017.08)
A61K 47/61 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2023-7015502
(22) 출원일자(국제) 2021년10월14일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/054965
(87) 국제공개번호 WO 2022/081835
국제공개일자 2022년04월21일
(30) 우선권주장
63/092,251 2020년10월15일 미국(US)
63/250,782 2021년09월30일 미국(US)

(71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
켈리, 로버트, 프랭클린, 주니어
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
메타, 슈레니크, 체탄
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 95 항

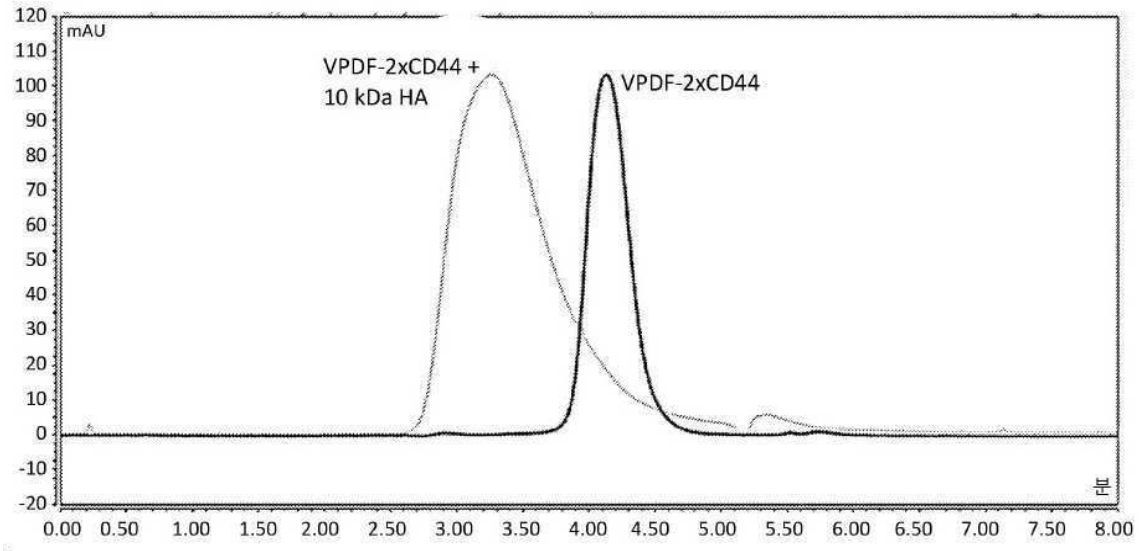
(54) 발명의 명칭 **치료제의 지속성 전달을 위한 베르시칸(VG1)의 히알루론산 결합 유도체**

(57) 요 약

접합체는 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분, 히알루로난에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분(들), 그리고 히알루로난을 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분(들)을 포함할 수 있고, 여기서 각 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 공유적으로 결합되고 세 번째 성분에 비공유적으로 결합되며, 약제로서 이용하기 위한 또

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



는 눈 질환의 치료에 이용하기 위한 상기 접합체를 포함하는 조성물, 그리고 개체에서 눈 질환을 치료하는 방법이 제시된다. 추가적으로, 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자는 히알루론산 결합 모이어티 및 치료 활성제를 포함할 수 있고, 여기서 히알루론산 결합 모이어티는 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다. 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자는 히알루론산 결합 모이어티 및 치료 활성제를 포함할 수 있고, 여기서 히알루론산 결합 모이어티는 히알루론산에 결합되는(다시 말하면, 이것과 전복합화되는), 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다. 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자에 대한 전달 방법은 본원에서 설명된 임의의 치료 분자를 환자에게 투여하고, 그리고 치료 분자가 표적 조직에 치료 활성제의 지속성 전달을 제공하도록 허용하는 단계를 포함한다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/6845 (2017.08)
A61P 27/02 (2018.01)
C07K 14/47 (2013.01)
C07K 14/4725 (2013.01)
C07K 14/70585 (2013.01)
C07K 16/22 (2013.01)
C07K 16/44 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/54 (2013.01)

(72) 발명자
테사르, 데빈, 브렌트
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
한노우쉬, 라미
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
한센, 사이먼, 테오도르
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내
덴글, 스티븐
독일 82377 펜쯔베르크 16 논넨발트 2 로슈 디아그노스틱스 게엠베하 내
케텐베르거, 휴버트
독일 82377 펜쯔베르크 16 논넨발트 2 로슈 디아그노스틱스 게엠베하 내
휠스만, 페터, 미카엘
독일 82377 펜쯔베르크 16 논넨발트 2 로슈 디아그노스틱스 게엠베하 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

환자의 조직으로 표적화된 치료 분자이며,

히알루로난 결합 도메인 및 치료 활성제를 포함하고,

히알루로난 결합 도메인이 베르시칸(Versican)의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 2

환자의 조직으로 표적화된 치료 분자이며,

히알루로난 결합 도메인 및 치료 활성제를 포함하고,

히알루로난 결합 도메인이, HA 결합 도메인을 통해 히알루로난에 결합되는, 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 히알루로난은 400 Da 내지 200 kDa 범위인 것인 치료 분자.

청구항 4

제3항에 있어서, 히알루로난은 적어도 5 kDa인 치료 분자.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 히알루로난은 10 kDa인 치료 분자.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난은 베르시칸의 링크 도메인에 몰 과잉의 결합 당량을 제공하는 것인 치료 분자.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난은 1.5:1 내지 1:1 범위의 히알루로난 대 치료 분자의 비율을 가능하게 하는 것인 치료 분자.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 10 nM 내지 10 μM의 K_D를 갖는 것인 치료 분자.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 5 nM 내지 8 μM의 K_D를 갖는 것인 치료 분자.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 100 nM 내지 5 μM의 K_D를 갖는 것인 치료 분자.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 치료 분자.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29와 적어도 95% 동일한 것인 치료 분자.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 돌연변이를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

히알루로난 결합 도메인은 1개 내지 3개의 돌연변이를 포함하고,

상기 1개 내지 3개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 및 절두(truncation)를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

히알루로난 결합 도메인은 1개 내지 5개의 돌연변이를 포함하고,

상기 1개 내지 5개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 및 절두를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 절두 돌연변이를 갖는 것인 치료 분자.

청구항 17

제16항에 있어서, 절두 돌연변이는 N 말단 상에서의 1 내지 129개 아미노산의 절두를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 야생형 베르시칸의 Ig 도메인이 부재하는 절두된 서열인 치료 분자.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 및 R233 중 적어도 하나를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 및 R233 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326,

및 R327 중 적어도 하나에서 돌연변이를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 및 R327 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개에서 돌연변이를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 및 R327 중 2, 3, 4, 5 또는 6개에서 돌연변이를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 및 LYR325LFK 중 적어도 하나를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 Y208A 및 H306A 중 적어도 하나를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 및 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 및 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5 또는 6개를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 30, 서열 번호: 31, 서열 번호: 32, 서열 번호: 33, 서열 번호: 34, 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51, 서열 번호: 52, 서열 번호: 53, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 또는 서열 번호: 59인 치료 분자.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제는 올리고펩티드, 단백질, 또는 핵산을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제는 항체, 항원 결합 단편, 시스테인 매듭 펩티드, 성장

인자, 또는 앱타머를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 31

제30항에 있어서, 치료 활성제는 항원에 결합할 수 있는 것인 치료 분자.

청구항 32

제31항에 있어서, 치료 활성제는 VEGF, HtrA1, IL-33, C5, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF, 또는 ANG2에 결합할 수 있는 것인 치료 분자.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, 치료 활성제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편(Fab 단편, F(ab')2 단편, Fab' 단편, VhH 단편, scFv 단편, scFv-Fc 단편, 또는 미니바디를 포함하지만 이들에 한정되지 않음)인 치료 분자.

청구항 34

제31항 또는 제32항에 있어서, 치료 활성제는 올리고펩티드 또는 단백질인 치료 분자.

청구항 35

제29항 또는 제34항에 있어서, 올리고펩티드 또는 단백질은 시스테인 매듭 펩티드 또는 효소인 치료 분자.

청구항 36

제113항에 있어서, 시스테인 매듭 펩티드는 서열 번호: 92와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 치료 분자.

청구항 37

제1항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제는 섬유모세포 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 신경 성장 인자(NGF), VEGF, 섬유모세포 성장 인자(FGF), 및 인슐린 유사 성장 인자-I(IGF-I)을 포함하는 성장 인자인 치료 분자.

청구항 38

제110항에 있어서, VEGF에 결합하는 치료 활성제는 라니비주맙, 아플리베르셉트, 브롤루시주맙-dbll 및 베바시주맙을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 39

제1항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제는 핵산인 치료 분자.

청구항 40

제117항에 있어서, 핵산은 앱타머, 안티센스 올리고뉴클레오티드 및/또는 잠금 핵산인 치료 분자.

청구항 41

제118항에 있어서, 앱타머는 VEGF에 결합하는 것인 치료 분자.

청구항 42

제108항, 제118항 및 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 앱타머는 페길화(pegylated)되는 것인 치료 분자.

청구항 43

제108항 및 제118항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, 앱타머는 Macugen®인 치료 분자.

청구항 44

제1항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제 및 히알루로난 결합 도메인은 링커를 통해 공유적으

로 연결되는 것인 치료 분자.

청구항 45

제122항에 있어서, 링커는 적어도 4개의 아미노산인 치료 분자.

청구항 46

제122항 또는 제123항에 있어서, 링커는 50개 아미노산보다 길지 않은 것인 치료 분자.

청구항 47

제122항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 링커는 4-25개의 아미노산인 치료 분자.

청구항 48

제122항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서,

링커는 (GxS)n 또는 (GxS)nGm을 포함하고,

여기서

G = 글리신이고,

S = 세린이고,

(x = 3이고, n = 3, 4, 5 또는 6이고, m = 0, 1, 2 또는 3)이거나, 또는

(x = 4이고, n = 2, 3, 4 또는 5이고, m = 0, 1, 2 또는 3)인 치료 분자.

청구항 49

제122항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 링커는 GGGS(서열 번호: 84) 또는 이의 다합체, 더욱 특히 (GGGGS)3(서열 번호: 85)을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 50

제122항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서,

링커는 (GxS)n을 포함하고,

여기서

G = 글리신이고,

S = 세린이고,

n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10인 치료 분자.

청구항 51

제122항 내지 제125항 및 제128항 중 어느 한 항에 있어서, 링커는 GSGSGSGSGSGSGSGSGS(서열 번호: 95)를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 52

제1항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 활성제는 항-VEGF 항원 결합 모이어티 및 시스테인 매듭 펩티드를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 53

제30항, 제35항, 제36항 및 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 시스테인 매듭 펩티드 및 히알루로난 결합 도메인은 서열 GSGSGSGSGSGSGSGSGS(서열 번호: 95)를 포함하는 링커를 통해 연결되는 것인 치료 분자.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서, 서열은

(a) 항-VEGF 항원 결합 모이어티, 및

(b) 서열 번호: 93 또는 서열 번호: 94와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성

을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 히알루로난 결합 도메인은 히알루로난에 비공유적으로 결합할 수 있는 것인 치료 분자.

청구항 56

환자의 조직으로 표적화된 치료 분자를 전달하기 위한 방법이며,

제1항 내지 제133항 중 어느 한 항의 치료 분자를 환자에게 투여하는 단계, 및

치료 분자가 표적 조직에 치료 활성제의 지속성 전달을 제공하도록 허용하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 57

제56항에 있어서,

투여 단계 전, 치료 분자를 히알루로난에 결합시키는 단계

를 더욱 포함하는 방법.

청구항 58

제57항에 있어서,

치료 분자를 포함하는 첫 번째 용액 및 히알루로난을 포함하는 두 번째 용액을 혼합하는 단계

를 더욱 포함하는 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 혼합은 용기를 포함하는 것인 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 용기는 2 구획 주입기인 방법.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 혼합은 개체에게 투여할 준비가 된 히알루로난에 결합된 치료 분자를 생성하는 것인 방법.

청구항 62

제56항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 투여 단계는 단회 주사인 방법.

청구항 63

제56항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 표적 조직은 눈 또는 뇌를 포함하는 것인 방법.

청구항 64

제56항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 분자는 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여 향상된 유리체 양립성, 더 긴 유리체 체류 시간, 더 긴 유리체 반감기, 및/또는 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 제공

하는 것인 방법.

청구항 65

치료 분자이며,

a. 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분,

b. 히알루로난에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분이며,

첫 번째 성분에 공유적으로 결합되는 두 번째 성분, 및

c. 임의적으로, 히알루로난을 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분

을 포함하고,

하나 이상의 세 번째 성분이 존재하는 경우, 이것은 하나 이상의 두 번째 성분에 비공유적으로 결합되는 것인 치료 분자.

청구항 66

제65항에 있어서, 첫 번째 성분은 단백질, 펩티드, 수용체 또는 이의 단편, 수용체에 대한 리간드, 다르핀, 핵산, RNA, DNA, 또는 앱타머인 치료 분자.

청구항 67

제65항 또는 제67항에 있어서,

첫 번째 성분은 항체, 항원 결합 단편, 특히 항체 단편, 더욱 특히 적어도 Fc 도메인이 결여된 항체 단편에서 선택되고,

특히 상기 단편은 $(Fab')_2$ 단편, Fab' 단편, Fab 단편, VhH 단편, scFv 단편, scFv-Fc 단편 및 미니바디, 더욱 특히 Fab 단편이거나 또는 이것을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 68

제65항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 히알루로난 수용체 CD44(CD44) 도메인, 뇌 특이적 링크 단백질(BRAL1) 도메인, 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6(TSG-6) 도메인, 림프관 내피 히알루로난 수용체-1(LYVE-1) 도메인, 또는 히알루론산 결합 단백질(HABP) 도메인, 아그레칸 G1(AG1) 도메인 또는 베르시칸 G1(VG1) 도메인을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 69

제65항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 접합체는 하나의 두 번째 성분, 또는 서로 동일한 두 개의 두 번째 성분을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 70

제65항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서,

세 번째 성분은 히알루로난이고,

상기 히알루로난은

a. i. 3 kDa 내지 60 kDa, 4 kDa 내지 30 kDa, 5 kDa 내지 20 kDa, 또는 400 Da 내지 200 kDa에서 선택되는 분자량을 갖거나,

ii. 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9 kDa의 분자량을 갖거나,

iii. 많으면 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 kDa의 분자량을 갖고,

b. 몰 과잉의 결합 당량을 하나 또는 두 개의 두 번째 성분에 제공하고,

c. 눈에서 히알루로난의 분해를 감소시키는 변형을 갖는 것인 치료 분자.

청구항 71

제65항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 10 nM 내지 10 μM, 5 nM 내지 8 μM, 또는 100 nM 내지 5 μM의 K_D로 히알루로난에 결합할 수 있는 것인 치료 분자.

청구항 72

제65항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째와 두 번째 성분은 융합 단백질 내에 포함되고,

특히 상기 두 번째 성분 중에서 하나 또는 두 개가 첫 번째 성분의 N 말단 및/또는 C 말단에 공유적으로 결합되고,

더욱 특히 상기 첫 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 단편이고,

상기 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 첫 번째 성분의 C 말단에 공유적으로 결합되고/거나,

b. 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은

첫 번째 성분에 직접적으로 결합되거나, 또는

링커, 특히 적어도 4개의 아미노산 및/또는 많으면 50개 또는 많으면 25개의 아미노산의 링커, 더욱 특히 링커 $(GxS)_n$ 또는 $(GxS)_nG_m$을 통해 첫 번째 성분에 간접적으로 결합되고,

여기서

G = 글리신이고,

S = 세린이고,

(x = 3이고, n = 3, 4, 5 또는 6이고, m = 0, 1, 2 또는 3)이거나, 또는

(x = 4이고, n = 2, 3, 4 또는 5이고, m = 0, 1, 2 또는 3)인 치료 분자.

청구항 73

제65항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 치료 표적은 VEGF, C2, C3a, C3b, C5, C5a, HtrA1, IL-33, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF 또는 ANG2인 치료 분자.

청구항 74

제65항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째 성분은 VEGF에 대한 항체 또는 항원 결합 단편이고/거나,

b. 하나 또는 두 개의 두 번째 성분 각각은 CD44 도메인 또는 TSG-6 도메인 또는 VG1 도메인을 포함하고/거나,

c. 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa 분자량의 히알루로난인 치료 분자.

청구항 75

제65항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고,

하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 CD44 도메인을 포함하고,

세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa 분자량의 히알루로난이거나,

b. 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고,

하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 TSG-6 도메인을 포함하고,

세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa 분자량의 히알루로난이거나, 또는

c. 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고,

하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함하고,

세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa 분자량의 히알루로난인 치료 분자.

청구항 76

제65항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째 성분은

i. 서열 번호: 97, 99, 105, 109 또는 114의 VH 도메인, 및

ii. 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인

을 포함하고,

b. 두 번째 성분은 서열 번호: 2를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 77

제65항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째 성분은

i. 서열 번호: 97, 99, 105, 109 또는 114의 VH 도메인, 및

ii. 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인

을 포함하고,

b. 두 번째 성분은 서열 번호: 4를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 78

제65항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 첫 번째 성분은

i. 서열 번호: 97, 99, 105, 109 또는 114의 VH 도메인, 및

ii. 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인

을 포함하고,

b. 두 번째 성분은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 79

제78항에 있어서, 두 번째 성분은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 치료 분자.

청구항 80

제78항 또는 제79항에 있어서,

두 번째 성분은 1개 내지 5개의 돌연변이를 포함하고,

상기 1개 내지 5개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환 및/또는 절두를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여 절두 돌연변이를 갖는 것인 치료 분자.

청구항 82

제81항에 있어서, 절두 돌연변이는 N 말단 상에서의 1 내지 129개 아미노산의 절두를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 83

제78항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 야생형 베르시칸의 Ig 도메인이 부재하는 절두된 서열인 치료 분자.

청구항 84

제78항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 및 R327 중 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개에서 돌연변이를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 85

제78항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 및 LYR325LFK 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 86

제78항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 두 번째 성분은 Y208A 및 H306A 중 적어도 하나를 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 87

제78항 또는 제79항에 있어서, 두 번째 성분은 서열 번호: 30, 서열 번호: 31, 서열 번호: 32, 서열 번호: 33, 서열 번호: 34, 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51, 서열 번호: 52, 서열 번호: 53, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 또는 서열 번호: 59인 치료 분자.

청구항 88

제65항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 첫 번째 성분은 시스테인 매듭 펩티드를 더욱 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 89

제88항에 있어서, 시스테인 매듭 펩티드는 서열 번호: 92와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 것인 치료 분자.

청구항 90

제88항 또는 제89항에 있어서, 아미노산 서열은 서열 번호: 93 또는 서열 번호: 94와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 포함하는 것인 치료 분자.

청구항 91

약제로서 이용하기 위한 조성물이며,

제65항 내지 제90항 중 어느 한 항의 치료 분자, 및

임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체

를 포함하는 조성물.

청구항 92

눈 질환 또는 뇌 질환의 치료에 이용하기 위한 조성물이며,

제65항 내지 제90항 중 어느 한 항의 치료 분자, 및

임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체

를 포함하는 조성물.

청구항 93

제92항에 있어서, 안구내 전달, 특히 유리체내 주사용으로 제제화된 조성물.

청구항 94

제92항 또는 제93항에 있어서, 눈 질환은 연령 관련 황반 변성(AMD), 특히 습성 AMD 또는 혈관신생 AMD, 당뇨병성 황반 부종(DME), 당뇨병성 망막병증(DR), 특히 증식성 DR 또는 비증식성 DR, 망막 정맥 폐쇄(RVO) 또는 지도 모양 위축(GA)인 조성물.

청구항 95

환자의 조직으로 표적화된 치료 분자를 전달하기 위한 방법이며,

제65항 내지 제90항 중 어느 한 항의 치료 분자 또는

제91항 내지 제94항 중 어느 한 항의 조성물

을 환자에게 투여하는 단계, 및

치료 분자가 표적 조직에 첫 번째 성분의 지속성 전달을 제공하도록 허용하는 단계

를 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련된 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 2020년 10월 15일 자 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 63/092,251 및 2021년 9월 20일 자 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 63/250,782에 우선권을 주장하는데, 이들 둘 모두 본 출원과 공통적으로 소유되고, 그리고 이들 둘 모두의 전체 내용은 마치 본원에서 완전히 진술되는 것처럼 본원에서 명시적으로 온전히 참조로서 편입된다.

[0003] **분야**

[0004] 히알루로난에 결합하는 융합 단백질 및 융합 단백질-히알루로난 접합체를 이용한 지속성 치료제 및 치료 방법.

배 경 기 술

[0005] **배경**

[0006] 다양한 눈 질환을 치료하기 위한 약제를 투여하기 위해, 유리체내 (IVT) 주사가 통상적으로 이용된다. IVT 주사는 후방 눈 내로 약물의 직접적인 적용을 가능하게 하고, 따라서 국소 및 전신 투여에서 통상적인 장벽을 제거한다. 이러한 방식으로 약물의 직접적인 적용은 후안부 조직에서 약물의 더 높은 안구내 생체이용률을 가능하게 하는데, 이것은 후방 눈 질환의 더 유효한 치료를 산출한다. Stewart, M.W., Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 14(1):5-7 (2018). IVT 주사를 통해 치료되는 통상적인 질환의 실례는 연령 관련 황반 변성 (AMD), 당뇨병성 망막병증, 망막 정맥 폐쇄, 그리고 눈 감염 (예컨대 안구내염 및 망막염)을 포함한다. The Foundation of American Society of Retina Specialists, asrs.org/patients/retinal-diseases/33/IVT-injections (2017).

[0007] 질환을 중단시키고 시력을 향상시키는 고무적인 결과에도 불구하고, IVT 주사는 불편하고 값비쌀 뿐만 아니라

이들을 수행하기 위해 망막 전문가를 필요로 한다. IVT 주사는 일부 환자에서 부정적인 효과 예컨대 감염, 염증, 유리체 내로 출혈, 눈에서 부유물의 증가된 존재, 빛에 대한 증가된 민감도, 감소된 시력, 그리고 망막 박리를 야기하는 것으로 알려져 있다. The Foundation of American Society of Retina Specialists, asrs.org/patients/retinal-diseases/33/IVT-injections (2017). IVT 주사는 또한, 감염성 안구내염, 무균 안구내 염증, 열공 망막 박리, 증가된 안압 및 안구 출혈과 연관될 수 있다. *동일 문서*. 안구 지속성 전달 기술은 약물의 반복된 주사에 대한 필요성을 회피할 수 있는데, 이것은 향상된 환자 준수 및 임상 결과로 이어진다. 유리체액에서 약물 반감기를 연장하는 방법과 조성물 (예를 들면, 약물 저장소를 유지하는 능력, 눈에서 낮은 교체율, 낮은 체류-표적 매개 청소율, 및/또는 노화된 모집단에서 외관상 안정된 특성)은 주사 부위로부터 표적 부위로 약물의 느린 방출을 증진하여, 더 높은 용량의 이용을 가능하게 하고 필요한 주사의 수를 감소시킨다.

[0008] 치료 분자의 유리체 반감기는 캡슐화 또는 중합체를 이용한 화학적 변형에 대한 대안으로서, 치료 분자를 히알루로난 (HA)에 결합함으로써 연장될 수 있다. Cromwell, S et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 59(9):235 (2018); Ghosh, J.G. et al., Nature Communications, 8:14837, doi:10.1038/ncomms14837 (2017); Stewart, M.W., Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 14(1):5-7 (2018). 특정 실례에서, 지속성 항-VEGF 항체가 인간 종양 괴사 인자 (TNF) 자극된 유전자 6 단백질 (TSG-6)의 HA 결합 도메인 (HABD)에 개별적으로 융합되었다. Ghosh, J.G. et al., Nature Communications, 8:14837, doi:10.1038/ncomms14837 (2017). 이들 융합 단백질은 변형되지 않은 항-VEGF 항체에 비하여 다음과 같은 향상을 나타냈다: (1) 반감기에서 3 내지 4배 증가; 및 (2) 3-4배 더 긴 기간에 걸쳐 혈관신생 망막 질환의 동물 모형에서 VEGF 유발 망막 변화를 약화시키는 능력. Ghosh, J.G. et al., Nature Communications, 8:14837, doi:10.1038/ncomms14837 (2017). 혈관신생 연령 관련 황반 변성 (nvAMD)에서 최대 내성 용량 (MTD)을 결정하기 위한 단회 상승 용량의 안전성과 내약성의 평가를 위해, 지속성 항-VEGF 항체 및 TSG-6의 융합을 포함하는 약물 후보인 LMG324의 임상 시험이 진행되었다. clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02398500 (2019). 유감스럽게도, 이들 시험은 유리체 부유물, 염증, 그리고 후방 유리체 박리를 비롯한 심각한 부작용으로 인해 중단되었다.

[0009] 히알루로난 (HA)으로 항체 단편의 화학적 접합은 유리체로부터 약물의 확산율을 감소시킬 수 있다. 하지만, 이러한 접근방식은 HA의 화학적 활성화를 필요로 한다; 비-자연 링커의 이용은 개체에서 활성화된 HA의 비-자연 대사산물을 야기할 수 있다.

[0010] 본 발명자들은 전술된 결점이 (1) 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분, (2) HA에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분, 그리고 (3) HA를 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분을 포함하는 접합체 (여기서 각 두 번째 성분은 (a) 첫 번째 성분에 공유적으로 결합되고, 그리고 (b) 세 번째 성분에 비공유적으로 결합된다))를 제공함으로써 회피될 수 있다는 것을 발견하였다. 전술된 항-VEGF 항체 및 TSG-6 융합 단백질인 LMG324와 달리, HA에 결합할 수 있는 두 번째 성분은 HA와 전복합화된다.

[0011] 본 출원은 히알루로난 (HA)에 결합할 수 있는 융합 단백질을 포함하는 치료 분자의 안구 체류를 증가시키기 위한 재료와 방법을 개시한다. 일부 구체예에서, 융합 단백질은 (1) 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분 및 (2) HA에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분을 포함하고; 여기서 각 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 공유적으로 결합된다.

[0012] 본 출원은 또한, 상기 융합 단백질이 HA를 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분을 더욱 포함하고, 여기서 각 두 번째 성분이 세 번째 성분에 더욱 비공유적으로 결합되는 접합체를 개시한다. 게다가, HA에 결합할 수 있는 두 번째 성분은 HA와 전복합화될 수 있다. 이들 접합체는 유리체와 양립하고 HA에 대한 결합 친화성을 갖는다. 이들 재료와 방법은 향상된 지속성 약물 설계를 위한 플랫폼 기술을 제공한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] **요약**

[0014] 이들 재료와 방법은 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있고 히알루로난에 결합할 수 있는 치료 분자 및 이들의 접합체에 관계한다. 아래의 항목, 양상 및 구체예가 제공된다.

[0015] 항목 1은 다음을 포함하는 치료 분자이다: (a) 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분, (b) 히알루로난에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분으로서, 여기서 하나 이상의 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 공유적으로 결합되고, 그리고 (c) 임의적으로, 히알루로난을 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분으로서, 여기서,

존재하면, 하나 이상의 세 번째 성분은 하나 이상의 두 번째 성분에 비공유적으로 결합된다.

[0016] 항목 2는 항목 1의 치료 분자로서, 여기서 첫 번째 성분은 단백질, 펩티드, 수용체 또는 이의 단편, 수용체에 대한 리간드, 다르핀, 핵산, RNA, DNA, 또는 앱타머이다.

[0017] 항목 3은 항목 1 또는 2의 접합체로서, 여기서 첫 번째 성분은 항체, 항원 결합 단편, 특히 항체 단편, 더욱 특히 적어도 Fc 도메인을 결여하는 항체 단편에서 선택되고, 특히 여기서 상기 단편은 $(Fab')_2$ 단편, Fab' 단편, 또는 Fab 단편, VhH 단편, scFv 단편, scFv-Fc 단편 및 미니바디, 더욱 특히 Fab 단편이거나 또는 이것을 포함한다.

[0018] 항목 4는 항목 1 내지 3 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 히알루로난 수용체 CD44 (CD44) 도메인, 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1) 도메인, 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG-6) 도메인, 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1) 도메인, 또는 히알루론산 결합 단백질 (HABP) 도메인, 아그레칸 G1 (AG1) 도메인 또는 베르시칸 G1 (VG1) 도메인을 포함한다.

[0019] 항목 5는 항목 1 내지 4 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 접합체는 하나의 두 번째 성분, 또는 서로 동일한 두 개의 두 번째 성분을 포함한다.

[0020] 항목 6은 항목 1 내지 4 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 세 번째 성분은 히알루로난이고, 여기서 히알루로난은 (a) (i) 3 kDa 내지 60 kDa, 4 kDa 내지 30 kDa, 5 kDa 내지 20 kDa, 또는 400 Da 내지 200 kDa에서 선택되는; (ii) 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9 kDa의; 또는 (iii) 많으면 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 kDa의 분자량을 갖고; (b) 몰 과잉의 결합 당량을 하나 또는 두 개의 두 번째 성분에 제공하고; 그리고 (c) 눈에서 히알루로난의 분해를 감소시키는 변형을 갖는다.

[0021] 항목 7은 항목 1 내지 6 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 10 nM 내지 10 μM, 5 nM 내지 8 μM, 또는 100 nM 내지 5 μM의 K_D로 히알루로난에 결합할 수 있다.

[0022] 항목 8은 항목 1 내지 7 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 (a) 첫 번째와 두 번째 성분은 융합 단백질 내에 포함되고, 특히 여기서 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 첫 번째 성분의 N 말단 및/또는 C 말단에 공유적으로 결합되고, 더욱 특히 여기서 첫 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 단편이고, 그리고 여기서 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 첫 번째 성분의 C 말단에 공유적으로 결합되고; 및/또는 (b) 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 직접적으로 결합되거나, 또는 링커, 특히 적어도 4개의 아미노산 및/또는 많으면 50개 또는 많으면 25개의 아미노산의 링커, 더욱 특히 링커 $(GxS)_n$ 또는 $(GxS)_nG_m$을 거쳐 첫 번째 성분에 간접적으로 결합되고, 여기서 G = 글리신, S = 세린, (x = 3, n = 3, 4, 5 또는 6, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3) 또는 (x = 4, n = 2, 3, 4 또는 5, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3)이다.

[0023] 항목 9는 항목 1 내지 8 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 표적은 VEGF, C2, C3a, C3b, C5, C5a, Htra1, IL-33, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF 또는 ANG2, 특히 VEGF이다.

[0024] 항목 10은 항목 1 내지 9 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 (a) 첫 번째 성분은 VEGF에 대한 항체 또는 항원 결합 단편, 특히 항-VEGF Fab이고; 및/또는 (b) 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 각각, CD44 도메인 또는 TSG-6 도메인 또는 VG1 도메인을 포함하고; 및/또는 (c) 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이다.

[0025] 항목 11은 항목 1 내지 10 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 (i) 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 CD44 도메인을 포함하고, 그리고 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이거나; (ii) 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 TSG-6 도메인을 포함하고, 그리고 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이거나; 또는 (iii) 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편이고, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함하고, 그리고 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이다.

[0026] 항목 12는 항목 1 내지 11 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 (a) 첫 번째 성분은 (i) 서열 번호: 97, 99, 105, 109 또는 144의 VH 도메인; 및 (ii) 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인을 포함하고; 그리고 (b) 두 번째 성분은 서열 번호: 2를 포함한다.

[0027] 항목 13은 항목 1 내지 11 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 (a) 첫 번째 성분은 (i) 서열 번호: 97, 99,

105, 109 또는 144의 VH 도메인; 및 (ii) 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인을 포함하고; 그리고 (b) 두 번째 성분은 서열 번호: 4를 포함한다.

[0028] 항목 14은 항목 1 내지 11 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 (a) 첫 번째 성분은 (i) 서열 번호: 97, 99, 105, 109 또는 144의 VH 도메인; 및 (ii) 서열 번호: 98, 100, 106, 110 또는 115의 VL 도메인을 포함하고; 그리고 (b) 두 번째 성분은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29를 포함한다.

[0029] 항목 15은 청구항 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다.

[0030] 항목 16은 항목 15의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 히알루로난에 결합되는, 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다.

[0031] 항목 17은 항목 1 내지 22 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 1.5:1 내지 1:1의 범위 안에 있는, 히알루로난 대 치료 분자의 비율을 가능하게 한다.

[0032] 항목 18은 항목 14 내지 17 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29에 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 포함한다.

[0033] 항목 19는 항목 14 내지 18 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29에 적어도 95% 동일성을 포함한다.

[0034] 항목 20은 항목 14 내지 19 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 돌연변이를 포함한다.

[0035] 항목 21은 항목 14 내지 20 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 1개 내지 3개의 돌연변이를 포함하고, 여기서 1개 내지 3개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 그리고 절두를 포함한다.

[0036] 항목 22는 항목 14 내지 21 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 1개 내지 5개의 돌연변이를 포함하고, 여기서 1개 내지 5개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 그리고 절두를 포함한다.

[0037] 항목 23은 항목 14 내지 22 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여 절두 돌연변이를 갖는다.

[0038] 항목 24는 항목 23의 치료 분자로서, 여기서 절두 돌연변이는 N 말단 상에서 1 내지 129개 아미노산의 절두를 포함한다.

[0039] 항목 25는 항목 14 내지 24 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 야생형 베르시칸의 Ig 도메인이 부재하는 절두된 서열이다.

[0040] 항목 26은 항목 14 내지 25 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 적어도 하나를 포함한다.

[0041] 항목 27은 항목 14 내지 26 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개를 포함한다.

[0042] 항목 28은 항목 14 내지 27 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 적어도 하나에서 돌연변이를 포함한다.

[0043] 항목 29는 항목 14 내지 28 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개에서 돌연변이를 포함한다.

[0044] 항목 30은 항목 14 내지 29 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312,

L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5 또는 6개에서 돌연변이를 포함한다.

[0045] 항목 31은 항목 14 내지 30 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 하나를 포함한다.

[0046] 항목 32는 항목 14 내지 31 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 Y208A 및 H306A 중 적어도 하나를 포함한다.

[0047] 항목 33은 항목 14 내지 32 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개를 포함한다.

[0048] 항목 34는 항목 14 내지 33 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5 또는 6개를 포함한다.

[0049] 항목 35는 항목 14 또는 18 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 두 번째 성분은 서열 번호: 30, 서열 번호: 31, 서열 번호: 32, 서열 번호: 33, 서열 번호: 34, 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51, 서열 번호: 52, 서열 번호: 53, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 또는 서열 번호: 59이다.

[0050] 항목 36은 항목 1 내지 35 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 첫 번째 성분은 올리고펩티드, 단백질, 또는 핵산을 포함한다.

[0051] 항목 37은 항목 1 내지 36 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 첫 번째 성분은 치료 약물, 항체, 항원 결합 단편, 효소, 성장 인자, 올리고펩티드, 시스테인 매듭 펩티드, 성장 인자, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 잠금 핵산, 또는 앱타머를 포함한다.

[0052] 항목 38은 항목 37의 치료 분자로서, 여기서 시스테인 매듭 펩티드는 서열 번호: 92와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0053] 항목 39는 항목 37의 치료 분자로서, 여기서 성장 인자는 섬유모세포 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 신경 성장 인자 (NGF), VEGF, 섬유모세포 성장 인자 (FGF), 그리고 인슐린 유사 성장 인자-I (IGF-I)를 포함한다.

[0054] 항목 40은 항목 1 내지 39 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 첫 번째 성분은 VEGF에 결합한다.

[0055] 항목 41은 항목 40의 치료 분자로서, 여기서 VEGF에 결합하는 첫 번째 성분은 라니비주맙, 아플리베르셉트, 브롤루시주맙-dbll 및 베바시주맙을 포함한다.

[0056] 항목 42는 항목 37의 치료 분자로서, 여기서 앱타머는 페길화된다.

[0057] 항목 43은 항목 37 또는 42 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 앱타머는 Macugen®이다.

[0058] 항목 44는 항목 1 내지 43 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 GGGGS (서열 번호: 27) 또는 이의 다합체, 더욱 특히 (GGGGS)3 (서열 번호: 28)을 포함한다.

[0059] 항목 45는 항목 1 내지 42 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 GSGSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호: 95)를 포함한다.

[0060] 항목 46은 항목 45의 치료 분자로서, 여기서 시스테인 매듭 펩티드 및 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 서열 GSGSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호: 95)를 포함하는 링커를 통해 연결된다.

[0061] 항목 47은 항목 45 또는 46의 치료 분자로서, 여기서 서열은 (a) 항-VEGF 항원 결합 단편; 및 (b) 서열 번호: 93 또는 서열 번호: 94와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을

포함한다.

[0062] 항목 48은 약제로서 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 항목 1 내지 47 중 어느 하나의 치료 분자, 그리고 임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체를 포함한다.

[0063] 항목 49는 눈 질환 또는 뇌 질환의 치료에 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 항목 1 내지 47 중 어느 하나의 접합체, 그리고 임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체를 포함한다.

[0064] 항목 50은 안구내 전달, 특히 유리체내 주사용으로 제제화된, 항목 49의 이용을 위한 조성물이다.

[0065] 항목 51은 항목 48 내지 50 중 어느 하나의 이용을 위한 조성물로서, 여기서 (a) 상기 조성물은 많으면 3 개월마다, 특히 많으면 4 개월마다, 더욱 특히 많으면 6 개월마다 투여되고; 및/또는 (b) 접합체에서 첫 번째 성분의 제거 반감기는 접합되지 않은 첫 번째 성분과 비교하여 적어도 3배, 적어도 4배 또는 적어도 5배 연장된다.

[0066] 항목 52는 항목 48 내지 51 중 어느 하나의 이용을 위한 조성물로서, 여기서 눈 질환은 연령 관련 황반 변성 (AMD), 특히 습성 AMD 또는 혈관신생 AMD, 당뇨병성 황반 부종 (DME), 당뇨병성 망막병증 (DR), 특히 증식성 DR 또는 비증식성 DR, 망막 정맥 폐쇄 (RVO) 또는 지도모양 위축 (GA)이다.

[0067] 항목 53은 개체에서 눈 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 항목 1 내지 47 중 어느 하나의 치료 분자 또는 항목 48 내지 52 중 어느 하나에서 규정된 바와 같은 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0068] 항목 54는 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자에 대한 전달 방법으로서, 상기 방법은 항목 1 내지 47 중 어느 하나의 치료 분자 또는 항목 48 내지 52 중 어느 하나의 조성물을 환자에게 투여하고, 그리고 치료 분자가 표적 조직에 첫 번째 성분의 지속성 전달을 제공하도록 허용하는 단계를 포함한다.

[0069] 항목 55는 항목 54의 방법으로서, 투여 단계 전, 치료 분자를 히알루로난에 결합시키는 단계를 더욱 포함한다.

[0070] 항목 56은 항목 55의 방법으로서, 치료 분자를 포함하는 첫 번째 용액 및 히알루로난을 포함하는 두 번째 용액을 혼합하는 단계를 더욱 포함한다.

[0071] 항목 57은 항목 56의 방법으로서, 여기서 혼합은 용기를 포함한다.

[0072] 항목 58은 항목 57의 방법으로서, 여기서 용기는 2 구획 주입기이다.

[0073] 항목 59는 항목 56 내지 58 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 혼합은 개체에게 투여할 준비가 된 히알루로난에 결합된 치료 분자를 생성한다.

[0074] 항목 60은 항목 54 내지 59 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 투여 단계는 단회 주사이다.

[0075] 항목 61은 항목 54 내지 60 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 표적 조직은 눈 또는 뇌를 포함한다.

[0076] 항목 62는 항목 54 내지 61 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 치료 분자는 변형되지 않은 생물학적으로 활성 작용제와 비교하여 향상된 유리체 양립성, 더 긴 유리체 체류 시간, 더 긴 유리체 반감기, 및/또는 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 제공한다.

[0077] 양상 63은 (a) 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있는 첫 번째 성분; (b) 히알루로난에 결합할 수 있는 하나 이상의 두 번째 성분(들); 및 (c) 히알루로난을 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분(들)을 포함하고, (d) 여기서 각 두 번째 성분이 첫 번째 성분에 공유적으로 결합되고 세 번째 성분에 비공유적으로 결합되는 접합체이다.

[0078] 양상 64는 양상 63의 접합체로서, 여기서 첫 번째 성분은 단백질, 펩티드, 수용체 또는 이의 단편, 수용체에 대한 리간드, 다르핀, 핵산, RNA, DNA 또는 앱타머이다.

[0079] 양상 65는 양상 63 또는 64의 접합체로서, 여기서 첫 번째 성분은 항체, 또는 항원 결합 항체 단편, 특히 항체 단편, 더욱 특히 적어도 Fc 도메인을 결여하는 항체 단편이고, 특히 여기서 상기 단편은 (Fab')2 단편, Fab' 단편, 또는 Fab 단편, 더욱 특히 Fab 단편이거나 또는 이것을 포함한다.

[0080] 양상 66은 양상 63 내지 65 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 두 번째 성분은 히알루로난 수용체 CD44 (CD44) 도메인, 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1) 도메인, 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG-6) 도메인, 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1) 도메인, 또는 히알루론산 결합 단백질 (HABP) 도메인, 아그레칸 G1 (AG1) 도메인 또는 베르시칸 G1 (VG1) 도메인을 포함한다.

[0081] 양상 67은 양상 63 내지 66 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 접합체는 하나 또는 두 개의 두 번째 성분, 특

히 두 개의 동일한 두 번째 성분을 포함한다.

[0082] 양상 68은 양상 63 내지 66 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 세 번째 성분은 히알루로난이고, 여기서 히알루로난은 (a) 3 kDa 내지 60 kDa, 특히 4 kDa 내지 30 kDa, 더욱 특히 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량을 갖고; 및/또는 (b) 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9 kDa의 분자량을 갖고; 및/또는 (c) 많으면 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 kDa의 분자량을 갖고; 및/또는 (d) 눈에서 히알루로난의 분해를 감소시키는 변형을 갖는다.

[0083] 양상 69는 양상 63 내지 67 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 (a) 첫 번째와 두 번째 성분은 융합 단백질 내에 포함되고, 특히 여기서 두 번째 성분(들) 중에서 하나 또는 두 개는 첫 번째 성분의 N 말단 및/또는 C 말단에 공유적으로 결합되고, 더욱 특히 여기서 첫 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 항체 단편이고, 그리고 여기서 두 번째 성분(들) 중에서 하나 또는 두 개는 첫 번째 성분의 C 말단에 공유적으로 결합되고; 및/또는 (b) 두 번째 성분(들)은 첫 번째 성분에 직접적으로 결합되거나, 또는 링커, 특히 적어도 4개의 아미노산 및/또는 많으면 50개 또는 많으면 25개의 아미노산의 링커, 더욱 특히 링커 (GxS)n 또는 (GxS)nGm을 거쳐 첫 번째 성분에 간접적으로 결합되고, 여기서 G = 글리신, S = 세린, (x = 3, n = 3, 4, 5 또는 6, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3) 또는 (x = 4, n = 2, 3, 4 또는 5, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3)이다.

[0084] 양상 70은 양상 63 내지 69 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 치료 표적은 VEGF, C5, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF 또는 ANG2, 특히 VEGF이다.

[0085] 양상 71은 양상 63 내지 70 중 어느 하나의 접합체로서, 여기서 (a) 첫 번째 성분은 VEGF에 대한 항체 또는 항원 결합 항체 단편, 특히 항-VEGF Fab이고; 및/또는 (b) 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 각각, CD44 도메인 또는 TSG-6 도메인 또는 VG1 도메인을 포함하고; 및/또는 (c) 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이고, (d) 특히 여기서 (e) 첫 번째 성분은 항-VEGF Fab이고, 그리고 여기서 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 각각, CD44 도메인을 포함하고, 그리고 여기서 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이거나; 또는 (f) 첫 번째 성분은 항-VEGF Fab이고, 그리고 여기서 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 각각, TSG-6 도메인을 포함하고, 그리고 여기서 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이거나; 또는 (g) 첫 번째 성분은 항-VEGF Fab이고, 그리고 여기서 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 각각, VG1 도메인을 포함하고, 그리고 여기서 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 히알루로난이다.

[0086] 양상 72는 양상 63 내지 71 중 어느 하나의 접합체로서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 5 내에 포함된 VH 도메인 및 서열 번호: 6 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이고, 그리고 두 번째 성분은 서열 번호: 4를 포함하거나 또는 이것으로 구성된다.

[0087] 양상 73은 약제로서 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 양상 63 내지 72 중 어느 하나의 접합체, 그리고 임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체를 포함한다.

[0088] 양상 74는 눈 질환의 치료에 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 양상 63 내지 73 중 어느 하나의 접합체, 그리고 임의적으로 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체를 포함한다.

[0089] 양상 75는 안구내 전달, 특히 유리체내 주사용으로 제제화된, 양상 73 또는 74의 이용을 위한 조성물이다.

[0090] 양상 76은 양상 73 내지 75 중 어느 하나의 이용을 위한 조성물로서, 여기서 (a) 상기 조성물은 많으면 3 개월마다, 특히 많으면 4 개월마다, 더욱 특히 많으면 6 개월마다 투여되고; 및/또는 (b) 접합체에서 첫 번째 성분의 제거 반감기는 접합되지 않은 첫 번째 성분과 비교하여 적어도 3배, 적어도 4배 또는 적어도 5배 연장된다.

[0091] 양상 77은 양상 73 내지 76 중 어느 하나의 이용을 위한 조성물로서, 여기서 눈 질환은 연령 관련 황반 변성 (AMD), 특히 습성 AMD 또는 혈관신생 AMD, 당뇨병성 황반 부종 (DME), 당뇨병성 망막병증 (DR), 특히 증식성 DR 또는 비증식성 DR, 망막 정맥 폐쇄 (RVO) 또는 지도모양 위축 (GA)이다.

[0092] 양상 78은 개체에서 눈 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 양상 63 내지 72 중 어느 하나의 접합체 또는 양상 73 내지 77 중 어느 하나에서 규정된 바와 같은 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0093] 구체예 79는 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자로서, 상기 치료 분자는 히알루로난 결합 도메인 및 치료 활성제를 포함하되, 히알루로난 결합 도메인이 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다.

[0094] 구체예 80은 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자로서, 상기 치료 분자는 히알루로난 결합 도메인 및 치료 활성제를 포함하되, 히알루로난 결합 도메인이 HA 결합 도메인을 통해 히알루로난에 결합되는, 베르시칸의 적어도 두 개의 링크 도메인을 포함한다.

[0095] 구체예 81은 구체예 79 또는 80의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 400 Da 내지 200 kDa의 범위 안에 있다.

[0096] 구체예 82는 구체예 81의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 적어도 5 kDa이다.

[0097] 구체예 83은 구체예 81 또는 82의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 10 kDa이다.

[0098] 구체예 84는 구체예 79 내지 83 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 베르시칸의 링크 도메인에 몰 과잉의 결합 당량을 제공한다.

[0099] 구체예 85는 구체예 79 내지 84 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난은 1.5:1 내지 1:1의 범위 안에 있는, 히알루로난 대 치료 분자의 비율을 가능하게 한다.

[0100] 구체예 83은 구체예 79 내지 85 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 10 nM 내지 10 μM의 K_D를 갖는다.

[0101] 구체예 87은 구체예 79 내지 86 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 5 nM 내지 8 μM의 K_D를 갖는다.

[0102] 구체예 88은 구체예 79 내지 87 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 100 nM 내지 5 μM의 K_D를 갖는다.

[0103] 구체예 89는 구체예 79 내지 88 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 86, 60, 32 또는 29와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0104] 구체예 90은 구체예 79 내지 89 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 86, 60, 32 또는 29와 적어도 95% 동일하다.

[0105] 구체예 91은 구체예 79 내지 90 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 돌연변이를 포함한다.

[0106] 구체예 92는 구체예 79 내지 91 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 1개 내지 3개의 돌연변이를 포함하고, 여기서 1개 내지 3개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 그리고 절두를 포함한다.

[0107] 구체예 93은 구체예 79 내지 92 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 1개 내지 5개의 돌연변이를 포함하고, 여기서 1개 내지 5개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 그리고 절두를 포함한다.

[0108] 구체예 94는 구체예 79 내지 93 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여 절두 돌연변이를 갖는다.

[0109] 구체예 95는 구체예 94의 치료 분자로서, 여기서 절두 돌연변이는 N 말단 상에서 1 내지 129개 아미노산의 절두를 포함한다.

[0110] 구체예 96은 구체예 79 내지 95 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 야생형 베르시칸의 Ig 도메인이 부재하는 절두된 서열이다.

[0111] 구체예 97은 구체예 79 내지 96 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 적어도 하나를 포함한다.

[0112] 구체예 98은 구체예 79 내지 97 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개를 포함한다.

[0113] 구체예 99는 구체예 79 내지 98 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 적어도 하나에서 돌연변이를 포함한다.

[0114] 구체예 100은 구체예 79 내지 99 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295,

Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개에서 돌연변이를 포함한다.

[0115] 구체예 101은 구체예 79 내지 100 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5 또는 6개에서 돌연변이를 포함한다.

[0116] 구체예 102는 구체예 79 내지 101 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 하나를 포함한다.

[0117] 구체예 103은 구체예 79 내지 102 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 Y208A 및 H306A 중 적어도 하나를 포함한다.

[0118] 구체예 104는 구체예 79 내지 103 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개를 포함한다.

[0119] 구체예 105는 구체예 79 내지 104 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5 또는 6개를 포함한다.

[0120] 구체예 106은 구체예 79 내지 105 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 서열 번호: 30, 서열 번호: 31, 서열 번호: 32, 서열 번호: 33, 서열 번호: 34, 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51, 서열 번호: 52, 서열 번호: 53, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 또는 서열 번호: 59이다.

[0121] 구체예 107은 구체예 79 내지 106 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 올리고펩티드, 단백질, 또는 핵산을 포함한다.

[0122] 구체예 108은 구체예 79 내지 107 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 항체, 항원 결합 단편, 시스테인 매듭 펩티드, 성장 인자, 또는 앱타머를 포함한다.

[0123] 구체예 109는 구체예 108의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 항원에 결합할 수 있다.

[0124] 구체예 110은 구체예 109의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 VEGF, HtrA1, IL-33, C5, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF, 또는 ANG2에 결합할 수 있다.

[0125] 구체예 111은 구체예 109 또는 110 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편 (Fab 단편, F(ab')2 단편, Fab' 단편, VhH 단편, scFv 단편, scFv-Fc 단편, 또는 미니바디를 포함하지만 이들에 한정되지 않음)이다.

[0126] 구체예 112는 구체예 109 또는 110 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 올리고펩티드 또는 단백질이다.

[0127] 구체예 113은 구체예 102의 치료 분자로서, 여기서 올리고펩티드 또는 단백질은 시스테인 매듭 펩티드 또는 효소이다.

[0128] 구체예 114는 구체예 103의 치료 분자로서, 여기서 시스테인 매듭 펩티드는 서열 번호: 92와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일하다.

[0129] 구체예 115는 구체예 79 내지 108 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 섬유모세포 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 신경 성장 인자 (NGF), VEGF, 섬유모세포 성장 인자 (FGF), 그리고 인슐린 유사 성장

인자-I (IGF-I)을 포함하는 성장 인자이다.

[0130] 구체예 116은 구체예 110의 치료 분자로서, 여기서 VEGF에 결합하는 치료 활성제는 라니비주맙, 아플리베르셉트, 브롤루시주맙-dbll 및 베바시주맙을 포함한다.

[0131] 구체예 117은 구체예 79 내지 110 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 핵산이다.

[0132] 구체예 118은 구체예 117의 치료 분자로서, 여기서 핵산은 앱타머, 안티센스 올리고뉴클레오티드 및/또는 잠금 핵산이다.

[0133] 구체예 119는 구체예 118의 치료 분자로서, 여기서 앱타머는 VEGF에 결합한다.

[0134] 구체예 120은 구체예 108, 118, 또는 119 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 앱타머는 페길화된다.

[0135] 구체예 121은 구체예 108 또는 118 내지 120 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 앱타머는 Macugen®이다.

[0136] 구체예 122는 구체예 79 내지 121 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제 및 히알루로난 결합 도메인은 링커를 통해 공유적으로 연결된다.

[0137] 구체예 123은 구체예 122의 치료 분자로서, 여기서 링커는 적어도 4개의 아미노산이다.

[0138] 구체예 124는 구체예 122 또는 123의 치료 분자로서, 여기서 링커는 50개 아미노산보다 길지 않다.

[0139] 구체예 125는 구체예 122 내지 124 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 4-25개의 아미노산이다.

[0140] 구체예 126은 구체예 122 내지 125 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 (GxS)n 또는 (GxS)nGm을 포함하고, 여기서 G = 글리신, S = 세린, 그리고 (x = 3, n = 3, 4, 5 또는 6, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3), 또는 (x = 4, n = 2, 3, 4 또는 5, 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3)이다.

[0141] 구체예 127은 구체예 122 내지 126 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 GGGS (서열 번호: 84) 또는 이의 다합체, 더욱 특히 (GGGGS)3 (서열 번호: 85)을 포함한다.

[0142] 구체예 128은 구체예 122 내지 125 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 (GxS)n을 포함하고, 여기서 G = 글리신, S = 세린, 그리고 (n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10)이다.

[0143] 구체예 129는 구체예 122 내지 125 또는 128 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 링커는 GSGSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호: 95)를 포함한다.

[0144] 구체예 130은 구체예 79 내지 107 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 치료 활성제는 항-VEGF 항원 결합 모이어티 및 시스테인 매듭 펩티드를 포함한다.

[0145] 구체예 131은 구체예 130의 치료 분자로서, 여기서 시스테인 매듭 펩티드 및 히알루로난 결합 도메인은 서열 GSGSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호: 95)를 포함하는 링커를 통해 연결된다.

[0146] 구체예 132는 구체예 130 또는 131의 치료 분자로서, 여기서 서열은 (a) 항-VEGF 항원 결합 모이어티; 및 (b) 서열 번호: 93 또는 서열 번호: 94와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 포함한다.

[0147] 구체예 133은 구체예 79 내지 132 중 어느 하나의 치료 분자로서, 여기서 히알루로난 결합 도메인은 히알루로난에 비공유적으로 결합할 수 있다.

[0148] 구체예 134는 환자의 조직으로 표적화된 치료 분자에 대한 전달 방법으로서, 상기 전달 방법은 구체예 79 내지 133 중 어느 하나의 치료 분자를 환자에게 투여하고, 그리고 치료 분자가 표적 조직에 치료 활성제의 지속성 전달을 제공하도록 허용하는 단계를 포함한다.

[0149] 구체예 135는 구체예 134의 방법으로서, 투여 단계 전, 치료 분자를 히알루로난에 결합시키는 단계를 더욱 포함한다.

[0150] 구체예 136은 구체예 135의 방법으로서, 치료 분자를 포함하는 첫 번째 용액 및 히알루로난을 포함하는 두 번째 용액을 혼합하는 단계를 더욱 포함한다.

[0151] 구체예 137은 구체예 136의 방법으로서, 여기서 혼합은 용기를 포함한다.

[0152] 구체예 138은 구체예 137의 방법으로서, 여기서 용기는 2 구획 주입기이다.

[0153] 구체예 139는 구체예 136 내지 138 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 혼합은 개체에게 투여할 준비가 된 히알루로난에 결합된 치료 분자를 생성한다.

[0154] 구체예 140은 구체예 134 내지 139 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 투여 단계는 단회 주사이다.

[0155] 구체예 141은 구체예 134 내지 140 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 표적 조직은 눈 또는 뇌를 포함한다.

[0156] 구체예 142는 구체예 134 내지 141 중 어느 하나의 방법으로서, 여기서 치료 분자는 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여 향상된 유리체 양립성, 더 긴 유리체 체류 시간, 더 긴 유리체 반감기, 및/또는 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 제공한다.

[0157] 추가 목적과 이점이 아래의 설명에서 부분적으로 진술될 것이고, 그리고 이러한 설명으로부터 부분적으로 명백할 것이거나, 또는 실시에 의해 학습될 수 있다. 이들 목적과 이점은 특히, 첨부된 청구범위에서 지적된 요소 및 조합에 의하여 실현되고 획득될 것이다.

[0158] 앞서 말한 일반적인 설명 및 아래의 상세한 설명 둘 모두 단지 예시적이고 설명적이며 청구범위를 한정하지 않는 것으로 이해된다.

[0159] 본 명세서에서 통합되고 이의 일부를 구성하는 첨부된 도면은 하나의 (여러) 구체예(들)를 도해하고, 그리고 설명과 함께, 본원에서 설명된 원리를 설명하는 데 역할을 한다.

도면의 간단한 설명

[0160] **도면에 관한 간단한 설명**

도 1은 10 kDa 히알루로난 (HA)과의 전복합화가 있는 경우 및 없는 경우에, Fab-히알루로난 결합 도메인 (Fab-HABD) 융합 단백질 VPDF-2xCD44의 크기 배제 크로마토그래피 (SEC; TSKgel UP-SW3000, 2 μm, 4.6x150 m m; 작업 완충액 0.2M KPh, 0.25 M KCl pH 6.2)를 보여준다. Fab-HABD는 실시예 1에서 설명된 바와 같이 제조되고 실시예 2에서 설명된 바와 같이 검사되었다.

도 2a-2b는 뉴질랜드 백색 토끼에서 용량 정규화된 유리체내 (IVT) 주사 이후에, 토끼 항-c-Met Fab (RabFab) 및 토끼 항-c-Met Fab-VG1 Fab-HABD (RabFab-Fab-HABD)의 유리체 약물동력학 (PK)을 보여준다. 도 2a는 IVT 후 시간의 추이에서 유리체 내에 존재하는 RabFab 또는 RabFab-Fab-HABD의 양을 보여준다. RabFab-융합, 다시 말하면, ^{125}I-RabFab-2xTSG6 (서열 번호: 15 및 16; 0.5 mg/눈) 및 RabFab-1xTSG6 (서열 번호: 13 및 14; 0.3 mg/눈), RabFab (서열 번호: 61 및 62; 0.3 mg/눈), 그리고 ^{125}I-라니비주맙 (^{125}I-Lucentis®) 대조 (0.5 mg/눈)에 대한 데이터가 도시된다. 데이터 포인트는 용량 정규화된다. 도 2b는 RabFab (0.15 mg/눈), 또는 0.026 mg/눈, 0.15 mg/눈 또는 2.5 mg/눈에서 RabFab-2xTSG6에 대해 형광광도측정에 의해 모니터링된 바와 같은 유리체 약물동력학을 보여준다.

도 3은 TSG6 (서열 번호: 32)의 IVT 투약 이후에 4 일째에 망막 변성을 보여주는 OS 토끼 눈에 대한 조직병리학 이미지를 보여준다.

도 4a-4b는 방수에서 및 유리체액에서 VPDF (변형되지 않음; 도 4a) 및 VPDF-2xCD44 + 10 kDa HA (도 4b)의 IVT 약물동력학적 (PK) 프로필 (시간의 추이에서 약물의 평균 농도)을 보여준다.

도 5a-5c는 돼지 유리체와의 상이한 혼합물을 보여준다. 도 5a는 변형되지 않은 항-VEGF/항-PDGF Fab 단편 (VPDF)과 혼합된 돼지 유리체가 균질 (투명)하다는 것을 보여준다. 도 5b는 VPDF-2xCD44와 혼합된 돼지 유리체가 불균질 (침전)하다는 것을 보여준다. 도 5c는 1% (w/v) HA 10 kDa와의 VPDF-2xCD44 전복합체와 혼합된 돼지 유리체가 균질 (투명)하다는 것을 보여준다.

도 6a-6f는 상이한 농도의 VPDF-2xCD44와 혼합된 돼지 유리체를 보여준다. 도 6a: 37.5 mg/mL VPDF-2xCD44. 도 6b: 9.4 mg/mL VPDF-2xCD44. 도 6c: 2.4 mg/mL VPDF-2xCD44. 도 6d: 0.6 mg/mL VPDF-2xCD44. 도 6e: 0.15 mg/mL VPDF-2xCD44. 도 6f: 0.04 mg/mL VPDF-2xCD44. +++ 강한 침전; ++ 중간 침전; + 약한 침전; - 투명한 유리체.

도 7a-7c는 표시된 VPDF-2xCD44 샘플의 주사 시에 전체 돼지 눈에서 유리체 불균질성을 보여준다. 도 7a: 완충액 대조. 도 7b: 비복합화된 VPDF-2xCD44. 도 7c: HA-복합화된 VPDF-2xCD44.

도 8a-8b는 베르시칸의 도메인 구조 및 링크 도메인의 아미노산 서열을 보여준다. 베르시칸은 유리체액에 내인

성이다. 도 8a는 베르시칸 도메인: VG1 도메인, GAG 부착 도메인, 그리고 G3 도메인을 보여준다. VG1 도메인 (WT VG1; 서열 번호: 29)은 Ig 유사 도메인, 그 이후에 HA 결합을 책임지는 2개의 링크 도메인, 다시 말하면, 링크1 및 링크2를 포함한다. 도 8b는 TSG6 LD (서열 번호: 4), VG1 링크1 (서열 번호: 30) 및 VG1 링크2 (서열 번호: 31)를 포함하는 링크 도메인의 서열 정렬을 보여준다.

도 9a-9b는 돼지 유리체액에서 TSG6은 침전되지만 WT VG1은 그렇지 않다는 것을 보여준다. TSG6을 1:4 희석된 (PBS) 돼지 유리체와 혼합하는 경우에 혼탁이 관찰되었다 (하지만 WT VG1의 경우에는 그렇지 않음). 유리체에서 TSG6 및 WT VG1의 최종 농도는 약 1 mg/mL이었다. 도 9a는 대조와 대비하여 TSG6을 보여준다 - 원심분리 시에 펠렛이 관찰되었다. 도 9b는 대조와 대비하여 WT VG1을 보여준다 - 원심분리 시에 펠렛이 관찰되지 않았다.

도 10a-10b는 RabFab-TSG6은 돼지 유리체에서 침전되는 반면, RabFab-VG1은 그렇지 않다는 것을 보여준다. TSG6 또는 VG1은 각각, RabFab에 재조합적으로 부착되고, 그리고 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 일차 아민-표지화 화학을 통해 Alexa488에 접합된다. 도 10a는 RabFab-TSG6을 보여준다. 도 10b는 RabFab-VG1을 보여준다.

도 11a-11c는 VG1 및 RabFab-VG1이 토끼 유리체액에서 침전되지 않는다는 것을 보여준다. 도 11a는 ~40 g/L에서 VG1을 보여준다. 도 11b는 ~40 g/L에서 RabFab-VG1을 보여준다. 도 11c는 ~17 g/L에서 RabFab-VG1 + 10 kDa HA를 보여준다. 어떤 조건에서도 침전이 관찰되지 않았다.

도 12는 탈체에서 유리체액과의 VG1 상호작용의 형광 상관 분광법 (FCS) 치수를 보여준다. 느린 확산을 보여주는 치수는 이들 단백질이 유리체액과 상호작용한다는 것을 암시하는 반면, 빠른 확산은 이들이 그렇지 않다는 것을 암시한다. 유리체액에 대한 희석 인자는 히트맵의 상단에 도시된다 - 가장 왼쪽 칼럼은 희석되지 않은 대조/샘플을 보여주고; 가장 오른쪽 칼럼은 인산염 완충된 식염수 (PBS), pH 7.4를 보여주고; 그리고 중간에 있는 칼럼은 왼쪽에서 오른쪽으로 증가하는 희석 인자를 보여준다. 비결합 대조에 대한 치수는 2개의 위쪽 열에서 도시된다. 아래의 샘플에 대한 치수는 3-8번째 열에서 도시된다: 자유 VG1, PigFab-VG1, PigFab-VG1 + 10 kDa HA (1:1), 자유 VG1, RabFab-VG1, 그리고 RabFab-VG1 + 10 kDa HA (1:1). 비결합 대조가 가장 빠른 확산을 보여주었다 (도 12, 1번째 및 2번째 열). 모든 샘플이 대조에 비하여 유의미한 지연된 확산을 보여주긴 하지만, 자유 VG1, PigFab-VG1 및 RabFab-VG1은 유리체가 6,000배를 초과하여 희석될 때까지, 지연된 확산을 보여주었다 (도 12, 3번째, 4번째, 6번째 및 7번째 열; 희석되지 않음에서 희석 인자 6,561로). 느린 확산이 10 kDa HA와 공동 제제화된 샘플에 대해 관찰되었지만, 희석 인자가 729배보다 크면 효과가 사라졌다 (도 12, 5번째 열: PigFab-VG1+10 kDa HA (1:1), 그리고 8번째 열: RabFab-VG1+10 kDa HA (1:1); 희석 인자 729에서 PBS로). 이들 결과는 VG1이 내인성 HA와 상호작용할 수 있다는 것을 암시한다.

도 13은 37 ℃에서 항-HtrA1-VG1에 대한 열응력 (다시 말하면, 단백질 안정성) 분석을 보여준다. T0 = 인큐베이션 없음 대조. T4wk = 4 주의 인큐베이션 후.

도 14는 돼지 방수에서 pigFab-VG1의 평균 농도를 보여준다. 농도는 1.8 mg의 pigFab-VG1 단독, 또는 동등한 질량 농도의 10 kDa HA와 전복합화된 pigFab-VG1의 IVT 주사 이후에 질량 분광분석에 의해 계측되었다. 여러 동물로부터 평균값이, 표준 편차를 표시하는 오차 막대와 함께 도시된다.

도 15는 쥐 레이저 유발 맥락막 혈관신생 (쥐 레이저 CNV)에서 VPDF VG1에 의한 혈관신생의 저해 퍼센트를 보여준다.

도 16a-16c는 처리후 30 일째에 검사 물품으로 처리된 토끼 눈의 조직병리학을 보여준다. 도 16a는 WT VG1을 보여주고, 도 16b는 RabFab-VG1을 보여주고, 그리고 도 16c는 HA와 함께 RabFab-VG1을 보여준다.

도 17a-17b는 생쥐에서 뇌실내 주사 후 뇌 수준을 보여준다. 도 17a는 시간의 추이에서 뇌에서 유지된 단백질의 양을 보여준다. 도 17b는 곡선 아래 면적 (AUC)에 의해 계측될 때, 뇌에서 노출 수준을 보여준다. 집단간 비교를 위해, **는 $p<0.01$을 표시하고, 그리고 ***는 $p<0.001$을 표시한다. 항-gD = 항-단순 헤르페스 바이러스-1 당단백질 D. BRD = 항-gD Fab-VG1.

도 18은 WT VG1 및 HA 접합체의 결정 구조를 보여준다. VG1의 Ig 도메인은 도면의 상단에 도시되고, 링크1 도메인은 도면의 오른쪽 하단에 도시되고, 그리고 링크2 도메인은 도면의 왼쪽 하단에 왼쪽에 도시된다. HA의 결합은 VG1 분자의 오른쪽 하단에서 더 작은 HA 분자로 도시된다.

도 19는 VG1 변이체 서열 번호: 29, 33-59의 정렬을 보여준다. N 말단 상에서 첫 20개의 아미노산은 베르시칸 신호 서열 (*로 표시됨)이다. 상자로 표시된 아미노산은 보존된 잔기이다. 이들 단백질 모두, 정제를 위해 C 말단 His-태그를 갖도록 생성되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0161] **서열에 관한 설명**

[0162] 표 1은 본원에서 언급된 일정한 서열의 목록을 제공한다. 아미노산 서열은 N 말단에서 C 말단으로 제시된다.

표 1

[0163]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
인간 CD44 전장 서열	MDKFWWHAAWGLCLVPLSLAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTLPTMAQMEK ALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTSNTSQYDTYCFNASAPPEEDCTSVTDLP NAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIYPSNPTDDDVSSGSSSERSSTSGGYIFYTFSTVHPI PDEDSPWITDSTDRIPATTLMSTSATATETATKRQETWDWFSWLFLPSESKNHLHTTTQMAGTSSNTI SAGWEPNEENEDERDRHLSFSGSGIDDDEDFISSTISTTPRAFDHTKQNQDWTQWNPSHSNPEVLLQT TTRMTDVDRNGTTAYEGNWNPEAHPPLIHHEHHEEEETPHSTSTIQATPSSTTEETATQKEQWFGNRW HEGYRQTPKEDSHSTTGTAAASAHTSHPMQGRTTPSPEDSSWTDFPNPISHPMGRGHQAGRRMDMDSS HSITLQPTANPNTGLVEDLDRTGPLSMTTQQSNSQSPSTSHEGLEEDKDHPTTSTLTSSNRNDVTGGR RDPNHSEGSTTLLEGYTSHYPHTKESRTFIPVTSAKTGSFGVTAVTVGDSNSNVNRSLSGDQDTFHPS GGSHTTHGSESDGHSHGSQEGGANTTSGPIRTPQIPEWLIILASLLALALILAVCIAVNSRRRCGQKK KLVINSGNGAVEDRKPSGLNGEASKSQEMVHLVNKESSETPDQFMTADETRNLQNVDMKIGV	1
Fab-HABD에서 이용된 CD44 HA 결합 도메인 서열	AQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVV IPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPPEEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRY VQKGEYRTNPEDIY	2
TNFAIP6; 전장 TSG-6	MILIYLFLLLVEDTQGWGFKDGIFHNSIWLEKAAGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEFEGGHLATY KQLEAARKIGFHVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKECG GVFTDPKQIFKSPGFPNEYEDNQICYWHIRLKYGQRIHLSFLDFDLEDDPGCLADYVEIYDSYDDVHG FVGRYCGDELPDDIISTGNVMTLKFLSDASVTAGGFQIKYVAMDPVSKSSQGKNTSTTSTGNKNFLAG RFSHL	3
TSG-6 링크 도메인 (TSG6; 36-133)	GVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEFEGGHLATYKQLEAARKIGFHVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNC GFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKHHHHHH	4
VPDF-1xCD44 HC	DLQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAADGWWFGYTDMSWVRQAPGKGLEWVGSISYKGGSTYYNTKFIGRF TISRDDDTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDGYFDTWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFN STLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPP EEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	5
VPDF-1xCD44 LC	AIYMHQEPSSLSASVGDRVTITCHGSYWLSNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGKEREHGVPSRFSGSGSH EDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYRYHPYTFGHGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGE	6
VPDF-2xCD44 HC	DLQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAADGWWFGYTDMSWVRQAPGKGLEWVGSISYKGGSTYYNTKFIGRF TISRDDDTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDGYFDTWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFN STLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPP EEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	7
VPDF-2xCD44 LC	AIYMHQEPSSLSASVGDRVTITCHGSYWLSNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGKEREHGVPSRFSGSGSH EDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYRYHPYTFGHGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTLPT MAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPPEEDCT SVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	8

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
Dig-1xCD44 HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWIRQAPGKGLEWVSSINIGATYIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGSPYEYDKAYYSMAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVPHVEKNGRYSISRTE AADLCKAFNSTLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDT YCFNASAPPEEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	9
Dig-1xCD44 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIKNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYSSTLLSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSITLPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	10
Dig-2xCD44 HC	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWIRQAPGKGLEWVSSINIGATYIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGSPYEYDKAYYSMAYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVPHVEKNGRYSISRTE AADLCKAFNSTLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDT YCFNASAPPEEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	11
Dig-2xCD44 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIKNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYSSTLLSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSITLPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEAADLCKAFNSTLPT MAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPPEEDCT SVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	12
RabFab-1xTSG6 HC	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFTISSYHMSWVRQAPGKGLEWIGIMRNTANIYYASWAKGRFTI SKTSPTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGRPGDGALSLWGQGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPS STVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATN TKVDKTVAPSTCSKPTGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLEAARKIGFHVC AAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKHHHHHH	13
RabFab-1xTSG6 LC	ADVVMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASQSIGTALAWYQQKPGQPPKLLIYRTSTLESGVPSRFKGSGS GTDFTLTISDLECADAATYYCQSAYVSGGNIYTFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTI VCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNGHKEYTCKVTQGTT SVVQSFNRGDC	14
RabFab-2xTSG6 HC	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFTISSYHMSWVRQAPGKGLEWIGIMRNTANIYYASWAKGRFTI SKTSPTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGRPGDGALSLWGQGTLVTVSSGQPKAPSVFPLAPCCGDTPS STVTLGCLVKGYLPEPVTVTWNSGTLTNGVRTFPSVRQSSGLYSLSSVVSVTSSSQPVTCNVAHPATN TKVDKTVAPSTCSKPTGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLEAARKIGFHVC AAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKHHHHHH	15
RabFab-2xTSG6 LC	ADVVMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASQSIGTALAWYQQKPGQPPKLLIYRTSTLESGVPSRFKGSGS GTDFTLTISDLECADAATYYCQSAYVSGGNIYTFGGGTEVVVKGDPVAPTVLIFPPAADQVATGTVTI VCVANKYFPDVTVTWEVDGTTQTTGIENSKTPQNSADCTYNLSSTLTLTSTQYNGHKEYTCKVTQGTT SVVQSPNRGDCGGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGRLATYKQLEAARKIGFHVCAAGWM AKGRVGYPIVKPGSNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKDYKDDDDK	16
G6.31-1xTSG6 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVPFLPYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLEAA RKIGFHVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKHHHHHH	17

[0164]

[0165]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
G6.31-1xTSG6 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYGNPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	18
G6.31-2xTSG6 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISDYWIHWVRQAPGKGLEWVAGITPAGGYTYYADSVKGRF TISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARFVFFLPYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLEAA RKIGFHVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKHHHHHH	19
G6.31-2xTSG6 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYGNPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEGGGGSGVYHREARSGKYKLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLEAARKIGFHVCAAGWMA KGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAKDYKDDDDK	20
NVS24-1xTSG6 (Lava12) HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFSLTNYYMTWVRQAPGKGLEWVGFIDPQNDPYYATWAKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGNHNSGWGLNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCGSGGGGVYHREAISGKYYLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLLAAQKIGF HVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHA	21
NVS24-1xTSG6 (Lava12) LC	EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQKIHSWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASKLAKGVPSRFSGSGSG AEFTLTISSLQPDDFATYYCQNVYLASTNGANFGQGTKLTVLKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	22
VPDF-1xTSG6 (Lava12) HC	DLQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAADGWWFGYTDMSWVRQAPGKGLEWVGSISYKGGSTYYNTKFIGRF TISRDDDTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDGYPDTWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSGVYHREAISGKYYLTYAEAKAVCEPEGGHLATYKQLLAAQKIG FHVCAAGWMAKGRVGYPIVKPGPNCGFGKTGIIDYGIRLNRSERWDAYCYNPHAK	23
VPDF-1xTSG6 (Lava12) LC	AIYMHQEPSSLSASVGDRVTITCHGSYWLSNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGKEREHGVPSRFSGSGSH EDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYRYHPYTFGHGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	24
VPDF-2xCD44-녹아웃 (ko) HC	DLQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAADGWWFGYTDMSWVRQAPGKGLEWVGSISYKGGSTYYNTKFIGRF TISRDDDTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDDGYPDTWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRSSISRTEAADLCKAFN STLPTMAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPP EEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	25
VPDF-2xCD44-녹아웃 (ko) LC	AIYMHQEPSSLSASVGDRVTITCHGSYWLSNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGKEREHGVPSRFSGSGSH EDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYRYHPYTFGHGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEGGGGSGGGGSGGGGSAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRSSISRTEAADLCKAFNSTLPT MAQMEKALSIGFETCRYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTYNTSQYDTYCFNASAPPEEDCT SVTDLPNAFDGPITITIVNRDGTRYVQKGEYRTNPEDIY	26

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
RabFab-VG1, PigFab-VG1, G6.31.Fab-VG1, VPDF-VG1, VPDF-VG1△Ig, 20D12v2.3-VG1에 대한 링커	GGGGS	27
링커	GGGGSGGGGSGGGGS	28
WT VG1	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VPHYRAATSR YTLNPEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTPEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGPPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	29
VG 링크1	GSGVVFHYRA ATSRYTLNFE AAQKACLDVG AVIATPEQLF AAYEDGFEQC DAGWLADQTV RYPIRAPRVG CYGDKMGKAG VRTYGFRSPQ ETYDVYCYVD HHHHHHHH	30
VG 링크2	GDVFHLTVPS KFTPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GFDQCDYGWL SDASVRHPVT VARAQCGGGL LGVRTLYRFE NQTGPPPPDS RFDAYCFKPK EGNSHHHHHH HH	31
VG1△Ig	VVFHYRAATS RYTLNFEAAQ KACLDVGAVI ATPEQLFAAY EDGFEQCDAG WLADQTVRYP IRAPRVGCYG DKMGKAGVRT YGFRSPQETY DVYCYVDHLD GDVFHLTVPS KFTPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GFDQCDYGWL SDASVRHPVT VARAQCGGGL LGVRTLYRFE NQTGPPPPDS RFDAYCFKPK EGNSHHHHHH HH	32
R160A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VPHYRAATSA YTLNPEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTPEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGPPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH HH	33
Y161A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VPHYRAATSR ATLNPEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTPEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGPPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH H	34
E194A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VPHYRAATSR YTLNPEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFAQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTPEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGPPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH H	35
D197A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VPHYRAATSR YTLNPEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCAAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTPEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGPPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH H	36

[0166]

[0167]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
D197S	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCSAGV LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	37
Y208A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRAPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	38
Y208F	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRFPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	39
R214A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRYPI RAPaVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	40
R214K	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRYPI RAPKVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	41
M222A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KAGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	42
Y230A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDaSLTVVKL LaSDaGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGV LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTA GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DaSVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR PDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	43

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
Y230F	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTF GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	44
R233A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFASPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	45
K260A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSA PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	46
F261A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK ATFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	47
D295A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCAYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	48
Y296A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDAGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	49
H306A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRAPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	50

[0168]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
R312A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV AAAQCGGGLL GVRTLYRPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	51
R312K	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV AKAQCGGGLL GVRTLYRPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	52
L325A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTAYRPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	53
Y326A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLARPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	54
R327A	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYAPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	55
RY160KF	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSK FTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	56
LYR325LFK	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLFKPEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHHH H	57

[0169]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
KF26ORY	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLFCHFSTMF TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSR YTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH H	58
DY29SSF	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLFCHFSTMF TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK FTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCSFGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE GNSHHHHHH H	59
WT VG1 공통 서열	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLFCHFSTMF TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQC(D/S)AGW LADQTVRXPI RAP(R/K)VGCYGD KXGKAGVRTX GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSX (P/Y)TFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQC(D/S)XGWLS DASVRXPVTV AXAQCGGGLL GVRTXXXFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKPKE X = 임의의 아미노산; (D/S) = Asp 또는 Ser; (R/K) = Arg 또는 Ser; 굵게 표시된 아미노산 = 결합을 증강하기 위해 일부 구체예에서 돌연변이되지 않은 야생형 잔기.	60
RabFab, LC	ADVVMTQTPA SVSAAVGGTV TIKCQASQSI GTALAWYQQK PGQPPKLLIY RTSTLESGVP SRFKGSGSGT DFTLTISDLE CADAATYYCQ SAYVSGGNIY TFGGGTEVVV KGDPVAPTVL IFPPAADQVA TGTVTIVCVA NKYFPDVTVT WEVDGTTQTT GIENSKTPQN SADCTYNLSS TLTLTSTQYN GHKEYTCKVT QGTTSVVQSF NRGDC	61
RabFab, HC	QSLEESGGRL VTPGTPLTLT CTVSGFTISS YHMSWVRQAP GKGLEWIGIM RNTANIYYAS WAKGRFTISK TSPTTVDLKM TSLTTEDTAT YFCARGRPGD GALSLWGQGT LVTVSSGQPK APSVFPLAPC CGDTPSSTVT LGCLVKGYLP EPVTVTWNSG TLTNGVRTFP SVRQSSGLYS LSSVVSVTSS SQPVTCNVAH PATNTKVDKT VAPSTCSKPT	62
RabFab-VG1, LC	ADVVMTQTPA SVSAAVGGTV TIKCQASQSI GTALAWYQQK PGQPPKLLIY RTSTLESGVP SRFKGSGSGT DFTLTISDLE CADAATYYCQ SAYVSGGNIY TFGGGTEVVV KGDPVAPTVL IFPPAADQVA TGTVTIVCVA NKYFPDVTVT WEVDGTTQTT GIENSKTPQN SADCTYNLSS TLTLTSTQYN GHKEYTCKVT QGTTSVVQSF NRGDC	63
RabFab-VG1, HC	QSLEESGGRL VTPGTPLTLT CTVSGFTISS YHMSWVRQAP GKGLEWIGIM RNTANIYYAS WAKGRFTISK TSPTTVDLKM TSLTTEDTAT YFCARGRPGD GALSLWGQGT LVTVSSGQPK APSVFPLAPC CGDTPSSTVT LGCLVKGYLP EPVTVTWNSG TLTNGVRTFP SVRQSSGLYS LSSVVSVTSS SQPVTCNVAH PATNTKVDKT VAPSTCSKPT GGGGSLHKVK VGKSPPVRGS LSGKVSLPCH PSTMPTLPPS YNTSEPLRIK WSKIEVDKNG KDLKETTVLV AQNGNIKIGQ DYKGRVSVPT HPEAVGDASL TVVKLLASDA GLYRCDVMYG IEDTQDTVSL TVDGVVFHYR AATSRYTLNF EAAQKACLDV GAVIATPEQL FAAYEDGFEQ CDAGWLADQT VRYPIRAPRV GCYGDEMGKA GVRTYGFRSP QETYDVYCYV DHLDGDVFHL TVPSKFTFEE AAKECENQDA RLATVGELQA AWRNGFDQCD YGWLSDASVR HPVTVARAQC GGGLLGVRTL YRFENQTGFP PPDSRFDAYC FKPKEGNSHH HHHHH	64

[0170]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
PigFab-VG1, LC	AIQLTQSPAS LAASLGDTVS ITCRASQDVS TAVAWYQQQA GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFKGSGSGTD FTLTISGLQA EDVATYYCQQ GYGNPFTFGQ GTKLELKRAD AKPSVFIFPP SKEQLETQTV SVVCLLNSFF PREVNVKWKV DGVVQSSGIL DSVTEQDSKD STYSLSSTLS LPTSQYLSHN LYSCEVTHKT LASPLVKSFS RNECEA	65
PigFab-VG1, HC	EEKLVESGGG LVQPGGSLRL SCVGSGFTIS DYWIHWVRQA PGKGLEWLAG ITPAGGYTYY ADSVKGRFTI SSDNSQNTAY LQMNSLRTED TARYYCARFV FPLPYAMDYW GPGVEVVVSS APKTAPSVYP LAPCSRDTSG PNVALGCLAS SYFPEPVTVT WNSGALSSGV HTFPSVLQPS GLYSLSSMVT VPASSLSSKS YTCNVNHPAT TTKVDKRVGT KTKGGGGSLH KVKVGKSPPV RGSLSGKVSL PCHFSTMPTL PPSYNTSEFL RIKWSKIEVD KNGKDLKETT VLVAQNGNIK IGQDYKGRVS VPTHPEAVGD ASLTVVKLLA SDAGLYRCDV MYGIEDTQDT VSLTVDGVVF HYRAATSRYT LNFEAAQKAC LDVGAVIATP EQLFAAYEDG FEQCDAGWLA DQTVRYPIRA PRVGCYGDKM GKAGVRTYGF RSPQETYDVY CYVDHLDGDV FHLTVPSKFT FEEAAKECEN QDARLATVGE LQAAWRNGFD QCDYGWLSDA SVRHPVTVAR AQCGGGLLGV RTLYRFENQT GFPPPDSRFD AYCFKPKE	66
G6.31.Fab-VG1, LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDAATYYCQQ GYGAPFTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	67
G6.31.Fab-VG1 HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTIS DYWIHWVRQA PGKGLEWVAG ITPAGGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMRSLRAED TAVYYCARFV FPLPYAMDYW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTGG GGSLHKVKVG KSPPVRGSLS GKVSLPCHFS TMPTLPPSYN TSEFLRIKWS KIEVDKNGKD LKETTVLVAQ NGNIKIGQDY KGRVSVPTHP EAVGDASLTV VKLLASDAGL YRCDVMYGIE DTQDTVSLTV DGVVFHYRAA TSRYTLNFEA AQKACLDVGA VIATPEQLFA AYEDGFEQCD AGWLADQTVR YPIRAPRVGC YGDKMGKAGV RTYGFRSPQE TYDVYCYVDH LDGDVFHLTV PSKFTFEEAA KECENQDARL ATVGELQAAW RNGFDQCDYG WLSDASVRHP VTVARAQCGG GLLGVRTLYR FENQTGFPPP DSRFDAYCFK PKE	68
VPDF-VG1, LC	AIYMHQFPSS LSASVGDRVT ITCHGSYWLS NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD GKEREHGVPS RFSGSGSGHED YTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRYHPYTFGH GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	69
VPDF-VG1, HC	DLQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAADGWWFG YTDMSWVRQA PGKGLEWVGS ISYKGGSTYY NTKFIGRFTI SRDDDTNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDD GYFDTWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTGGGGSL HKVKVGKSPP VRGSLSGKVS LPCHFSTMPT LPPSYNTSEF LRIKWSKIEV DKNGKDLKET TVLVAQNGNI KIGQDYKGRV SVPTHPEAVG DASLTVVKLL ASDAGLYRCD VMYGIEDTQD TVSLTVDGVV FHYRAATSRY TLNFEAAQKA CLDVGAVIAT PEQLFAAYED GFEQCDAGWL ADQTVRYPIR APRVGCYGDK MGKAGVRTYG FRSPQETYDV YCYVDHLDGD VFHLTVPSKF TFEEAAKECE NQDARLATVG ELQAAWRNGF DQCDYGWLSD ASVRHPVTVA RAQCGGGLLG VRTLYRFENQ TGFPPPDSRF DAYCFKPKE	70

[0171]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
VG1-Fc (2x)	LHKVKVGKSP PVRGSLSGKV SLPCHFSTMP TLPPSYNTSE FLRIKWSKIE VDKNGKDLKE TTVLVAQNGN IKIGQDYKGR VSVPTHPEAV GDASLTVVKL LASDAGLYRC DVMYGIEDTQ DTVSLTVDGV VFHYRAATSR YTLNFEAAQK ACLDVGAVIA TPEQLFAAYE DGFEQCDAGW LADQTVRYPI RAPRVGCYGD KMGKAGVRTY GFRSPQETYD VYCYVDHLDG DVFHLTVPSK PTFEEAAKEC ENQDARLATV GELQAAWRNG FDQCDYGWLS DASVRHPVTV ARAQCGGGLL GVRTLYRFEN QTGFPPPDSR FDAYCFKRKC LIPFGNSVTD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK	71
VPDF-VG1△Ig, LC	AIYMHQEPSS LSASVGDRVT ITCHGSYWLS NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD GKEREHGVPS RFSGSGSGSHED YTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRYHPYTPGH GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	72
VPDF-VG1△Ig, HC	DLQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAADGWWFG YTDMSWVRQA PGKGLEWVGS ISYKGGSTYY NTKFIGRFTI SRDDDTNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDD GYFDTWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTGGGGSG VVFHYRAATS RYTLNFEAAQ KACLDVGAVI ATPEQLFAAY EDGFEQCDAG WLADQTVRYP IRAPRVGCYG DKMGKAGVRT YGFRSPQETY DVYCYVDHLD GDVFHLTVPS KFTPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GFDQCDYGWL SDASVRHPVT VARAQCGGGL LGVRTLYRF ENQTGFPPPD SRFDAYCFKP KE	73
20D12v2.3-VG1, LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVD TDVAWFQQKP GKAPKGLIRS ASSRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	74
20D12v2.3-VG1, HC	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYYMYWVRQA PGQGLEWIGE INPTSGGTNF NEKFKSRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCAREG GFAYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTGGGGSLH KVKVGKSPPV RGSLSGKVSL PCHFSTMPTL PPSYNTSEFL RIKWSKIEVD KNGKDLKETT VLVAQNGNIK IGQDYKGRVS VPTHPEAVGD ASLTVVKLLA SDAGLYRCDV MYGIEDTQDT VSLTVDGVVF HYRAATSRYT LNFEAAQKAC LDVGAVIATP EQLFAAYEDG FEQCDAGWLA DQTVRYPIRA PRVGCYGDKM GKAGVRTYGF RSPQETYDVY CYVDHLDGDV FHLTVPSKFT PEEAAKECEN QDARLATVGE LQAAWRNGFD QCDYGWLSDA SVRHPVTVAR AQCGGGLLGV RTLYRFENQT GFPPPDSRFD AYCFKPKE	75
라니비주맙-VG1, LC	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	76

[0172]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
라니비주맙-VG1, HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYDFT HYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP YYYGTSHWYF DVWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSCDKTH TGGGGLHKVK VGKSPPVRGS LSGKVSLPCH FSTMPTLPPS YNTSEFLRIK WSKIEVDKNG KDLKETTVLV AQNGNIKIGQ DYKGRVSVPT HPEAVGDASL TVVKLLASDA GLYRCDVMYG IEDTQDTVSL TVDGVVFHYR AATSRYTLNF EAAQKACLDV GAVIATPEQL FAAYEDGFEQ CDAGWLADQT VRYPIRAPRV GCYGDKMGKA GVRTYGFRSP QETYDVYCYV DHLDGDVFHL TVPSKFTPEE AAKECENQDA RLATVGELQA AWRNGFDQCD YGWLSDASVR HPVTVARAQC GGGLLGVRTL YRFENQTGFP PPDSRFDAYC FKPKE	77
EETI-VG1	GCPRILMRCK QDSDCLAGCV CGPNGFCGGS GSGSGSGSLH KVKVGKSPPV RGSLSGKVSL PCHFSTMPTL PPSYNTSEFL RIKWSKIEVD KNGKDLKETT VLVAQNGNIK IGQDYKGRVS VPTHPEAVGD ASLTVVKLLA SDAGLYRCDV MYGIEDTQDT VSLTVDGVVF HYRAATSRYT LNFEAAQKAC LDVGAVIATP EQLPAAYEDG FEQCDAGWLA DQTVRYPIRA PRVGCYGDKM GKAGVRTYGF RSPQETYDVY CYVDHLDGDV FHLTVPSKFT PEEAAKECEN QDARLATVGE LQAAWRNGFD QCDYGWLSDA SVRHPVTVAR AQCGGGLLGV RTLYRFENQT GFPPPDSRFD AYCFKPKEGN SHHHHHHH	78
EETI-TEV-VG1	GCPRILMRCK QDSDCLAGCV CGPNGFCGEN LYFQGSGSGS GSGSLHKVKV GKSPPVRGSL SGKVSLPCHF STMPTLPPSY NTSEFLRIKW SKIEVDKNGK DLKETTVLVA QNGNIKIGQD YKGRVSVPTH PEAVGDASLT VVKLLASDAG LYRCDVMYGI EDTQDTVSLT VDGVVFHYRA ATSRYTLNFE AAQKACLDVG AVIATPEQLF AAYEDGFEQC DAGWLADQTV RYPIRAPRVG CYGDKMGKAG VRTYGFRSPQ ETYDVYCYVD HLDGDVFHLT VPSKFTPEEA AKECENQDAR LATVGELQAA WRNGFDQCDY GWLSDASVRH PVTVARAQCG GGLLGVRTLY RFENQTGFPP PDSRFDAYCF KPKEGNSHHH HHHHH	79
VG1-EETI	MGGTAARLGA VILFVVIVGL HGVRHHHHHH HHGENLYFQG SLHKVKVGKS PPVRGSLSGK VSLPCHFSTM PTLPPSYNTS EPLRIKWSKI EVDKNGKDLK ETTVLVAQNG NIKIGQDYKG RVSVPTHPEA VGDASLTVVK LLASDAGLYR CDVMYGIEDT QDTVSLTVDG VVFHYRAATS RYTLNFEAAQ KACLDVGAVI ATPEQLFAAY EDGFEQCDAG WLADQTVRYP IRAPRVGCYG DKMGKAGVRT YGFRSPQETY DVYCYVDHLD GDVFHLTVPS KFTPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GFDQCDYGWL SDASVRHPVT VARAQCGGGL LGVRTLYRFE NQTGFPPPDS RFDAYCFKPK EGNSGSGSGS GSGSGCPRIL MRCKQDSDCL AGCVCGPNGF CG	80
VG1-TEV-EETI	MGGTAARLGA VILFVVIVGL HGVRHHHHHH HHGENLYFQG SLHKVKVGKS PPVRGSLSGK VSLPCHFSTM PTLPPSYNTS EPLRIKWSKI EVDKNGKDLK ETTVLVAQNG NIKIGQDYKG RVSVPTHPEA VGDASLTVVK LLASDAGLYR CDVMYGIEDT QDTVSLTVDG VVFHYRAATS RYTLNFEAAQ KACLDVGAVI ATPEQLFAAY EDGFEQCDAG WLADQTVRYP IRAPRVGCYG DKMGKAGVRT YGFRSPQETY DVYCYVDHLD GDVFHLTVPS KFTPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GFDQCDYGWL SDASVRHPVT VARAQCGGGL LGVRTLYRFE NQTGFPPPDS RFDAYCFKPK EGNSGSGSGS GSGSENLYFQ GGCPRILMRC KQDSDCLAGC VCGPNGFCG	81
VG1-Fc (2x)에 대한 링커	RKCLIPFGNSVT	82
라니비주맙-VG1에 대한 링커	GGGG	83
EETI-VG1, VG1-EETI에 대한 링커	GSGSGSGSGS	84

[0173]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
BETI-TEV-VG1, VG1-TEV-BETI에 대한 링커	ENLYFQGSGSGSGSGS	85
VG1△Ig 공통 서열	VVFHYRAATS RYTLNFEAAQ KACLDVGAVI ATPEQLFAAY EDGFEQC(D/S)AG WLADQTVRXP IRAP(R/K)VGCYG DKXGKAGVRT XGFRSPQETY DVYCYVDHLD GDVFHLTVPS X(F/Y)TPEEAAKE CENQDARLAT VGELQAAWRN GPDQC(D/S)XGWL SDASVRXPVT VAXAQCGGGL LGVRTXXXPE NQTGPPPPDS RFDAYCFKPK E X = 임의의 아미노산; (D/S) = Asp 또는 Ser; (R/K) = Arg 또는 Ser; 굵게 표시된 아미노산 = 결합을 증강하기 위해 일부 구체예에서 돌연변이되지 않은 야생형 잔기.	86
링커	$(GGGS)_{3-6}$	87
링커	$(GGGGS)_{2-5}$	88
링커	$(GGGS)_{3-6}(G)_{0-3}$	89
링커	$(GGGGS)_{2-5}(G)_{0-3}$	90
링커	GGGS	91
VG1 융합 변형된 L3.54.90.67.F8Y.M5 VCO72M에 대한 항-VEGF 시스테인 매듭 펩티드 (CKP)	GCNIMLPYWGCGRDPECMEQCICQYYQSCG	92
융합 5; VCO72M.GS10X.VG1CTH	GCNIMLPYWGCGRDPECMEQCICQYYQSCG.GS10X.VG1CTH GS10X = $(GS)_{10}$; VG1CTH = 서열 번호: 29	93
융합 6; VG1NTH.GS10X.VCO72M	VG1NTH.GS10X.GCNIMLPYWGCGRDPECMEQCICQYYQSCG GS10X = $(GS)_{10}$; VG1NTH = N 말단 his-태그를 갖는 VG1	94
서열 번호: 93 및 94에서 이용된 링커	GSGSGSGSGSGSGSGSGSGS	95
CD44-ko 도메인	AQIDLNITCR FAGVFHVEKN GRSSISRTEA ADLCKAFNST LPTMAQMEKA LSIGFETCRY GFIEGHVVIP RIHPNSICAA NNTGVYILTY NTSQYDTYCF NASAPPEEDC TSVTDLPNAF DGPITITIVN RDGTRYVQKG EYRTNPEDIY	96
PigFab VH	EEKLVESGGG LVQPGGSLRL SCVGSGFTIS DYWIHWVRQA PGKGLEWLAG ITPAGGYTYY ADSVKGRFTI SSDNSQNTAY LQMNSLRTED TARYYCARFV FFLPYAMDYW GPGVEVVVSS	97
PigFab VL	AIQLTQSPAS LAASLGDTVS ITCRASQDVS TAVAWYQQQA GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFKGSGSGTD FTLTISGLQA EDVATYYCQQ GYGNPFTPGQ GTKLELK	98
VPDF VH	DLQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAADGWWFG YTDMSWVRQA PGKGLEWVGS ISYKGGSTYY NTKPIGRFTI SRDDDTNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDD GYFDTWGQGT LVTVSS	99
VPDF VL	AIYMHQEPSS LSASVGDRVT ITCHGSYWLS NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD GKERPHGVPS RFSGSGSHED YTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRYHPYTFGH GTKVEIK	100
VPDF (변형되지 않은) HC	DLQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAADGWWFG YTDMSWVRQA PGKGLEWVGS ISYKGGSTYY NTKPIGRFTI SRDDDTNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDD GYFDTWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHT	101

[0174]

[0175]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
VPDF (변형되지 않은) LC	AIYMHQEPSS LSASVGDRVT ITCHGSYWLS NYLAWYQQKP GKAPKLLIYD GKEREHGVPS RFSGSGSHED YTLTISSLQP EDFATYYCQQ YRYHPYTFGH GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	102
G6.31 Fab (변형되지 않은) HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTIS DYWIHWVRQA PGKGLEWVAG ITPAGGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMRSLRAED TAVYYCARFV FPLPYAMDYW GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHT	103
G6.31 Fab (변형되지 않은) LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDAATYYCQQ GYGAPFTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC	104
G6.31 VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTIS DYWIHWVRQA PGKGLEWVAG ITPAGGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMRSLRAED TAVYYCARFV FPLPYAMDYW GQGTLVTVSS	105
G6.31 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVS TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDAATYYCQQ GYGAPFTFGQ GTKVEIK	106
RabFab VH	QSLEESGGRL VTPGTPLTLT CTVSGFTISS YHMSWVRQAP GKGLEWIGIM RNTANIYYAS WAKGRFTISK TSPTTVDLKM TSLTTEDTAT YFCARGRPGD GALSLWGQGT LVTVSS	107
RabFab VL	ADVVMTQTPA SVSAAVGGTV TIKCQASQSI GTALAWYQQK PGQPPKLLIY RTSTLESGVP SRFKGSGSGT DFTLTISDLE CADAATYYCQ SAYVSGGNIY TFGGGTEVVV K	108
NVS24 VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCTASGFSLT NYYYMTWVRQ APGKGLEWVG FIDPQNDPYY ATWAKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAGGN HNSGWGLNIW GQGTLVTVSS	109
NVS24 VL	EIVMTQSPST LSASVGDRVI ITCQASQKIH SWLAWYQQKP GKAPKLLIYQ ASKLAKGVPS RFSGSGSGAE FTLTISSLQP DDFATYYCQN VYLASTNGAN FGQGTKLTVL	110
2OD12v2.3 VH	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYYMYWVRQA PGQGLEWIGE INPTSGGTNF NEKFKSRATL TVDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCARBG GFAYWGQGTL VTVSS	111
2OD12v2.3 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQNVD TDVAWFQQKP GKAPKGLIRS ASSRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPLTFGQ GTKVEIK	112
TSG6 (Lava12)	GVYHREAISG KYYLTYAEAK AVCEFEGGHL ATYKQLLAAQ KIGFHVCAAG WMAKGRVGYP IVKPGPNCGF GKTGIIDYGI RLNRSERWDA YCYNPHA	113
라니비주맙 VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYDFT HYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP YYYGTSHWYF DVWGQGTLVT VSS	114
라니비주맙 VL	DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIYF TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIK	115
항-HtrA1 VH	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYKFT DSEMHWVRQA PGQGLEWIGG VDPETEGAAY NQKFKGRATI TRDTSTSTAY LELSSLRSED TAVYYCTRGY DYDYALDYWG QGTLVTVSS	116
항-HtrA1 VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASSSVE FIHWYQQKPG KAPKPLISAT SNLASGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DFATYYCQQW SSAPWTFGQG TKVEIK	117

[0176]

표 1: 서열에 관한 설명.

설명	서열	서열 번호
항-HtrA1-VG1 HC	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYKFTDSEMHWVRQAPGQGLEWIGGVDPETEGAAYNQKFKGRA TITRDTSTSTAYLELSSLRSEDTAVYYCTRGYDYDYALDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGLHKVKVGKSPPVRGSLSGKVSLPCHFSTMPTLPPSYNTSEF LRIKWSKIEVDKNGKDLKETTVLVAQNGNIKIGQDYKGRVSVPTHPEAVGDASLTVVKLLASDAGLYR CDVMYGIEDTQDTVSLTVDGVVFHYRAATSRYTLNFEAAQKACLDVGAVIATPEQLFAAYEDGFEQCD AGWLADQTVRYPIRAPRVGCYGDKMGKAGVRTYGFRSPQETYDVYCYVDHLDGDVFHLTVPSKFTFEB AAKECENQDARLATVGELQAAWRNGFDQCDYGWLSDASVRHPVTVARAQCGGGLLGVRTLYRFENQTG FPPPDSRFDAYCFKPKE	118
항-HtrA1-VG1 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVEFIHWYQQKPGKAPKPLISATSNLASGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSAPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	119
항-gD Fab HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSDFAWNWVRQAPGKGLEWVGYISYSGTTSYNPSLKSRI TISRDNSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARENYYGRSHVGYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT	120
항-gD Fab LC (본원에서 BRD의 항-gD IgG LC 및 항-gD Fab-VG1 LC로서 또한 지칭됨)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASASVDSYGNSFIHWYQQKPGKAPKLLIYRASDLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQNYADPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	121
항-gD IgG HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSDFAWNWVRQAPGKGLEWVGYISYSGTTSYNPSLKSRI TISRDNSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARENYYGRSHVGYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	122
BRD의 항-gD Fab-VG1 HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSDFAWNWVRQAPGKGLEWVGYISYSGTTSYNPSLKSRI TISRDNSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARENYYGRSHVGYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTGGGGSLHKVKVGKSPPVRGSLSGKVSLPCHFSTMPTLPPSY NTSEFLRIKWSKIEVDKNGKDLKETTVLVAQNGNIKIGQDYKGRVSVPTHPEAVGDASLTVVKLLASD AGLYRCDVMYGIEDTQDTVSLTVDGVVFHYRAATSRYTLNFEAAQKACLDVGAVIATPEQLFAAYEDG FEQCDAGWLADQTVRYPIRAPRVGCYGDKMGKAGVRTYGFRSPQETYDVYCYVDHLDGDVFHLTVPSK FTFE EAAKECENQDARLATVGELQAAWRNGFDQCDYGWLSDASVRHPVTVARAQCGGGLLGVRT LYRFENQTGFPPPPDSRFDAYCFKPKE	124

[0177] **상세한 설명**

[0178] I. 정의

[0179] 별도로 규정되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어, 그리고 임의의 약어는 본원 발명의 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 또는 동등한 임의의 방법과 재료가 본원에서 제시된 바와 같이 실무에서 이용될 수 있긴 하지만, 특정한 방법과 재료가 본원에서 설명된다.

[0180] 별도로 명시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같은 아래의 용어 및 관용구는 아래의 의미를 갖는 것으로 의도된다:

[0181] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항체"는 완전한 (완전한 또는 무손상) 항체를 의미한다. 항체는 이황화 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 무거운 (H) 사슬 및 2개의 가벼운 (L) 사슬을 포함하는 당단백질이다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 VH로서 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 VL로서 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, CL로 구성된다. VH와 VL 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 명명되는 더욱 보존된 영역이 산재된, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 명명되는 초가변성의 영역으로 더욱 세분화될 수 있다. 각 VH와 VL은 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 아래의 순서: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다. 중쇄와 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 내포한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들면, 효과기 세포) 및 고전적 보체계의 첫 번째 성분 (C1q)을 비롯한, 숙주 조직 또는 인자에 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다.

[0182] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 항체의 "항원 결합 단편" 또는 "항체 단편"은 소정의 항원 (예를 들면, 눈에서 치료 표적, 예컨대 VEGF)에 특이적으로 결합하여, 원하는 항원 결합 활성을 나타내는 능력을 유지하는, 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 무손상 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 용어 항체의 항원 결합 단편 내에 포괄되는 결합 단편의 실례는 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')$_2$; 디아바디; 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자 (예를 들면, scFv 및 scFab); 단일 도메인 항체 (dAb); 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체; VH 및 CH1 도메인으로 구성되는 Fd 단편; 항체의 단일 팔의 VL과 VH 도메인으로 구성되는 Fv 단편; VH 도메인 또는 VL 도메인으로 구성되는 단일 도메인 항체 (dAb) 단편; 그리고 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 항체 단편의 실례를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 항체 단편에 관한 검토를 위해, Holliger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136 (2005)을 참조한다. 게다가, 비록 Fv 단편의 2개의 도메인, VL 및 VH가 별개의 유전자에 의해 코딩되긴 하지만, 이들은 재조합 방법을 이용하여, VL과 VH 영역이 짝을 이루어 일가 분자를 형성하는 단일 단백질 사슬 (단일 사슬 Fv (scFv)로서 알려져 있음)로서 이들이 만들어질 수 있게 하는 인공 펩티드 링커에 의해 결합될 수 있다. 이런 단일 사슬 항체는 항체의 하나 이상의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 이들 항원 결합 단편은 당업자에게 공지된 전통적인 기술을 이용하여 획득되고, 그리고 이들 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 선별검사된다. 항원 결합 단편은 또한, 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv) 내로 통합될 수 있다. 항원 결합 단편은, 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성하는 한 쌍의 탠덤 Fv 분절 (VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 단일 사슬 분자 내로 통합될 수 있다. 용어 "항체"는 다중클론 항체 및 단일클론 항체를 포함한다.

[0183] 앱타머는 특이적 표적 분자에 결합하는 올리고뉴클레오티드 또는 펩티드 분자이다. 앱타머는 통상적으로, 이들을 큰 무작위 순서 풀로부터 선택함으로써 창출되지만, 자연 앱타머가 또한 리보스위치 내에 존재한다. 앱타머는 거대분자 약물로서 기초 연구 및 임상적 목적 둘 모두에 이용될 수 있다. 앱타머는 표적 분자의 존재에서 자가-개열하도록 리보자임과 조합될 수 있다. 이들 화합물 분자는 추가적인 연구, 산업 및 임상적 적용을 갖는다. 더 특이적으로, 앱타머는 올리고뉴클레오티드의 (통상적으로 짧은) 가닥으로 구성되는 DNA 또는 RNA 또는 XNA 앱타머, 그리고 양쪽 단부에서 단백질 골격에 부착된 하나 (또는 그 초과)의 짧은 가변 펩티드 도메인으로 구성되는 펩티드 앱타머로서 분류될 수 있다. DNA와 RNA 앱타머 둘 모두 다양한 표적에 대해 견실한 결합 친화성을 보여준다. DNA와 RNA 앱타머는 동일한 표적에 대해 선택되었다. 이들 표적은 라이소자임, 트롬빈, 인터페론 γ, 혈관 내피 성장 인자 (VEGF), 도파민을 포함한다. 예를 들면, VEGF의 경우에 DNA 앱타머는 티민이 우라실을 대체하는, RNA 앱타머의 유사체이다.

[0184] 분자 결합으로 또한 불리는 "공유 결합"은 원자 사이에 전자 쌍의 공유를 수반하는 화학 결합이다. 이들 전자 쌍은 공유된 쌍 또는 결합 쌍으로서 알려져 있고, 그리고 원자가 전자를 공유할 때, 이들 원자 사이에 인력 및 척력의 안정된 균형이 공유 결합으로서 알려져 있다.

[0185] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "DARPin" (설계된 안키린 반복 단백질에 대한 약어)은 고도로 특이적인 높은 친화성 표적 단백질 결합을 전형적으로 나타내는 항체 모방체 단백질을 지칭한다. 이들은 전형적으로 유전적으로 조작되고, 자연 안키린 단백질로부터 유래되며, 이들 단백질의 적어도 3개, 통상적으로 4개 또는 5개의 반복 모티프로 구성된다. 이들의 분자 질량은 4개- 또는 5개-반복 DARPin 각각의 경우에 약 14 또는 18 kDa이다. DARPin의 실례는 예를 들면, US 특허 7,417,130에서 발견될 수 있다.

[0186] 작용제, 예를 들면, 약학 조성물의 "효과량"은 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하는 데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다.

[0187] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "눈 질환"은 병리학적 혈관형성 및/또는 위축과 연관된 임의의 눈 질환을 포함한다. 용어 "눈 질환"은 용어 "눈 이상," "눈 장애," "안구 이상," "안구 질환" 및 "안구 장애"와 동의어이다

[0188] 본원에서 이용된 바와 같이, "Fab-히알루로난 결합 도메인," "Fab-히알루론산 결합 도메인" 및 "Fab-HABD"는 Fab 및 히알루로난 결합 도메인을 포함하는 융합 단백질을 지칭한다. 이들 용어는 동의어이고 본 명세서의 전역에서 교체가능하게 이용될 수 있다.

[0189] 본원에서 이용된 바와 같이, "히알루로난," "히알루론산," "히알루론산염" 및 "HA"는 화학식 $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$을 갖는 비황산화된 글루코사미노글리칸 및 이의 염을 지칭한다.

[0190] 본원에서 이용된 바와 같이, "히알루론산 결합 도메인," "히알루론산 결합 모이어티," "HA 결합 도메인" 또는 "HABD"는 히알루론산에 결합할 수 있는 임의의 모이어티를 지칭한다. 일부 경우에, HABD는 HA 결합 단백질의 도메인일 수 있다.

[0191] 리간드는 생물학적 목적을 제공하기 위해, 생체분자와 복합체 또는 접합체를 형성하는 물질이다. 단백질-리간드 결합에서, 리간드는 통상적으로, 표적 단백질 상에 부위에 결합함으로써 신호를 생성하는 분자이다. 이러한 결합은 전형적으로, 표적 단백질의 입체형태적 이성질현상 (입체형태)의 변화를 야기한다. DNA-리간드 결합 연구에서, 리간드는 DNA 이중 나선에 결합하는 소형 분자, 이온, 또는 단백질일 수 있다. 리간드 및 결합 파트너 사이의 관계는 전하, 소수성 및 분자 구조의 함수이다. 결합의 사례는 시간 및 공간의 극소 범위에서 발생하여, 속도 상수가 통상적으로 매우 적은 숫자이다. 리간드는 자연 발생 리간드 또는 비-자연 발생 리간드일 수 있다. 추가적으로, 이것은 효현제, 부분 효현제, 길항제, 또는 역효현제일 수 있다.

[0192] "비공유 상호작용"은 전자의 공유를 수반하기 보다는, 분자 사이에 또는 분자 내에 전자기적 상호작용의 더 분산된 변동을 수반한다는 점에서, 공유 결합과 상이하다. 비공유 상호작용은 상이한 범주, 예컨대 정전, π-효과, 반 데르 발스 힘, 그리고 소수성 효과로 분류될 수 있다. 바람직하게는, 접합체는 단리된 형태로 제공된다. 첫 번째와 두 번째 성분은 링커를 거쳐 또는 직접적으로 서로 공유 결합될 수 있다.

[0193] 핵산은 3가지 성분: 5-탄소 당, 인산염 기 및 질소성 염기로 만들어진 단량체인 뉴클레오티드로 구성되는 바이오폴리머이다. 용어 핵산은 DNA와 RNA에 대한 전체 명칭이다. 만약 당이 화합물 리보오스이면, 중합체는 RNA (리보핵산)이다; 만약 당이 리보오스로부터 데옥시리보오스로서 파생되면, 중합체는 DNA (데옥시리보핵산)이다.

[0194] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "펩티드 링커"는 바람직하게는 합성 기원의 아미노산 서열을 갖는 펩티드를 표시한다.

[0195] 단백질은 아미노산 잔기의 하나 이상의 긴 사슬로 구성되는 큰 바이오폴리머 (폴리펩티드)이다. 단백질은 대사 반응 촉매, DNA 복제, 자극에 반응, 세포 및 생물체에 구조 제공, 그리고 한 위치에서 다른 위치로 분자 수송을 비롯하여, 생물체 내에서 매우 다양한 기능을 수행한다. 단백질은 일차적으로 그들의 아미노산 서열에서 서로 상이한데, 이것은 그들의 유전자의 뉴클레오티드 서열에 의해 지배되고, 그리고 통상적으로, 활성을 결정짓는 특정한 3차원 구조로의 단백질 접힘을 야기한다. 20-30개 미만의 잔기를 내포하는 짧은 폴리펩티드는 통상적으로 펩티드로 불린다.

[0196] 본원에서 이용된 바와 같이, "단백질 접합체" 또는 "접합체"는 히알루로난에 비공유적으로 결합되는 단백질을 지칭한다.

[0197] 수용체는 통상적으로, 생물학적 시스템 내로 통합될 수 있는 신호를 접수하고 전달하는 단백질로 구성되는 화학 구조이다. 이들 신호는 전형적으로 화학 메신저 (리간드)인데, 이들은 수용체에 결합하고, 세포/조직 반응의 일부 형태, 예를 들면, 세포의 활성에서 변화를 야기한다. 수용체의 작용을 분류할 수 있는 3가지 주요 방법이 있다: 신호의 중계, 증폭, 또는 통합. 중계는 신호를 계속 이어서 보내고, 증폭은 단일 리간드의 효과를 증가시키

고, 그리고 통합은 신호가 다른 생화학적 경로 내로 통합될 수 있게 한다. 이러한 의미에서, 수용체는 내인성 화학 신호를 인식하고 이들에 반응하는 단백질 분자이다. 이런 이유로, 리간드 결합 부위를 포함하는 수용체 또는 단편 및 이들의 리간드는 본원 발명의 맥락에서 적합한 결합 대응물 (첫 번째 성분 및 치료 표적)이다.

[0198] 본원에서 이용된 바와 같이, "치료" (및 이의 문법적 변이, 예컨대 "치료한다" 또는 "치료하는")는 치료를 받는 개체에서 질환의 자연 경과를 변경하려는 시도에서 임상적 개입을 지칭하고, 그리고 임상 병리의 예방을 위해 또는 임상 병리의 경과 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 축소, 전이 예방, 질환 진행의 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 그리고 관해 또는 향상된 예후를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 양상에서, 본원 발명의 항체는 질환의 발달을 지연시키거나 또는 질환의 진행을 늦추는 데 이용된다.

[0199] 수치 범위는 범위를 규정하는 숫자를 포괄한다. 계측된 및 계측 가능한 값은 유효 숫자 및 계측과 연관된 오차를 고려한, 근사치인 것으로 이해된다. 또한, "포함한다", "포함한다", "포함하는", "내포한다", "내포한다", "내포하는", "포함한다", "포함한다" 및 "포함하는"의 이용은 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 앞서 말한 일반적인 설명 및 상세한 설명 둘 모두 단지 예시적이고 설명적이며 교시를 제한하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0200] 본 명세서 및 청구범위에서 모든 숫자는 용어 "약"에 의해 수식된다. 이것은 각 숫자가 문제되는 수치 값 또는 범위의 10%로서 규정된 바와 같은 사소한 변화를 포함한다는 것을 의미한다.

[0201] 본 명세서에서 구체적으로 언급되지 않으면, 다양한 구성요소를 "포함하는"을 설명하는 본 명세서에서 구체예는 또한, 언급된 구성요소로 "구성되거나 또는 본질적으로 구성되는" 것으로 예기되고; 다양한 구성요소로 "구성되는"을 설명하는 본 명세서에서 구체예는 또한, 언급된 구성요소를 "포함하거나" 또는 이들로 "본질적으로 구성되는" 것으로 예기되고; 그리고 다양한 구성요소로 "본질적으로 구성되는"을 설명하는 본 명세서에서 구체예는 또한, 언급된 구성요소로 "구성되는" 또는 이들을 "포함하는" 것으로 예기된다 (이러한 호환성은 청구범위에서 이들 용어의 이용에는 적용되지 않는다). 용어 "또는"은 문맥에서 별도로 명백하게 표시되지 않으면, 포괄적 의미, 다시 말하면, "및/또는"과 동등한 의미로 이용된다.

[0202] 본원 발명의 일정한 구체예가 상세하게 언급될 것인데, 이들의 실례는 첨부된 도면, 실시예 및 구체예에서 예증된다. 이들 도면, 실시예 및 구체예 (별도로 구체적으로 표시되지 않으면)는 발명의 범위를 본원에서 설명된 특정 방법론, 프로토콜 및 반응물로만 한정하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해될 것인데, 그 이유는 이들이 변할 수 있기 때문이다. 본원 발명은 첨부된 청구범위 및 포함된 구체예에 의해 규정된 바와 같은 발명 내에 포함될 수 있는 모든 대안, 변형 및 등가물을 커버하는 것으로 의도된다. 게다가, 본원에서 이용된 용어는 특정한 구체예를 단지 설명하기 위한 것이고 본원 발명의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 본 명세서에서 및 첨부된 청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 별도로 표시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다. 유사하게, 단어 "포함한다," "내포한다" 및 "포괄한다"는 배타적으로가 아닌 포괄적으로 해석되어야 한다.

[0203] 본원에서 이용된 섹션 표제는 단지 조직적 목적을 위한 것이고, 그리고 원하는 요부를 어떤 방식으로든 한정하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 간행물 (과학 문헌 및 특허 공보)은 참조로서 편입된다. 참조로서 편입된 임의의 자료가 본 명세서에서 규정된 임의의 용어 또는 본 명세서의 임의의 다른 표현 내용과 상충되는 경우에, 본 명세서가 우선한다. 본 교시가 다양한 구체예와 함께 설명되긴 하지만, 본 교시는 이런 구체예에 한정되는 것으로 의도되지 않는다. 이에 반하여, 본 교시는 당업자에 의해 인지되는 바와 같이, 다양한 대안, 변형 및 등가물을 포괄한다.

[0204] **II. 치료 활성제 (다시 말하면, 첫 번째 성분) 및 히알루로난 결합 도메인 (HABD; 다시 말하면, 두 번째 성분)을 포함하는 치료 분자**

[0205] 본 출원은 치료 활성제 및 HA 결합 도메인 (HABD)을 포함하는, 환자의 조직에 표적화된 치료 분자를 제공한다. 각 치료 분자는 첫 번째 성분 및 하나 이상의 두 번째 성분을 포함한다. 첫 번째 성분은 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있다. 두 번째 성분은 HA에 결합할 수 있고, 이런 이유로 HA 결합 도메인 (HABD)을 포함한다.

[0206] 일부 구체예에서, 치료 분자는 첫 번째 성분 및 하나 이상의 두 번째 성분을 갖는 융합 단백질이다. 첫 번째와 두 번째 성분은 서로 공유적으로 결합되고, 그것에 의하여 융합 단백질을 형성한다. 일부 구체예에서, 치료 분자는 펩티드 링커를 더욱 포함한다.

[0207] 일부 구체예에서, 치료 분자는 하나의 두 번째 성분을 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 분자는 두 개 이상의

두 번째 성분을 포함한다. 특히, 만약 2개의 단백질 (다시 말하면, 하나의 중쇄 또는 이의 단편, 그리고 하나의 경쇄 또는 이의 단편)로 구성되는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 이용되면, 치료 분자는 2개의 두 번째 성분을 포함할 수 있다. 이들 구체예에서, 첫 번째의 두 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄에 연결되고, 그리고 두 번째의 두 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 단편의 경쇄에 연결된다. 일부 구체예에서, 첫 번째의 두 번째 성분은 Fab 단편의 중쇄의 C 말단에 연결되고, 그리고 두 번째의 두 번째 성분은 Fab 단편의 경쇄의 C 말단에 연결된다.

[0208] 일부 구체예에서, 치료 분자는 하나 이상의 세 번째 성분을 더욱 포함한다 (첫 번째와 두 번째 성분에 더하여). 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 공유적으로 결합되고, 그리고 두 번째 성분은 세 번째 성분에 비공유적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 세 번째 성분은 히알루로난 (HA)이다. 이들 구체예 중 일부에서, 두 번째 성분은 HA에 결합할 수 있고, 그리고 치료 분자 단백질 (다시 말하면, 두 번째 성분에 공유적으로 연결된 첫 번째 성분)은 HA (다시 말하면, 세 번째 성분)와 전복합화될 수 있다. 이들 구체예 중 일부에서, 첫 번째, 두 번째 및 세 번째 성분은 접합체를 형성한다.

[0209] 첫 번째, 두 번째 및 세 번째 성분의 무제한적 실례가 본원에서 제공된다.

[0210] **A. 첫 번째 성분 - 치료 활성제**

[0211] 많은 구체예에서, 첫 번째 성분은 치료 표적에 결합할 수 있고, 이를 통해 이것은 생물학적으로 활성 또는 치료 활성제가 된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈에서 치료 표적에 결합할 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "결합할 수 있는"은 물질 또는 작용제 또는 성분이 표적에 특이적으로 결합하고 표적의 활성을 임의적으로 조정할 수 있다는 것을 의미한다. 다시 말하면, 첫 번째 성분은 눈에서 치료 표적에 대한 결합의 결과로서 눈에서 치료적으로 활성이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 치료 표적에 결합 후 이것을 활성화하거나, 이것을 비활성화하거나, 이것의 활성을 증가시키거나 또는 이것의 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 치료 표적은 눈에서 적합한 구조이고, 이것의 활성은 치료되는 눈 질환과 연관된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 신호 전달 캐스케이드에서 치료 표적의 상류 또는 하류에서 직접적으로 성분에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈 질환의 치료를 위한 공지된 치료 약물을 포함한다.

[0212] 특이적 결합 성분 또는 결합 도메인은 바람직하게는, 상응하는 표적 분자에 대해 적어도 10^6 l/mol의 친화성을 갖는다. 특이적 결합 도메인은 표적 분자에 대해 바람직하게는 10^7 l/mol 또는 훨씬 바람직하게는 10^8 l/mol 또는 가장 바람직하게는 10^9 l/mol의 친화성을 갖는다. "친화성"은 분자 (예를 들면, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예를 들면, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 별도로 표시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (예를 들면, 항체와 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (K_D)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 당해 분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 계측될 수 있다. 당업자가 인지하는 바와 같이, 용어 "특이적"은 존재하는 다른 생체분자가, 결합 도메인에 대해 특이적인 결합 작용제에 유의미하게 결합하지 않는다는 것을 표시하는 데 이용된다. 바람직하게는, 표적 분자 이외의 생체분자에 결합 수준은 각각, 표적 분자에 대한 친화성의 단지 10% 이하, 더 바람직하게는 단지 5% 이하인 결합 친화성을 야기한다. 바람직한 특이적 결합 작용제는 친화성뿐만 아니라 특이성에 대한 상기 최소 기준 둘 모두를 충족할 것이다.

[0213] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 치료 표적에 결합하는 단백질 예컨대 수용체 또는 이의 단편, 항체 또는 이의 단편, 성장 인자, 시스테인 매듭 펩티드, 효소, 또는 DARPin을 포함한다. 일부 구체예에서, 단백질은 작은 크기에서 큰 크기의 범위 안에 있을 수 있다. 일부 구체예에서, 단백질은 2개 내지 20개의 아미노산을 포함하는 펩티드이다. 일부 구체예에서, 단백질은 21개 내지 50개의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드이다. 일부 구체예에서, 단백질은 50개 초과의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드이다. 일부 구체예에서, 단백질은 2개 이상의 선형 사슬 또는 아미노산을 포함하는 단백질 복합체이고, 여기서 각 아미노산 사슬은 임의의 숫자의 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 80 kDa보다 크지 않다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 80 kDa보다 크다.

[0214] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 DNA 또는 RNA일 수 있는 핵산을 포함한다. 핵산은 표적에 관련된 핵산에 상보적일 수 있다 (예를 들면, 표적의 mRNA 또는 이의 유관한 부분에 상보적인 핵산). 일부 구체예에서, 핵산은 앱타머이다. 일부 구체예에서, 핵산은 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 핵산은 잠금

핵산을 포함한다.

[0215] **1. 눈에서 치료 표적**

[0216] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈에서 치료 표적에 결합한다. 눈에는 많은 치료 표적이 있다. 이들 분자와 경로를 효과적으로 표적화하는 요법이 개발됨에 따라서, 빈번한 IVT 주사와 연관된 치료 부담 및 위험을 감소시키면서 시각적 결과에서 향상을 제공해야 할 필요성이 있을 것이다.

[0217] **a)친혈관형성, 염증성 및 성장 인자 매개체**

[0218] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 친혈관형성, 염증성 및/또는 성장 인자 매개체인 치료 표적에 결합한다. 친혈관형성, 염증성 및 성장 인자 매개체는 망막 질환, 예컨대 예를 들면, 혈관신생 연령 관련 황반 변성 (AMD; 습성 AMD), 당뇨병성 망막병증, 그리고 망막 정맥 폐쇄에 관련된다.

[0219] 이들 친혈관형성, 염증성, 또는 성장 인자 매개체 분자의 실례는 혈소판 유래 성장 인자 (PDGF), 안지오포이에틴, S1P, 인테그린 αvβ3, 인테그린 αvβ5, 인테그린 α5β1, 베타셀룰린, 아펠린/APJ, 에리트로포이에틴, 보체 인자 D, 그리고 TNFα를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0220] **b)연령 관련 황반 변성 (AMD)에서 단백질**

[0221] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 연령 관련 황반 변성 (AMD) 위험에서 증가된 위험과 유전적으로 연계되는 단백질에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 보체 경로 성분 예컨대 C2, 인자 B, 인자 H, CFHR3, C3b, C5, C5a 및 C3a에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 HtrA1, ARMS2, TIMP3, HLA, IL-8, CX3CR1, TLR3, TLR4, CETP, LIPC, 또는 COL10A1에 결합한다.

[0222] **c)혈관 내피 성장 인자 (VEGF)**

[0223] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 혈관 내피 성장 인자 (VEGF)에 결합한다. VEGF는 다양한 눈 질환, 예를 들면, 당뇨병성 망막병증과 연관된 또는 황반 부종과 연관된 질환 또는 장애와 관련되는 것으로 알려져 있다. (아래의 섹션 III 참조.)

[0224] 용어 "VEGF"는 165개-아미노산 혈관 내피 세포 성장 인자, 그리고 관련된 121개-, 189개- 및 206개-아미노산 혈관 내피 세포 성장 인자뿐만 아니라 이들 성장 인자의 자연 발생 대립형질 및 처리된 형태를 지칭한다. VEGF는 임의의 종으로부터 유래된 VEGF 단백질을 지칭할 수 있다.

[0225] VEGF는 정상적인 발달 및 병리학적 혈관형성 둘 모두에서 필수적이다. 별아교세포에 의한 VEGF의 산소결핍 유발 분비가 망막 혈관구조의 형성을 안내하는 핵심 요소이다. 상승된 수준의 VEGF는 또한, 망막 및 맥락막에서 새로운 혈관의 병리학적 생장을 유도한다. VEGF와 같은 혈관형성 인자의 저해가 연령 관련 황반 변성, 증식성 망막병증 및 미숙아 망막병증을 비롯한, 병리학적 안구 혈관형성의 치료를 위한 치료적 접근방식을 설계하는 데에 주요 전략이 되었다.

[0226] 용어 "VEGF 매개 장애"는 VEGF의 참여를 필요로 하는 임의의 장애, 증상 또는 질환 상태의 개시, 이들의 진행, 또는 이들의 존속을 지칭한다. 예시적인 VEGF 매개 장애는 연령 관련 황반 변성, 신생혈관 녹내장, 당뇨병성 망막병증, 황반 부종, 당뇨병성 황반 부종, 병적 근시, 망막 정맥 폐쇄, 미숙아 망막병증, 모반증과 연관된 비정상적인 혈관 증식, 부종 (예컨대 뇌 종양과 연관된 부종), 메이그 증후군, 류마티스성 관절염, 건선 및 죽상경화증을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0227] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 VEGF 수용체 예컨대 VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, mbVEGFR, 또는 sVEGFR이다.

[0228] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 VEGF에 대한 항체 또는 항원 결합 단편, 더욱 특히 항-VEGF Fab이다. VEGF 항체 및 항원 결합 단편은 본원에서 개시된다. 이용될 수 있는 다른 항-VEGF 항체, VEGF 길항제 및 VEGF 수용체 길항제는 예를 들면: 라니비주맙, 베바시주맙, 아플리베르셉트, 페갑타닙, CT-322, 그리고 본원에서 온전히 참조로서 편입되는 US 2012/0014958, WO 1998/045331 및 WO 2015/198243에서 논의된 바와 같은 항-VEGF 항체 및 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 VEGF를 표적으로 하는 약물, 예컨대 아래의 섹션 II.A.2.a)에서 개시된 것들을 포함한다.

[0229] **d)에리트로포이에틴 (EPO)**

[0230] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 에리트로포이에틴 (EPO)에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 에리트로포이에틴 수용체 (EPOR)에 결합한다. EPO는 상이한 종에서 에리트로포이에틴 단백질을 지칭한다. 인간, 시

노몰구스, 생쥐, 쥐 및 토끼 EPO에 대한 단백질 서열은 공개적으로 가용하다. 인간 EPO는 또한 과당화될 수 있다. 용어 "EPO 수용체" 또는 "EPOR"은 교체가능하게 이용되고 상이한 종에서 에리트로포이에틴 수용체 단백질을 지칭한다.

[0231] **e)안지오포이에틴**

[0232] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 안지오포이에틴 예컨대 안지오포이에틴 2 (ANG2)에 결합한다. ANG2는 습성 AMD에 대한 치료 후보로서 알려져 있는데, 그 이유는 이것이 안구 병리학적 혈관신생에 관련되는 2가지 과정인 혈관형성 및 면역 활성화 둘 모두에서 기능하기 때문이다. 인간 눈에서, 더 높은 수준의 ANG2는 습성 AMD에서 질환 중증도와 상관된다. 증가된 안구내 ANG2 수준은 또한, 당뇨병성 망막병증 및 망막 정맥 폐쇄를 겪는 환자에서 검출되었는데, 이것은 안구 ANG2 표적화의 잠재적인 의학적 유의성을 암시한다. ANG2는 상이한 종에서 단백질을 지칭한다. 강하게 감소된 혈관 누출, 면역반응성 및 아폽토시스에 VEGF-A/ANG2의 조합된 저해를 이용하는 것이 또한 제안되었다.

[0233] **f)인터류킨**

[0234] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 인터류킨, 예컨대 인터류킨 (IL-) 1β (IL-1β), IL-6, IL-10, IL-17A 및 IL-19에 결합한다. 인터류킨은 눈 질환 예컨대 잠재적으로 눈을 멀게 하는 염증성 질환인 포도막염과 연관되었다. 인터류킨은 임의의 종류일 수 있다.

[0235] **g)혈소판 유래 성장 인자 (PDGF)**

[0236] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 혈소판 유래 성장 인자 (PDGF) 또는 혈소판 유래 성장 인자 아단위 B (PDGF-BB)인 치료 표적에 결합한다. PDGF 및 PDGF-BB는 임의의 종으로부터 유래될 수 있다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 PDGF 길항제, 예컨대 아래의 섹션 II.A.2.e)에서 개시된 것들을 포함한다.

[0237] **h)VPDF**

[0238] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 VEGF 및 PDGF에 결합한다. 다양한 단백질, 항체, 항체 단편, 결합 도메인, 효현제 및 길항제가 VEGF 및 PDGF에 결합할 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항-VP"는 VEGF 및 PDGF에 결합하는 이중특이적 항체 또는 이의 단편을 지칭한다.

[0239] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 이중 표적화 Fab, 다시 말하면, dutaFab이다. 본원에서 이용된 바와 같이, "항-VPDF"는 VEGF 및 PDGF에 결합하는 dutaFab를 지칭한다.

[0240] **i)HtrA 단백질**

[0241] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 세린 프로테아제의 HtrA 패밀리의 구성원에 결합한다. HtrA 단백질은 적어도 하나의 C 말단 PDZ 도메인, 그리고 단백질 대사 및 세포 운명에 관련된 ATP 독립성 프로테이나아제 샤프롱과 함께 촉매 도메인을 갖는다. Clausen et al., Molecular cell 10(3):443-445 (2002). 인간에는 4가지 HtrA 단백질: HtrA1, HtrA2, HtrA3 및 HtrA4가 있다. 인간에서, HtrA1, HtrA3 및 HtrA4는 동일한 도메인 구조: N 말단 IGFBP 유사 모듈 및 카잘 유사 모듈, 트립신 유사 접힘을 갖는 프로테아제 도메인, 그리고 C 말단 PDZ 도메인을 공유한다. 인간 유전자 연구는 연령 관련 황반 변성 (AMD)의 진행 및 증가된 HtrA1 전사체 수준을 야기하는 HtrA1 프로모터 영역에서 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP) 사이의 강한 상관을 확인하였다. Dewan et al., Science 314:989-992 (2006); Yang et al., Science 314:992-933 (2006).

[0242] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 HtrA1에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 HtrA2에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 HtrA3에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 HtrA4에 결합한다.

[0243] **j)다른 치료 표적**

[0244] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 아래의 치료 표적: 인자 P, 인자 D, TNFα, FGFR, IL-6R, Tie2, S1P, 인테그린 αvβ3, 인테그린 αvβ5, 인테그린 α5β1, 베타셀룰린, 아펠린/APJ, 보체 인자 D, TNFα, HtrA1, ST-2 수용체, 인슐린, 인간 성장 인자, 보체 인자 H, CD35, CD46, CD55, CD59, 보체 수용체 1 관련 (CRRY), 신경 성장 인자, 색소 상피 유래 인자, 엔도스타틴, 섬모 신경영양 인자, 보체 인자 1 저해제, 보체 인자 유사-1, 보체 인자 I, 또는 기타 유사한 것 중 한 가지에 결합한다.

[0245] 용어 "인자 D"는 임의의 종으로부터 유래된 인자 D 단백질을 지칭한다.

[0246] 용어 "인자 P"는 임의의 종으로부터 유래된 인자 P 단백질을 지칭한다. 인간 인자 P는 Complement Tech, Tyler,

TX로부터 획득될 수 있다. 시노몰구스 인자 P는 시노몰구스 혈청으로부터 정제될 수 있다 (Nakano et al., 1986, J Immunol Methods 90:77-83으로부터 조정된 프로토콜). 인자 P는 또한, 당해 분야에서 "프로페르딘"으로서 알려져 있다.

[0247] 용어 "FGFR2"는 임의의 종으로부터 유래된 섬유모세포 성장 인자 수용체 2를 지칭한다.

[0248] **2. 치료 약물**

[0249] 눈 질환의 치료를 위한 임의의 적합한 치료제가 첫 번째 성분으로서 이용될 수 있다 (이것은 아래의 섹션 III에서 논의된다). 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈에서 표적에 결합하는 인정된 치료 약물을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 인간 기원의 표적에 결합한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈 질환의 치료를 위한 인정된 치료 약물을 포함한다.

[0250] **a)VEGF를 표적으로 하는 약물**

[0251] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 예를 들면, 그러나 제한 없이: (1) 항-VEGF 항체 (예를 들면, LUCENTIS® (라니비주맙), RTH-258 (이전에 ESBA-1008, 항-VEGF 단일 사슬 항체 단편; Novartis), 또는 이중특이적 항-VEGF 항체 (예를 들면, 항-VEGF/항-안지오포에이틴 2 이중특이적 항체 예컨대 RG-7716; Roche)), (2) 가용성 VEGF 수용체 융합 단백질 (예를 들면, EYLEA®; 아플리베르셉트)), (3) 항-VEGF DARPin® (예를 들면, 아비시파르 페골; Molecular Partners AG/Allergan), 또는 (4) 항-VEGF 앱타머 (예를 들면, MACUGEN®; 페갑타닙 나트륨))를 포함하는 VEGF 길항제를 포함한다.

[0252] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 특히 눈 질환의 치료를 위한 LUCENTIS® (라니비주맙)를 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 연령 관련 황반 변성 (AMD; 예를 들면, 습성 AMD)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 지도모양 위축 (GA)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 당뇨병성 황반 부종 (DME) 및/또는 당뇨병성 망막병증 (DR; 예를 들면, 비증식성 DR (NPDR) 또는 증식성 DR (PDR))이다.

[0253] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 특히 눈 질환의 치료를 위한 RTH-258을 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 AMD (예를 들면, 습성 AMD)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 GA이다.

[0254] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 특히 눈 질환의 치료를 위한 EYLEA® (아플리베르셉트)를 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 AMD (예를 들면, 습성 AMD)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 GA이다. 일부 경우에, 눈 질환은 DME 및/또는 DR (예를 들면, NPDR 또는 PDR)이다.

[0255] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 특히 눈 질환의 치료를 위한 아비시파르 페골을 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 AMD (예를 들면, 습성 AMD)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 GA이다.

[0256] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 특히 눈 질환의 치료를 위한 MACUGEN® (페갑타닙 나트륨)을 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 AMD (예를 들면, 습성 AMD)이다. 일부 경우에, 눈 질환은 GA이다.

[0257] **b)항신생혈관제**

[0258] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항신생혈관제를 포함한다. 항신생혈관제의 무제한적 실례는 항-VEGF 항체 (예를 들면, 항-VEGF Fab LUCENTIS® (라니비주맙), RTH-258 (이전에 ESBA-1008, 항-VEGF 단일 사슬 항체 단편; Novartis), 이중특이적 항-VEGF 항체 (예를 들면, 항-VEGF/항-안지오포에이틴 2 이중특이적 항체 예컨대 RG-7716; Roche), 가용성 재조합 수용체 융합 단백질 (예를 들면, EYLEA® (아플리베르셉트); VEGF 트랩 아이 (Trap Eye)로서 또한 알려져 있음; Regeneron/Aventis), VEGF 변이체, 가용성 VEGF 수용체 (VEGFR) 단편, VEGF를 차단할 수 있는 앱타머 (예를 들면, 항-VEGF 페길화된 앱타머 MACUGEN® (페갑타닙 나트륨; NeXstar Pharmaceuticals/OSI Pharmaceuticals)), VEGFR을 차단할 수 있는 앱타머, 중화 항-VEGFR 항체, VEGFR 티로신 키나아제의 소형 분자 저해제, 항-VEGF DARPin® (예를 들면, 아비시파르 페골; Molecular Partners AG/Allergan), VEGF 또는 VEGFR의 발현을 저해하는 짧은 간섭 RNA, VEGFR 티로신 키나아제 저해제 (예를 들면, 4-(4-브로모-2-플루오로아닐리노)-6-메톡시-7-(1-메틸피페리딘-4-일메톡시)퀴나졸린 (ZD6474), 4-(4-플루오로-2-메틸인돌-5-일옥시)-6-메톡시-7-(3-피롤리딘-1-일프로폭시)퀴나졸린 (AZD2171), 바탈라닙 (PTK787), 세막사닙

(SU5416; SUGEN), 그리고 SUTENT® (수니티닙)), 그리고 이들의 조합을 포함한다.

[0259] **c)항-혈관신생 작용제**

[0260] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈 질환의 치료를 위한, 혈관신생에 대항하는 활성을 갖는 작용제, 예컨대 항염증성 약물, 라파마이신 (mTOR) 저해제의 포유류 표적 (예를 들면, 라파마이신; AFINITOR® (에베로리무스) 및 TORISEL® (템시로리무스)), 시클로스포린, 종양 괴사 인자 (TNF) 길항제 (예를 들면, 항-TNFα 항체 또는 이의 항원 결합 단편 (예를 들면, 인플릭시맙, 아달리무맙, 세르톨리주맙 페골 및 골리무맙) 또는 가용성 수용체 융합 단백질 (예를 들면, 에타네르셉트)), 항보체 작용제, 비스테로이드성 항염증제 (NSAID), 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0261] **d)신경보호 작용제**

[0262] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 신경보호성이고 질환의 진행을 잠재적으로 감소시킬 수 있는 작용제를 포함한다. 예를 들면, 상기 작용제는 건성 AMD의 습성 AMD로의 진행을 감소시킬 수 있다. 신경보호 작용제의 실례는 디히드로에피안드로스테론 (DHEA) (PRASTERA™ 및 FIDELIN®), 디히드로에피안드로스테론황산염, 그리고 프레그네놀론 황산염과 같은 약물을 포함하는, "신경스테로이드"로 불리는 약물의 부류를 포함한다.

[0263] **e)PDGF 길항제**

[0264] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 PDGF 길항제를 포함한다. 일부 구체예에서, PDGF 길항제는 (1) 항-PDGF 항체 (예를 들면, REGN2176-3), (2) 항-PDGF-BB 페길화된 앱타머 (예를 들면, FOVISTA®; E10030; Ophthotech/Novartis), (3) 가용성 PDGFR 수용체 융합 단백질, (4) 이중 PDGF/VEGF 길항제/저해제 (예를 들면, DE-120 (Santen) 또는 X-82 (TyrogeneX)), (5) 이중특이적 항-PDGF/항-VEGF 항체), (6) 항-PDGFR 항체, 또는 (7) 소형 분자 저해제 (예를 들면, 스쿠알라민)이다.

[0265] **f)보체계 길항제**

[0266] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 보체계 길항제를 포함한다. 보체계 길항제의 실례는 보체 인자 C5 길항제 (예를 들면, 소형 분자 저해제 (예를 들면, ARC-1905; Opthotech)), 항-C5 항체 (예를 들면, LFG-316; Novartis), 프로페르딘 길항제 (예를 들면, 항-프로페르딘 항체; CLG-561; Alcon), 보체 인자 D 길항제 (예를 들면, 항보체 인자 D 항체; 람팔리주맙; Roche), 그리고 C3 차단 펩티드 (예를 들면, APL-2; Appellis)를 포함한다.

[0267] **g)눈 질환의 치료를 위한 인정된 약물**

[0268] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 눈 질환의 치료를 위한 인정된 치료 약물을 포함한다. 눈 질환의 치료는 아래의 섹션 III에서 논의된다. 인정된 약물의 실례는 비스테로이드성 항염증성 약물 (NSAID), 스테로이드 (예를 들면, 염증 및/또는 섬유증의 감소를 위한), 항생제, 국소 안과 마취제, 안구 접착제 (예를 들면, 수술후 상처 봉합을 위한), 효소적 작용제 (유리체 수술을 위한), 예를 들면 유전자 요법 기술을 위한 DNA 또는 RNA, 신경보호 효과를 매개하는, 예컨대 뉴로트로핀을 공급하는, 과잉 글루타민산염 자극을 차단하는, Ca^{2+} 항상성을 안정시키는, 아폽토시스를 예방하는, 예방접종을 통해 면역학적 상태를 조정하는, 내인성 신경보호 기전을 유도하는 작용제, 항산화제, 비타민, 그리고 무기물 첨가제를 포함한다.

[0269] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 VEGF 길항제 (예를 들면, LUCENTIS® 또는 EYLEA®), 코르티코스테로이드 (예를 들면, 코르티코스테로이드 이식물, OZURDEX®; 덱사메타손 IVT 이식물; 또는 ILUVIEN®, 플루오시놀론 아세토니드 IVT 이식물) 또는 IVT 주사에 의한 투여용으로 제제화된 코르티코스테로이드 (예를 들면, 트리암시놀론 아세토니드), 또는 이들의 조합을 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 특히 눈 질환의 치료를 위한 임의의 적합한 DME 및/또는 DR 치료제를 포함한다. 일부 경우에, 눈 질환은 DME 및/또는 DR이다.

[0270] 첫 번째 성분으로서 이용에 적합한, 눈 질환의 치료를 위한 인정된 약물의 추가 실례는 VISUDYNE® (베르테포르핀; 전형적으로, 비-열 레이저를 이용한 광역학 요법과 함께 이용되는 광 활성화 약물), PKC412, 엔도비온 (NS 3728; NeuroSearch A/S), 신경영양 인자 (예를 들면, 신경교 유래 신경영양 인자 (GDNF) 및 섬모 신경영양 인자 (CNTF)), 딜티아젬, 도르졸라미드, PHOTOTROP®, 9-시스레티날, 눈 약제 (예를 들면, 포스폴린 요오드화물, 에코티오페이트, 또는 탄산탈수효소 저해제), 베오바스탯 (AE-941; AEterna Laboratories, Inc.), Sirna-027

(AGF-745; Sima Therapeutics, Inc.), 뉴로트로핀 (단지 실례로서, NT-4/5, Genentech 포함), Cand5 (Acuity Pharmaceuticals), INS-37217 (Inspire Pharmaceuticals), 인테그린 길항제 (Jerini AG 및 Abbott Laboratories로부터 것들 포함), EG-3306 (Ark Therapeutics Ltd.), BDM-E (BioDiem Ltd.), 탈리도미드 (예를 들면, EntreMed, Inc.에 의해 이용된 바와 같은), 카디오트로핀-1 (Genentech), 2-메톡시에스타라디올 (Allergan/Oculex), DL-8234 (Toray Industries), NTC-200 (Neurotech), 테트라티오몰리브테이드 (University of Michigan), LYN-002 (Lynkeus Biotech), 미세조류 화합물 (Aquasearch/Albany, Mera Pharmaceuticals), D-9120 (Celltech Group plc), ATX-S10 (Hamamatsu Photonics), TGF-베타 2 (Genzyme/Celtrix), 티로신 키나아제 저해제 (예를 들면, US 특허 번호 7,771,742에서 논의된 것들, 그리고 VEGFR 저해제 SUGEN (SU5416) 및 Pfizer의 인리타, 다코미티닙, LORBRENA® (로라티닙), NX-278-L (NeXstar Pharmaceuticals/Gilead Sciences), Opt-24 (OPTIS France SA), 망막 세포 신경절 신경보호제 (Cogent Neurosciences), N-니트로피라졸 유도체 (Texas A&M University System), KP-102 (Krenitsky Pharmaceuticals), 시클로스포린 A, 광역학 요법에 이용되는 치료제 (예를 들면, VISUDYNE®; 수용체 표적화 PDT, Bristol-Myers Squibb, Co.; PDT와 함께 주사를 위한 포르피머 나트륨; 베르테포르핀, QLT Inc.; PDT와 함께 로스타포르핀, Miravent Medical Technologies; PDT와 함께 탈라포르핀 나트륨, Nippon Petroleum; 그리고 모텍사핀 루테튬, Pharmacyclics, Inc.), 안티센스 올리고뉴클레오티드 (실례로서, Novagali Pharma SA 및 ISIS-13650, Ionis Pharmaceuticals에 의해 시험된 제품 포함), 그리고 이들의 조합을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0271] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 조직 인자 길항제 (예를 들면, hI-con1; Iconic Therapeutics), 알파-아드레날린 수용체 효현제 (예를 들면, 브리모니딘 주석산염; Allergan), 펩티드 백신 (예를 들면, S-646240; Shionogi), 아밀로이드 베타 길항제 (예를 들면, 항-베타 아밀로이드 단일클론 항체; GSK-933776), S1P 길항제 (예를 들면, 항-S1P 항체; iSONEP™; Lpath Inc), ROBO4 길항제, 항-ROBO4 항체 (예를 들면, DS-7080a; Daiichi Sankyo)를 포함한다.

[0272] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 트립토파닐-tRNA 합성효소 (TrpRS), 스쿠알라민, RETAANE® (데포 현탁을 위한 아네코르테이브 아세트산염; Alcon, Inc.), 콤브레타스타틴 A4 전구약물 (CA4P), MIFEPREX® (미페프리스톤-ru486), 건주하 트리암시놀론 아세토니드, IVT 결정성 트리암시놀론 아세토니드, 기질 금속프로테이나아제 저해제 (예를 들면, 프리노마스탯; AG3340; Pfizer), 플루오시놀론 아세토니드 (플루오시놀론 안구내 이식물 포함; Bausch & Lomb/Control Delivery Systems), 리노미드, 인테그린 β3 기능의 저해제, 앤지오스타틴, 그리고 이들의 조합을 포함한다. 이런 저런 치료제는 예를 들면 U.S. 특허 출원 번호 US 2014/0017244에서 설명되는데, 이것은 본원에서 온전히 참조로서 편입된다.

[0273] **3. 항체 및 항원 결합 단편**

[0274] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항원에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하거나 또는 이것으로부터 유래된다. 관련 없는, 비표적 단백질에 항체 또는 항원 결합 단편의 결합의 정도는 예를 들면, 표면 플라스몬 공명 (SPR)에 의해 계측될 때, 표적에 대한 상기 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 일정한 양상에서, 표적에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편은 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM (예를 들면, 10^{-8} M 이하, 예를 들면, 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들면, 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수 (K_D)를 갖는다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이러한 항체가 1 μM 이하의 K_D를 가질 때, 표적에 특이적으로 결합하는 것으로 일컬어진다.

[0275] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이중특이적 항체, 적어도 Fc 도메인을 결여하는 항체, Fab 단편, $(Fab')_2$ 단편, Fab' 단편, VhH 단편, scFv 단편, scFv-Fc 단편, 또는 미니바디를 포함한다.

[0276] 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 눈 내에 존재하는 항원에 결합한다. 일부 구체예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 VEGF, HtrA1, IL-33, C5, 인자 P, 인자 D, EPO, EPOR, IL-1β, IL-17A, IL-10, TNFα, FGFR2, PDGF, 또는 ANG2에 결합할 수 있다.

[0277] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항-VEGF 항체 또는 항체 결합 단편, 항-PDGF 항체 또는 항체 결합 단편, 항-ANG2 항체 또는 항체 결합 단편, 또는 항-IL-1β 항체 또는 항체 결합 단편이다. VEGF에 결합하는 항체의 실례는 Lucentis® (라니비주맙), Eylea® (아플리베르셉트), Beovu® (브롤루시주맙-dbll), 그리고 Avastin® (베바시주맙)을 포함한다.

[0278] 일부 구체예에서, 항체는 이중특이적 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 항-VEGF/항-Ang2 이중특이적 항체, 예컨대 RG-7716, 또는 WO 2010/069532 또는 WO 2016/073157에서 개시된 임의의 이중특이적 항-VEGF/항-Ang2 이중특이적 항체 또는 이의 변이체이다. 일부 구체예에서, 이중특이적 항체는 항-VPDF 항체, 다시 말하면, 항-VEGF 및 항-PDGF dutaFab 항체이다.

[0279] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항-IL-6 항체, 예를 들면, EBI-031 (Eleven Biotherapeutics; 참조: 예를 들면, WO 2016/073890), 실툭시맙 (SYLVANT®), 올로키주맙, 클라자키주맙, 시루쿠맙, 엘실리모맙, OPR-003, MEDI5117, PF-04236921, 또는 이들의 변이체이다.

[0280] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항-IL-6R 항체, 예를 들면, 토실리주맙 (ACTEMRA®) (참조: 예를 들면, WO 1992/019579), 사릴루맙, ALX-0061, SA237, 또는 이들의 변이체이다.

[0281] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 인간 cMET 수용체의 세포내 도메인으로부터 유래된 인산화 펩티드에 대하여 토끼에서 조성된 부모 단일클론 항체 (G10)로부터 유래된 항원 결합 Fab 단편인 RabFab이고, 그리고 그에 따라서 눈에서 세포외 표적에 결합하지 않는다. Shatz, W. et al., Mol. Pharm., 13(9):2996-3003 (2016).

[0282] 일부 구체예에서, 항원 결합 단편은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 아닌 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다.

[0283] **4. 성장 인자**

[0284] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 성장 인자를 포함한다. 일부 구체예에서, 성장 인자는 섬유모세포 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 신경 성장 인자 (NGF), VEGF, 섬유모세포 성장 인자 (FGF), 그리고 인슐린 유사 성장 인자-I (IGF-I)를 포함한다.

[0285] **5. 시스테인 매듭 펩티드**

[0286] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 시스테인 매듭 펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 시스테인 매듭 펩티드는 서열 번호: 92 (시스테인 매듭 펩티드 서열)와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 포함한다.

[0287] 시스테인 매듭 펩티드는 다른 분자에 공유적으로 연결되어, 상기 섹션 II.A.2 내지 상기 섹션 II.A.4에서 논의된 임의의 예시적인 첫 번째 성분을 포함하는 첫 번째 성분을 형성할 수 있다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항-VEGF 항원 결합 단편에 공유적으로 연결되는 시스테인 매듭 펩티드를 포함한다.

[0288] 일부 구체예에서, HABD (다시 말하면, 두 번째 성분)가 시스테인 매듭 펩티드에서 첫 번째 성분에 공유적으로 연결된다. 일부 구체예에서, 공유 링커는 서열 번호: 95와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 포함한다. 일부 구체예에서, 공유 링커는 서열 GSGSGSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호: 95)를 포함한다. 일부 구체예에서, 시스테인 매듭 펩티드는 C 말단 his-태그 (서열 번호: 29)를 이용하여, VG1에 공유적으로 연결된다. 일부 구체예에서, 시스테인 매듭 펩티드는Ig 도메인 결실 및 C 말단 his-태그 (서열 번호: 32)를 이용하여, VG1에 공유적으로 연결된다. 일부 구체예에서, 시스테인 매듭 펩티드는 N 말단 his-태그를 이용하여, VG1에 공유적으로 연결된다. 일부 구체예에서, 시스테인 매듭 펩티드는 Ig 도메인 결실 및 N 말단 his-태그를 이용하여, VG1에 공유적으로 연결된다.

[0289] **B. 두 번째 성분 - 히알루로난 결합 도메인 (HABD)**

[0290] 많은 구체예에서, 두 번째 성분은 HA 결합 단백질 (HA 결합 도메인; HABD을 포함하는)을 포함하거나 또는 이것으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 HABD를 포함한다. HABD를 포함하는 단백질의 실례는 CD44, 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG6), 베르시칸, 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1), 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1), 그리고 아그레칸을 포함한다.

[0291] 일부 구체예에서, 2개의 두 번째 성분은 상이하거나 또는 동일할 수 있다. 예를 들면, 치료 분자는 2개의 상이한 도메인의 쌍을 만들기 위해, 2개의 CD44 도메인, 2개의 TSG-6 도메인, 2개의 VG1 도메인, 또는 전술된 도메인들의 임의의 조합을 두 번째 성분으로서 포함할 수 있다.

[0292] 눈은 각막, 방수, 수정체, 유리체액, 망막, 망막 색소 상피 및 맥락막을 비롯한 여러 구별되는 구획을 갖는 복잡한 조직이다. 이들 구획은 세포외 거대분자 예컨대 HA를 포함한다.

[0293] 용어 "히알루로난 결합 단백질" 또는 "HA 결합 단백질"은 HA에 결합하는 단백질 또는 단백질의 패밀리를 지칭한

다. 전형적으로, 이들 HA 결합 단백질은 HABD를 포함한다. 다양한 HA 결합 분자가 당해 분야에서 널리 알려져 있는데, 이들은 두 번째 성분으로서 이용될 수 있다 (참조: 예를 들면, Day, et al., 2002, J Bio. Chem 277: 4585 및 Yang et al., 1994, EMBO J 13: 286-296). 예시적인 HA 결합 단백질은 CD44, LYVE-1, 아그레칸, 베르시칸, 브레비칸, 뉴로칸, 히알루로난 결합 단백질 1 (HABP1; C1qBP/C1qR 및 p32로서 또한 알려져 있음), HAPLN1 (링크 단백질 및 CRTL1로서 또한 알려져 있음), 히알루로난 및 프로테오글리칸 링크 단백질 4 (HAPLN4; 뇌 링크 단백질 2로서 또한 알려져 있음), 레이일린, 스타빌린-1, 스타빌린-2, 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1), 또는 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG-6), RHA M, 세균 HA 신타아제, 그리고 콜라겐 VI를 포함한다.

[0294] 많은 HA 결합 단백질 및 펩티드 단편은 HA 결합에 관련된, 약 100개 아미노산 길이의 공통 구조적 도메인을 내포한다; 이러한 구조적 도메인은 "LINK 도메인"으로서 지칭된다 (Yang et al., EMBO J 13:2, 286-296 (1994) 및 Mahoney et al., J Bio. Chem 276:25, 22764-22771 (2001)). 임의의 이런 단백질이 본원 발명에서 이용될 수 있다. 임의의 HA 결합 단백질, 예컨대 상기 예시적인 단백질의 HABD는 HA에 결합하는 능력을 부여하기 위해, 두 번째 성분 내에 포함될 수 있다. 바람직하게는, 두 번째 성분은 CD44 (CD44) 도메인, 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1) 도메인, 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG-6) 도메인, 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1) 도메인, 히알루로난 결합 단백질 (HABP) 도메인, 아그레칸 G1 (AG1) 도메인 또는 베르시칸 G1 (VG1) 도메인을 포함한다. 눈에 이용하기 위한, 펩티드 태그를 비롯한 예시적이고 적합한 HA 결합 분자는 WO 2014/99997 및 WO 2015/19824에서 설명되고, 그리고 온전히 참조로서 편입된다. 그 안에 설명된 임의의 서열이 본원 발명에서 이용될 수 있다.

[0295] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 눈으로부터 첫 번째 성분의 청소율을 감소시키고, 그것에 의하여 이의 안구 반감기를 증가시키기 위해, 첫 번째 성분에 공유적으로 연결된다. 첫 번째 성분은 눈 질환에서 더 긴 안구 체류 및/또는 더 긴 작용 기간을 갖는 것으로부터 유익성을 얻을 수 있다.

[0296] 추가적으로, 두 번째 성분은 HA를 포함하는 세 번째 성분에 비공유적으로 결합되어, 접합체를 형성할 수 있다. 일부 구체예에서, 접합체에서 각 두 번째 성분은 HA의 별개 분자에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 2개 이상의 두 번째 성분이 동일한 HA 분자에 결합할 수 있다.

[0297] 많은 구체예에서, HA에 대한 HABD의 결합 친화성은 여러 범위에 들어갈 수 있다; 결합 친화성은 치료 활성제의 작용 기전에 따라서 조정될 수 있다. 예를 들면, 만약 작용 부위가 유리체액 내에 있으면, 높은 결합 친화성이 생물학적 작용제를 유리체액 내에 유지하는 데 도움을 줄 수 있다. 그 대신, 작용 부위가 망막 내에 있으면, 더 낮은 결합 친화성이 생물학적 작용제가 유리체액을 횡단하여 망막에 도달하는 데 도움을 줄 수 있다.

[0298] 많은 구체예에서, HABD는 표면 플라스몬 공명 (SPR)을 포함하는 방법을 이용하여 계측될 수 있는, HA에 대한 결합 친화성을 갖는다. 이론에 한정됨 없이, 일부 구체예에서, HA에 대한 HABD의 결합 친화성 (K_D) 범위는 10 nM 내지 10 μM, 5 nM 내지 10 nM, 그리고 100 nM 내지 5 μM을 포함한다.

[0299] 많은 구체예에서, HABD의 HA와의 상호작용이 관찰될 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 상호작용은 형광 상관 분광법 (FCS)을 포함하는 방법을 이용하여 관찰된다. FCS에서, 용액의 작은 용적 부분에서 형광 강도를 모니터링함으로써 분자의 확산이 결정될 수 있다. 형광 강도는 분자의 움직임으로 인해 변동하고, 그리고 이들 변동의 정량 분석은 상기 분자에 대한 확산 시간을 산출할 수 있다. 적합한 분광 특성을 갖는 형광 염료를 이용함으로써, 생체 매트릭스에서 확산이 결정될 수 있다. 일부 구체예에서, FCS에 의한 관찰 결과는 SPR에 의한 계측과 상관된다.

[0300] 일부 구체예에서, HABD는 그의 기원 단백질과 비교할 때 야생형인 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 그의 기원 단백질과 비교할 때 단백질 서열에서 하나 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 많은 구체예에서, 이들 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 부가, 결실, 그리고 절두를 포함한다.

[0301] 일부 구체예에서, HABD는 단일 또는 이중 아미노산 치환을 포함한다. 많은 실례에서, 치환은 아미노산 교체가 최초 아미노산을 유사한 생화학적 특성을 갖는 상이한 아미노산으로 변화시키는 보존성 돌연변이를 포함할 수 있다. 다른 실례에서, 치환은 아미노산 교체가 최초 아미노산을 상이한 생화학적 특성을 갖는 상이한 아미노산으로 변화시키는 비보존성 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0302] 일부 구체예에서, HABD는 HA 결합에 기여하는 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 이들 아미노산은 HA 결합 친화성을 유지하기 위해 보존될 수 있다. 일부 구체예에서, 이들 아미노산은 지속성 치료제에 대한 원하는 친화성 및 원하는 지속 기간에 따라서, HA 결합 친화성을 변경하기 위해 치환될 수 있다.

[0303] 일부 구체예에서, HABD는 HABD 및 또는 치료 분자의 열안정성에 기여하는 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 이들 아미노산은 열안정성을 유지하기 위해 보존될 수 있다. 일부 구체예에서, 이들 아미노산은 열안정성을 변경하기 위해 치환될 수 있다.

[0304] 일부 구체예에서, HABD는 본원에서 개시된 참조 서열 중에서 하나에 비하여 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 1개 내지 3개의 돌연변이를 포함하는데, 여기서 1개 내지 3개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 부가, 결실, 그리고 절두를 독립적으로 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 1개 내지 5개의 돌연변이를 포함하는데, 여기서 1개 내지 5개의 돌연변이는 단일 아미노산 치환, 이중 아미노산 치환, 부가, 결실, 그리고 절두를 독립적으로 포함한다.

[0305] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 CD44, TSG6 또는 베르시칸을 포함하거나 또는 이것으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 CD44 도메인, TSG6 도메인, 또는 베르시칸 도메인을 포함한다.

[0306] **1. CD44**

[0307] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 CD44 (서열 번호: 1)로부터 유래된다. CD44 수용체는 LINK 도메인, GAG 부착 도메인, 막경유 도메인, 그리고 세포질 도메인을 포함한다. 대안적 스플라이싱에 의해 처리되는 상이한 모듈식 조성을 갖는 여러 동종형이 설명된다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 CD44 HA 수용체 도메인으로부터 유래되거나 또는 이것을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 서열 번호: 2로부터 유래되거나 또는 이것을 포함한다.

[0308] **2. 종양 괴사 인자 자극된 유전자-6 (TSG6)**

[0309] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 TSG6으로부터 유래된다. TNFAIP6으로서 또한 알려져 있는 TSG-6은 HA 결합 링크 도메인, 그 이후에 CUB 도메인으로 구성된다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 TSG6 HA 결합 링크 도메인으로부터 유래되거나 또는 이것을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 서열 번호: 4로부터 유래되거나 또는 이것을 포함한다.

[0310] **3. 베르시칸**

[0311] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 베르시칸으로부터 유래된다. 베르시칸은 아래의 도메인: VG1, GAG 부착 도메인, 그리고 G3 도메인을 포함한다 (도 8a). VG1 도메인 (서열 번호: 29)은 Ig 도메인, 링크1 및 링크2를 포함한다 (도 8a). 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 링크1 (서열 번호: 30) 및/또는 링크2 (서열 번호: 31)를 포함하는데, 여기서 링크1 및/또는 링크2는 HA에 결합할 수 있다.

[0312] **a)야생형 VG1**

[0313] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에서 진술된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 야생형 (WT) VG1을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 링크1 (서열 번호: 30) 및/또는 링크2 (서열 번호: 31)에서 진술된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다.

[0314] **b)돌연변이체 VG1**

[0315] 일부 구체예에서, HABD는 돌연변이체 VG1을 포함한다. 많은 구체예에서, VG1 돌연변이는 서열 번호: 29 (WT VG1), 32 (VG1△Ig), 60 (WT VG1 공통 서열), 또는 86 (VG1△Ig 공통 서열)에서 진술된 바와 같은 아미노산 서열에 상대적이다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29 (WT VG1), 32 (VG1△Ig), 60 (WT VG1 공통 서열), 또는 86 (VG1△Ig 공통 서열)과 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29 (WT VG1), 32 (VG1△Ig), 60 (WT VG1 공통 서열), 또는 86 (VG1△Ig 공통 서열)과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다.

[0316] **c)절두된 VG1**

[0317] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29 (WT VG1) 또는 60 (WT VG1 공통 서열)에 비하여 절두 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 베르시칸의 N 말단으로부터 1개 내지 129개 아미노산의 절두를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 야생형 베르시칸의 Ig 도메인이 부재하는 절두된 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 32 (VG1△Ig) 또는 86 (VG1△Ig 공통 서열)과 적어도 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 32 (VG1△Ig) 또는 86 (VG1△Ig 공통

서열)과 적어도 95% 동일한 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 32 (VG1△Ig)를 포함한다.

[0318] **d)아미노산 치환**

[0319] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 아미노산: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, Y230, F261, D295, 그리고 R233 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개를 포함한다.

[0320] 일부 구체예에서, HABD는 HA 결합 친화성을 증가시키거나 또는 감소시키기 위해, 야생형에 비하여 돌연변이될 수 있는 아미노산을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 적어도 하나에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 또는 18개에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 위치: R160, Y161, E194, D197, Y208, R214, M222, Y230, R233, K260, F261, D295, Y296, H306, R312, L325, Y326, 그리고 R327 중 2, 3, 4, 5 또는 6개에서 돌연변이를 포함한다.

[0321] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 하나를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 Y208A 및 H306A 중 적어도 하나를 포함한다.

[0322] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 또는 17개를 포함한다. 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 29에 비하여, 다음의 돌연변이: R160A, Y161A, D197A, D197S, Y208A, Y208F, R214K, M222A, Y230A, Y230F, R233A, K260A, K260R, F261Y, KF260RY, D295A, D295S, Y296A, Y296F, DY295SF, H306A, R312A, L325A, Y326A, R327A, 그리고 LYR325LFK 중 적어도 2, 3, 4, 5 또는 6개를 포함한다.

[0323] 일부 구체예에서, HABD는 서열 번호: 30, 서열 번호: 31, 서열 번호: 32, 서열 번호: 33, 서열 번호: 34, 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 서열 번호: 46, 서열 번호: 47, 서열 번호: 48, 서열 번호: 49, 서열 번호: 50, 서열 번호: 51, 서열 번호: 52, 서열 번호: 53, 서열 번호: 54, 서열 번호: 55, 서열 번호: 56, 서열 번호: 57, 서열 번호: 58, 또는 서열 번호: 59이다.

[0324] **4. 뇌 특이적 링크 단백질 (BRAL1)**

[0325] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 BRAL1로부터 유래된다. BRAL1은 면역글로불린 도메인, 링크 도메인 모듈 1, 그리고 링크 도메인 모듈 2를 포함한다. 링크 도메인 모듈 1 및 2는 HA에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 BRAL1로부터 유래된 링크 도메인 링크 도메인 모듈 1 및/또는 링크 도메인 모듈 2를 포함한다.

[0326] **5. 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1)**

[0327] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 LYVE-1로부터 유래된다. LYVE-1은 HA에 결합하는 링크 도메인을 포함하는 CD44의 동족체이다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 LYVE-1로부터 유래된 링크 도메인을 포함한다.

[0328] **6. 아그레칸**

[0329] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 아그레칸으로부터 유래된다. 아그레칸은 3개의 구형 도메인을 포함한다: G1 도메인은 링크 단백질의 구조적 모티프를 갖고 HA와 상호작용하며, G2 도메인은 G1 도메인과 상동하고 산물 처리에 관련되며, G3 도메인은 코어 단백질의 카르복실 말단을 구성한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 아그레칸으로부터 유래된 G1 도메인을 포함한다.

[0330] **C. 세 번째 성분 - 히알루로난 (HA)**

[0331] 일부 구체예에서, 치료 분자는 하나 이상의 세 번째 성분을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 세 번째 성분은

HA를 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 분자 (첫 번째와 두 번째 성분을 포함)는 HA와 전복합화되어 접합체를 형성한다. 일부 구체예에서, 세 번째 성분은 5 kDa 내지 20 kDa의 분자량의 HA이다.

[0332] 일부 구체예에서, 치료 분자의 두 번째 성분은 세 번째 성분에 비공유적으로 결합되어 접합체를 형성한다. 일부 구체예에서, 치료 분자의 두 번째 성분은 세 번째 성분에 공유적으로 결합되어 접합체를 형성한다.

[0333] 바람직하게는, 첫 번째 성분에 공유적으로 연결된 두 번째 성분은 10.0 μM보다 적거나 같은 K_D로, 세 번째 성분 (다시 말하면, 히알루로난)에 결합한다. 예를 들면, 두 번째 성분은 9.0 μM, 8.0 μM, 7.0 μM, 6.0 μM, 5.0 μM, 4.0 μM, 3.0 μM, 2.0 μM, 1.5 μM, 1.0 μM 또는 0.5 μM보다 적거나 같은 K_D로, HA에 결합할 수 있다.

[0334] **1. 히알루로난 (HA)**

[0335] 히알루로난 (HA)은 세포외 기질에서 및 세포 표면 상에서 발생하는 선형 글리코사미노글리칸이다. HA는 β1→3 글루쿠로니드 결합 및 β1→4 글루코사미니드 결합을 교번함으로써 연결되어 선형 중합체를 형성하는, N-아세틸 글루코사민 (GlcNac) 및 글루쿠론산 (GlcUA)의 반복 이당류 단위를 내포한다. HA는 Necas et al, 2008, Veterinarni Medicina, 53: 397-411에서 더욱 설명된다. 글리코사미노글리칸은 모든 척추동물의 세포외 기질 내에 편재성으로 존재하고, 그리고 또한 연쇄상구균 (Streptococci)의 일부 균주의 캡슐 내에 존재한다. 기능적으로, HA 분자는 세포 부착에 관련되고 세포 이주를 뒷받침하는, 조직 내에 고도로 수화된 세포외 기질의 유지에 중요하다. 유리체액은 물 이외에, HA로 일차적으로 구성되기 때문에, 눈의 중심 부분에서 수분 및 구조를 유지하는 데 탁월하다. 이것은 눈을 윤활된 상태로 유지하는 데 도움을 주고, 그리고 상실되는 수분을 보충한다. HA는 또한, 다수의 HA 결합 단백질 및 세포 표면 수용체, 예컨대 CD44 및 림프관 내피 히알루로난 수용체-1 (LYVE-1)과 상호작용함으로써 다양한 생물학적 기능을 나타낸다. HA 결합 단백질 및 HABD의 실례는 상기 섹션 II.B에서 논의된다.

[0336] HA는 1,000 내지 10,000,000 Da의 넓은 분자량 범위를 갖는다. 조직 내에 선천적 고분자량 HA는 림프계, 림프절, 간 및 신장을 통한 대사 경로 동안 소형 분자로 분해된다. HA의 반감기는 혈장에서는 ca. 2.5 내지 5.5분인 것으로 알려져 있지만, 눈의 유리체에서는 ca. 70 일인 것으로 보고되었다. HA의 고유한 물리화학적 특성 및 다양한 생물학적 기능은 이의 넓은 생물의학적 적용 예컨대 약물 전달, 관절염 치료, 안구 수술, 그리고 조직 가공으로 이어졌다. 특히, HA는 다양한 전달 루트를 통한 생물/약제의 표적 특이적인 장기간 전달이 광범위하게 조사되었다. HA는 그의 점탄성 및 점막점착성 특성을 이용하여, 국소 안과 약물의 효과적인 전달 운반체로서 활용되고 있다.

[0337] 규정된 크기의 HA가 본원 발명에 특히 적합한 것으로 밝혀졌다. 이에 따라서, HA는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9 kDa의 분자량 및/또는 많으면 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 kDa의 분자량을 가질 수 있다. 분자량의 특히 적합한 범위는 3 kDa 내지 60 kDa, 특히 4 kDa 내지 30 kDa, 더욱 특히 5 kDa 내지 20 kDa이다.

[0338] 일부 구체예에서, 변형되지 않은 자연 발생 HA의 이용이 선호된다. 이들 구체예에서, 변형되지 않은 자연 발생 HA의 이용은 부작용을 감소시킨다. 예를 들면, HABD의 10 kDa HA와의 전복합화는 유리체액에서 시험관내 침전을 감소시키고, 그리고 돼지 및 토끼에서 관찰된 안구 독성을 경감한다. HABD가 TSG-6 또는 CD44인 다른 실례에서, TSG-6 또는 CD44가 HA와 전복합화되지 않을 때 안구 독성 예컨대 망막 염증이 관찰되었다.

[0339] 일부 구체예에서, HA는 히알루론산칼륨, 히알루론산마그네슘 및 히알루론산칼슘을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 히알루론산염이다.

[0340] 일부 구체예에서, HA는 작은 화학적 변형을 가질 수 있다. 화학적 변형은 HA 분해를 감소시키는, 물 용해도를 증가시키거나 또는 감소시키는, HA 확산 속도 및/또는 HA 점도를 변경하는 데 유용할 수 있다. HA를 화학적으로 변형하기 위한 2가지 일반적인 접근방식이 당해 분야에서 알려져 있다 - (1) 기능적 화학 시약을 이용한 HA 교차연결 및 (2) 단일기능성 시약을 이용한 HA 연계. 디비닐 술폰, 비세폭시드, 포름알데히드 및 비스할라이드가 HA를 교차연결하는 데 이용된 이중기능성 시약이다. 화학적으로 변형된 HA 제조물은 아미노에틸 메타크릴레이티드 HA, 아디프산 디히드라지드 합체된 HA, 디메틸 에테르 복합화된 HA, HA-시스테인 에틸 에스테르, 요소 교차연결된 HA 및 N-아세틸시스테인 HA를 제한 없이 포함한다. 눈에서 HA의 분해를 감소시키는 변형이 특히 관심된다.

[0341] **2. 접합체를 형성하기 위한, 치료 분자의 히알루로난 (HA)과의 전복합화**

[0342] 일부 구체예에서, 치료 분자는 HA와 전복합화되어 접합체를 형성한다. 치료 분자 내에 포함된 자유 HABD의 초기

농도는 아래의 실시예 5에서 논의된 바와 같이, 주사 부위에서 높아, 유해한 효과를 야기할 수 있다. 일부 경우에, 이들 효과는 주사 부위에서 IVT HA와 접촉하는 자유 HABD에 의해 유발될 수 있다. HABD의 HA와의 전복합화는 주사 부위로부터 유리체의 나머지 부분으로 확산할 시간을 HABD에 제공함으로써, 이들 유해한 효과를 축소한다. 더 느린 확산 시간 및 유리체 반감기의 증가는 HABD가, 전복합화된 HA와 상호작용하는 것으로부터 IVT HA로 전환할 때 발생한다. 따라서, 일부 구체예에서, 치료 분자는 상기 치료 분자를 포함하고, 그리고 HA를 포함하는 하나 이상의 세 번째 성분을 더욱 포함하는 접합체이다.

[0343] 일부 구체예에서, 접합체는 치료 분자 및 HA 사이에 비공유 상호작용을 포함한다. 일부 구체예에서, 접합체는 치료 분자 및 HA 사이에 공유 상호작용을 포함한다.

[0344] 일부 구체예에서, 접합체는 단리된 접합체일 수 있다, 다시 말하면, 접합체는 치료를 받는 개체 내에 있지 않다. 일부 양상에서, 접합체는 예를 들면, 전기이동 (예를 들면, SDS-PAGE, 등전위 초점 (IEF) 및 모세관 전기이동) 또는 크로마토그래피 (예를 들면, 이온 교환 또는 역상 HPLC)에 의해 결정될 때, 95% 또는 99% 초과의 순도로 정제된다. 항체 순도를 사정하기 위한 방법에 관한 검토를 위해, 예를 들면, Flatman et al., J Chromatogr B 848:79-87 (2007)을 참조한다.

[0345] **D. 융합 단백질**

[0346] 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 성분은 단백질이고, 더 바람직하게는 융합 단백질 내에 포함된다; 첫 번째와 두 번째 성분은 공유 링커를 통해 연결된다.

[0347] 융합 단백질은 2개 이상의 본래 별개의 단백질 또는 펩티드를 연결함으로써 창출된 단백질이다. 이러한 절차는 본래 별개의 단백질 각각으로부터 유래된 기능적 특성을 갖는 단일 폴리펩티드를 야기한다. 이들 단백질은 서로 직접적으로 융합될 수 있다. 이들 단백질은 또한, 링커를 통해 융합될 수 있는데, 이것은 이들 단백질이 서로 독립적으로 접히고 각각 그들의 선천적 상태에서 예상한 대로 행동할 가능성을 증가시킬 수 있다. 이합체성 또는 다합체성 융합 단백질은 단백질 복합화를 유도하는 펩티드 도메인 (예컨대 항체 도메인)의 본래 단백질에 융합에 의한 유전공학을 통해 제조될 수 있다.

[0348] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 첫 번째 성분에 직접적으로 결합된다. 이것은 두 번째 성분이 첫 번째 성분을 직접적으로 뒤따르며 (또는 그 반대로), 이들 2가지 성분 사이에 추가 화학 원소 (원자 또는 기)가 존재하지 않는다는 것을 의미한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분의 마지막 아미노산은 두 번째 성분의 첫 번째 아미노산에 바로 인접한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분의 마지막 아미노산은 첫 번째 성분의 첫 번째 아미노산에 바로 인접한다.

[0349] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 링커, 특히 펩티드 링커를 거쳐 첫 번째 성분에 간접적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 이것은 펩티드 링커가 첫 번째와 두 번째 성분 사이에 있다는 것을 의미한다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 첫 번째 성분의 마지막 아미노산 및 두 번째 성분의 첫 번째 아미노산 사이에 있다. 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 두 번째 성분의 마지막 아미노산 및 첫 번째 성분의 첫 번째 아미노산 사이에 있다.

[0350] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분이 첫 번째 성분의 N 말단 및/또는 C 말단에 공유적으로 결합된다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항체 또는 항원 결합 단편이고, 그리고 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 첫 번째 성분의 C 말단에 공유적으로 결합된다 (직접적으로 또는 펩티드 링커를 통해. 융합 단백질이 Fab-HABD인 구체예에서, HABD는 Fab의 C 말단에 공유적으로 결합된다.

[0351] **1. 펩티드 링커**

[0352] 많은 구체예에서, 펩티드 링커는 치료 활성제 (다시 말하면, 첫 번째 성분) 및 HABD (다시 말하면, 두 번째 성분)를 연결한다. 일부 구체예에서, 링커는 적어도 4개의 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 4개 내지 25개의 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 5개 내지 100개의 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 10개 내지 50개의 아미노산을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 25개의 아미노산보다 길지 않다. 일부 구체예에서, 링커는 50개의 아미노산보다 길지 않다.

[0353] 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 인접한 단백질 도메인들이 서로에 대하여 자유롭게 움직이도록, 글리신 및 세린과 같은 유연한 잔기를 포함한다. 따라서, 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 글리신-세린 링커, 다시 말하면, 글리신 및 세린 잔기의 패턴으로 구성되는 펩티드 링커이다. 한 구체예에서 상기 펩티드 링커는 $(GxS)_n$ 또는 $(GxS)_nG_m$이고, 여기서 G = 글리신 및 S = 세린이다. 이들 구체예에서, x = 3; n = 3, 4, 5 또는 6; 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3이다. 다른 구체예에서, x = 4; n = 2, 3, 4 또는 5; 그리고 m = 0, 1, 2 또는 3이다. 일부 구

체예에서, x = 4 및 n = 2 또는 3이다. 일부 구체예에서, x = 4 및 n = 2이다.

[0354] 일부 구체예에서 펩티드 링커는 GGGGS (서열 번호: 27) 또는 이의 다합체, 더욱 특히 $(GGGGS)_3$ (서열 번호: 28)으로 구성된다.

[0355] 일부 구체예에서, 펩티드 링커는 $(GS)_n$을 포함하는데, 여기서 G는 글리신이고 S는 세린이다. 이들 구체예에서, n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10이다. 일부 구체예에서, n = 10이다. 일부 구체예에서, 링커는 서열 번호: 95이다.

[0356] **E. 치료 분자 및 접합체의 일정한 구체예**

[0357] 1. VEGF

[0358] 일부 구체예에서, 치료 분자는 (1) 항-VEGF 항체, 항체 단편, 항원 결합 단편, 또는 Fab를 포함하는 첫 번째 성분; 그리고 (2) 하나 또는 두 개의 두 번째 성분을 포함하고, 여기서 두 번째 성분은 CD44 HA 수용체 도메인, TSG6 도메인 및/또는 VG1 도메인을 포함한다.

[0359] 일부 구체예에서, 접합체는 (1) 항-VEGF 항체, 항원 결합 단편, 항체 단편, 또는 Fab를 포함하는 첫 번째 성분; (2) 하나 또는 두 개의 두 번째 성분; 그리고 (3) 5 kDa 내지 20 kDa 범위의 분자량의 HA를 포함한다.

[0360] a)G6.31

[0361] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 G6.31 항-VEGF Fab를 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 17 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 18 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 105에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 106에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0362] b)PigFab

[0363] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 PigFab를 포함하는 항체 항-VEGF Fab이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 66 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 65 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 97에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 98에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0364] c)라니비주맙

[0365] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 라니비주맙을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 77 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 76 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 114에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 115에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0366] d)CD44

[0367] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 CD44 HA 수용체 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 서열 번호: 2를 포함한다.

[0368] e)TSG6

[0369] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 TSG6 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 서열 번호: 4를 포함한다.

[0370] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 17, 서열 번호: 18, 서열 번호: 19 및/또는 서열 번호: 20을 포함한다.

[0371] f)VG1

[0372] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 다음의 서열 번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 또는 87 중 하나 또는 두 개를 포함한다.

[0373] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 65, 서열 번호: 66, 서열 번호: 67, 서열 번호: 68, 서열 번호: 76 및/또는 서열 번호: 77을 포함한다.

[0374] **g)시스테인 매듭 펩티드 (CKP)**

[0375] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항-VEGF 항원 결합 단편을 포함하는 것에 더하여, 시스테인 매듭 펩티드 (CKP)를 임의적으로 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, CKP는 서열 번호: 92와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0376] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 93과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, 항-VEGF 항원 결합 단편은 서열 번호: 94와 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.

[0377] 일부 구체예에서, 항-VEGF 항원 결합 단편 및 시스테인 매듭 펩티드를 포함하는 첫 번째 성분을 포함하는 상기 치료 분자는 상기 섹션 II.B에서 논의된 바와 같이 HABD를 포함하는 두 번째 성분을 더욱 포함할 수 있다.

[0378] 일부 구체예에서, 접합체는 (1) 항-VEGF 항원 결합 단편을 포함하는 첫 번째 성분, (2) HABD를 포함하는 하나 또는 두 개의 두 번째 성분, 그리고 (3) 5 kDa 내지 20 kDa 범위의 분자량의 HA를 포함한다.

[0379] **2. NVS24**

[0380] 일부 구체예에서, 치료 분자는 (1) 항-VEGF 항체, NVS24를 포함하는 첫 번째 성분, 그리고 (2) TSG6 (Lava12) 도메인을 포함하는 하나의 두 번째 성분을 포함한다.

[0381] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 NVS24 항체를 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 21 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 22 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 109에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 110에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0382] **a)TSG6 (Lava12)**

[0383] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 TSG6 (Lava12) 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 서열 번호: 113을 포함한다.

[0384] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 21 및/또는 서열 번호: 22를 포함한다.

[0385] **3. 항-VEGF 및 항-PDGF 이중 표적화 항체 (항-VP-dutaFab; 항-VPDF)**

[0386] 일부 구체예에서, 치료 분자는 (1) 상기 섹션 II.A.1.h)에서 논의되는, VEGF 및 PDGF에 결합할 수 있는 첫 번째 성분 (예컨대 이중특이적 항체 또는 이중 표적화 항체, dutaFab); 그리고 (2) CD44 HA 수용체 도메인, TSG6 도메인 및/또는 VG1 도메인을 포함하는 하나 또는 두 개의 두 번째 성분을 포함한다.

[0387] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 5 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 6 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 99에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 100에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0388] **a)CD44**

[0389] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 CD44 HA 수용체 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 서열 번호: 2를 포함한다.

[0390] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 5, 서열 번호: 6, 서열 번호: 7 및/또는 서열 번호: 8을 포함한다.

[0391] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 CD44-ko 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 서열 번호: 25 및/또는 26에서 진술된 CD44-ko 도메인을 포함한다.

[0392] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 25 및/또는 26을 포함한다.

[0393] **b)TSG6 (Lava12)**

[0394] 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 TSG6 (Lava12) 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 성분은 서열 번호: 113을 포함한다.

[0395] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 23 및/또는 서열 번호: 24를 포함한다.

[0396] c)VG1

[0397] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 다음의 서열 번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 또는 87 중 하나 또는 두 개를 포함한다.

[0398] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 69, 서열 번호: 70, 서열 번호: 72 및/또는 서열 번호: 73을 포함한다.

[0399] 4. RabFab

[0400] 일부 구체예에서, 치료 분자는 (1) RabFab 항체를 포함하는 첫 번째 성분 (상기 섹션 II.A.3에서 논의됨); 그리고 (2) TSG6 도메인 및/또는 VG1 도메인을 포함하는 하나 또는 두 개의 두 번째 성분을 포함한다.

[0401] 일부 구체예에서, RabFab 항체는 RabFab VH와 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, RabFab 항체는 서열 번호: 13 내에 포함된 VH 도메인 및 서열 번호: 14 내에 포함된 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, RabFab 항체는 서열 번호: 107에서 진술된 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, RabFab 항체는 서열 번호: 108에서 진술된 VL 도메인을 포함한다.

[0402] a)TSG6

[0403] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 TSG6 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 서열 번호: 4를 포함한다.

[0404] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 13, 서열 번호: 14, 서열 번호: 15 및/또는 서열 번호: 16을 포함한다.

[0405] b)VG1

[0406] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 다음의 서열 번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 또는 87 중 하나 또는 두 개를 포함한다.

[0407] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 63 및/또는 서열 번호: 64를 포함한다.

[0408] 5. 20D12v2.3

[0409] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 항보체 인자 D 항체 Fab를 포함하는 항체, 20D12v2.3이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 75 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 74 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 111에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 112에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0410] a)VG1

[0411] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 다음의 서열 번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 또는 87 중 하나 또는 두 개를 포함한다.

[0412] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 74 및/또는 서열 번호: 75를 포함한다.

[0413] 6. HtrA1

[0414] 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 인간 HtrA1에 결합할 수 있는 항체 또는 항체 단편을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 118 내에 포함된 VH 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 119 내에 포함된 VL 도메인을 갖는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 116에서 진술된 VH 도메인을 포함하는 항체이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 성분은 서열 번호: 117에서 진술된 VL 도메인을 포함하는 항체이다.

[0415] a)VG1

[0416] 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 VG1 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 또는 두 개의 두 번째 성분은 다음의 서열 번호: 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 또는 87 중 하나 또는 두 개를 포함한다.

[0417] 일부 구체예에서, 치료 분자는 서열 번호: 118 및/또는 서열 번호: 119를 포함한다.

[0418] **III. 눈 질환의 치료**

[0419] 재료와 방법은 눈 질환의 치료에 유용하다. 눈 질환은 안구 조직 예컨대 망막 또는 각막의 구조 내로 새로운 혈관의 변경된 또는 조절되지 않는 증식 및/또는 침습에 의해 특징화될 수 있다. 눈 질환은 망막 조직 (광수용기 및 기초 망막 색소 상피 (RPE) 및 맥락막모세혈관층)의 위축에 의해 특징화될 수 있다. 무제한적 눈 질환은 예를 들면, 연령 관련 황반 재생 (AMD; 예를 들면, 습성 AMD, 건성 AMD, 중간 AMD, 진행된 AMD, 그리고 지도모양 위축 (GA)), 황반 변성, 황반 부종, 당뇨병성 황반 부종 (DME) (예를 들면, 초점성, 비-중심 DME 및 미만성, 중심 침범 DME), 망막병증, 당뇨병성 망막병증 (DR) (예를 들면, 증식성 DR (PDR), 비증식성 DR (NPDR), 그리고 높은 고도 DR), 다른 허혈 관련 망막병증, ROP, 망막 정맥 폐쇄 (RVO) (예를 들면, 중심 (CRVO) 및 분지된 (BRVO) 형태), CNV (예를 들면, 근시성 CNV), 각막 혈관신생, 각막 혈관신생과 연관된 질환, 망막 혈관신생, 망막/맥락막 혈관신생과 연관된 질환, 중심 장액성 망막병증 (CSR), 병적 근시, 폰 히펠 린다우 병, 눈의 히스토플라스마증, FEVR, 코츠병, 노리병, 골다공증-가성신경아교종 증후군 (OPPG)과 연관된 망막 비정상, 결막하 출혈, 피부홍조, 안구 혈관신생 질환, 신생혈관 녹내장, 망막 색소변성 (RP), 고혈압성 망막병증, 망막 혈관종성 증식, 황반 모세관확장증, 홍채 혈관신생, 안구내 혈관신생, 망막 변성, 낭포성 황반 부종 (CME), 혈관염, 유두부종, CMV 망막염을 포함하지만 이것에 한정되지 않는 망막염, 안구 흑색종, 망막 모세포종, 결막염 (예를 들면, 감염성 결막염 및 비감염성 (예를 들면, 알레르기) 결막염), 레베르 선천성 흑암시 (레베르의 선천성 흑암시 또는 LCA로서 또한 알려져 있음), 포도막염 (감염성 및 비감염성 포도막염 포함), 맥락막염 (예를 들면, 다초점성 맥락막염), 눈 히스토플라스마증, 안검염, 건성안, 외상성 눈 손상, 쇼그렌병, 그리고 질환 또는 장애가 안구 혈관신생, 혈관 누출 및/또는 망막 부종 또는 망막 위축과 연관되는 다른 안과 질환을 포함한다. 추가의 예시적인 눈 질환은 증식성 유리체망막병증의 모든 형태를 비롯한, 섬유혈관 또는 섬유성 조직의 비정상적인 증식에 의해 유발된 질환을 포함한다.

[0420] 각막 혈관신생 (홍채의 혈관신생, 전방각의 혈관신생, 또는 피부홍조)과 연관된 예시적인 질환은 유행성 각결막염, 비타민 A 결핍, 콘택트렌즈 과도착용, 아토피성 각막염, 상윤부 각막염, 익상편 건성 각막염, 쇼그렌 증후군, 여드름 장미증, 필렉테눌로시스, 매독, 미코박테리아 (*Mycobacteria*) 감염, 지방 각막변성, 화학 화상, 세균성 궤양, 진균성 궤양, 단순 포진 감염, 대상 포진 감염, 원생동물 감염, 카포시 육종, 무렌 궤양, 테리엔 변연 각막변성, 변연부 각질용해증, 류마티스성 관절염, 전신성 루푸스, 다발동맥염, 외상, 베게너 사르코이드증, 공막염, 스티븐스 존슨 증후군, 페리피고이드 방사상 각막절개, 그리고 각막 이식 거부를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0421] 증가된 혈관 누출, 동맥류 및 모세혈관 소실을 비롯한, 맥락막 혈관신생 및 망막 혈관구조에서 결함과 연관된 예시적인 눈 질환은 당뇨병성 망막병증, 황반 변성, 겸상 적혈구성 빈혈, 사르코이드, 매독, 탄력섬유성 가황색종, 파제트병, 정맥 폐쇄, 동맥 폐쇄, 경동맥 폐쇄성 질환, 만성 포도막염/유리체염, 미코박테리아 감염, 라임병, 전신성 홍반성 루푸스, 미숙아 망막병증, 망막 부종 (황반 부종 포함), 이일즈병, 베흐체트병, 망막염 또는 맥락막염 (예를 들면, 다초점성 맥락막염)을 야기하는 감염, 추정 안구 히스토플라스마증, 베스트병 (난황상 황반 변성), 근시, 시신경 유두소와, 평면부염, 망막 박리 (예를 들면, 만성 망막 박리), 과다점도 증후군, 톡소포자충증, 외상, 그리고 레이저수술후 합병증을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0422] 망막 조직 (광수용기 및 기초 RPE)의 위축과 연관된 예시적인 눈 질환은 위축성 또는 비삼출성 AMD (예를 들면, 지도모양 위축 또는 진행된 건성 AMD), 황반 위축 (예를 들면, 혈관신생과 연관된 위축 및/또는 지도모양 위축), 당뇨병성 망막병증, 스타가르트병, 솔스비 안저 이상증, 망막층간분리증 (망막 감각신경층의 비정상적인 분할), 그리고 망막 색소변성을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0423] 상기 임의의 구체예에 따른 (또는 이것에 적용된 바와 같은) 일정한 구체예에서, 눈 질환은 증식성 망막병증, 맥락막 혈관신생 (CNV), 연령 관련 황반 변성 (AMD), 당뇨병성 및 다른 허혈 관련 망막병증, 당뇨병성 황반 부종, 병리학적 근시, 폰 히펠 린다우 병, 눈의 히스토플라스마증, 망막 정맥 폐쇄 (RVO) (CRVO 및 BRVO 포함), 각막 혈관신생, 망막 혈관신생, 그리고 미숙아 망막병증 (ROP)으로 구성된 군에서 선택되는 안구내 혈관신생 질환이다. 본원 발명의 바람직한 구체예에서, 눈 질환은 연령 관련 황반 변성 (AMD), 특히 습성 AMD 또는 혈관신생 AMD, 당뇨병성 황반 부종 (DME), 당뇨병성 망막병증 (DR), 특히 증식성 DR 또는 비증식성 DR, 망막 정맥 폐

쇄 (RVO) 또는 지도모양 위축 (GA)이다.

[0424] 본원에서 개시된 치료 분자, 접합체 및 조성물은 포유류 개체에서 눈 질환을 치료하기 위해 약제로서 이용될 수 있다. 포유동물의 실례는 순치된 동물 (예를 들면, 소, 양, 고양이, 개 및 말), 영장류 (예를 들면, 인간 및 비인간 영장류 예컨대 원숭이), 토끼, 그리고 설치류 (예를 들면, 생쥐 및 쥐)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 개체는 인간이다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 및 조성물의 치료 표적은 인간 눈에서 표적이다.

[0425] **IV. 치료 방법**

[0426] 치료 분자, 접합체 또는 조성물의 환자 조직으로의 전달을 포함하는, 눈 질환을 치료하기 위한 방법이 본원에서 제공된다. 많은 구체예에서, 이들 방법은 치료 분자가 치료 활성제의 표적 조직으로의 지속성 전달을 제공할 수 있도록, 치료 분자를 투여하는 단계를 포함한다. 많은 구체예에서, 표적 조직은 눈에 있다.

[0427] **A. 투여 방법**

[0428] 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 예를 들면, 그 중에서도 특히 국소, 경구, 정맥내, 복막내, 근육내, 피하, 비내, 기관내 또는 피내 루트에 의한 투여를 비롯한 임의의 효과적이고 편의한 방식으로 투여될 수 있다. 바람직하게는, 조성물은 눈에 투여하기에 적합하다, 더 특이적으로, 조성물은 IVT 투여에 적합할 수 있다. 따라서, 바람직한 구체예에서, 조성물은 안구내 전달, 특히 IVT 주사용으로 제제화된다. 요법에서 또는 예방약으로서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 주사가능 조성물로서, 예를 들면, 무균 수성 분산액으로서 개체에게 투여될 수 있다.

[0429] 이러한 이론에 한정됨 없이, 접합체를 주사하는 것은 IVT HA와의 상호작용 전, 전복합화된 HABD로부터 HA의 확산을 가능하게 할 수 있는 것으로 가정된다. 해리가 느리기 때문에, 유리체 내에 자유 HABD의 농도가 낮다. 유리체 내에 존재하는 더 낮은 농도의 자유 HABD는 HA와 전복합화되지 않은 치료 분자보다, 눈에 덜 유해할 수 있다.

[0430] 일부 구체예에서, 투여 단계는 단회 주사이다. 일부 구체예에서, 투여 단계는 1회 초과의 단회 주사를 포함한다.

[0431] **B. 조성물**

[0432] 특히 눈 질환의 치료에서 약제로서 이용하기 위한 조성물이 본원에서 제공된다. 조성물은 그들이 약학 분야에서 또는 제약으로서 이용이 의도되기 때문에, 약학 조성물로서 지칭될 수 있고, 그리고 그 안에 내포된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하는 그런 형태이고 약학 조성물이 투여될 개체에게 받아들이기 어려울 정도로 독성인 어떤 추가 성분도 내포하지 않는 제조물을 지칭한다.

[0433] 일부 구체예에서, 조성물은 치료 분자를 포함한다. 일부 구체예에서, 조성물은 접합체를 포함한다.

[0434] 일부 구체예에서, 조성물은 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 또는 운반체, 예컨대 완충액 물질, 안정제, 보존제, 또는 추가 성분, 특히 약학 조성물과 관련하여 통상적으로 공지된 성분을 임의적으로 포함한다.

[0435] 일반적으로, 임의적 또는 추가 성분의 성격은 조성물의 특정 형태 및 이용되는 투여 방식에 의존할 것이다. 약학적으로 허용되는 운반체는 조성물을 증강하거나 또는 안정시킬 수 있거나, 또는 조성물의 제조를 용이하게 하는 데 이용될 수 있다. 이런 운반체는 식염수, 완충된 식염수, 덱스트로스, 물, 글리세롤, 용매, 분산 매질, 코팅, 항균제와 항진균제, 등장성과 흡수 지연 작용제, 그리고 생리학적으로 양립하는 기타 유사한 것들뿐만 아니라 이들의 조합을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다. 조성물은 하나 이상의 다른 치료제, 특히 예를 들면, 눈 질환 예컨대 망막 혈관병과 연관된 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 데 적합한 것들을 부가적으로 내포할 수 있다. 제제는 투여 방식에 적합해야 한다. 예를 들면, 비경구 제제는 통상적으로, 약학적으로 및 생리학적으로 허용되는 유체 예컨대 물, 생리식염수, 균형화된 염 용액, 수성 덱스트로스, 글리세롤 또는 기타 유사한 것을 운반제로서 포함하는 주사가능 유체를 포함한다. 투여되는 약학 조성물은 생물학적으로 중성 운반체 이외에, 소량의 비독성 보조 물질, 예컨대 침윤제 또는 유화제, 보존제, pH 완충제 등을 내포할 수 있다.

[0436] 조성물은 안정제를 포함할 수 있다. 용어 "안정제"는 조성물을 불리한 조건, 예컨대 가열 또는 동결 동안 발생하는 것들로부터 보호하는, 및/또는 조건 또는 상태에서 본원 발명의 접합체의 안정성 또는 저장 수명을 연장하는 물질을 지칭한다. 안정제의 실례는 당, 예컨대 수크로오스, 락토오스 및 만노오스; 당 알코올, 예컨대 만니톨; 아미노산, 예컨대 글리신 또는 글루타민산; 그리고 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민 또는 젤라틴을 포함하

지만 이들에 한정되지 않는다.

[0437] **C. 유효 용량**

[0438] 전형적으로, 치료적으로 효과적인 용량 또는 유효한 용량의 치료 분자 또는 접합체가 본원 발명의 약학 조성물에 이용된다. 치료 분자 및 접합체는 당업자에게 공지된 전통적인 방법에 의해 약학적으로 허용되는 약형으로 제제화된다. 투약 섭생은 최적의 원하는 반응 (예를 들면, 치료 반응)을 제공하기 위해 조정된다. 예를 들면, 단회 일시 주사가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 시간의 추이에서 투여될 수 있거나, 또는 용량이 치료 상황의 긴급 사항에 따라 비례적으로 감소되거나 또는 증가될 수 있다. 투여의 편의성 및 용량의 균일성을 위해, 비경구 조성물을 복용 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 이용된 바와 같이, 복용 단위 형태는 치료를 받는 개체에 대한 단위 용량으로서 적합한 물리적으로 구별된 단위를 지칭하고; 각 단위는 필요한 약학적 운반체와 관련하여 원하는 치료 효과를 발생시키도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 내포한다.

[0439] 약학 조성물에서 활성 성분 (다시 말하면, 치료 분자 및 접합체)의 실제 용량 수준은 환자에 대한 독성 없이, 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대한 원하는 치료 반응을 달성하는 데 효과적인 활성 성분의 양을 획득하기 위해 변경될 수 있다. 선택된 용량 수준은 이용된 본원 발명의 특정 조성물의 활성, 투여 루트, 투여 시간, 이용된 특정 화합물의 배출 속도, 치료의 지속 기간, 특정 조성물과 병용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료를 받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반 건강 및 선행 병력, 그리고 기타 인자를 비롯한 다양한 약물동력학적 인자에 의존한다. 용량 수준은 본원에서 설명된 안구/시각 사정 중에서 한 가지 이상을 이용하여 결정된 대로 치료 반응을 달성하도록 선택되고 및/또는 조정될 수 있다. 의사 또는 수의사는 약학 조성물에서 이용되는 접합체의 치료 분자의 용량을 원하는 치료 효과를 달성하는 데 필요한 수준보다 낮은 수준에서 시작하고, 그리고 원하는 효과가 달성될 때까지 용량을 점진적으로 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본원에서 설명된 눈 질환의 치료를 위한 조성물의 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간 또는 동물인지의 여부, 투여된 다른 약제, 그리고 치료가 예방적 또는 치료적인지의 여부를 비롯한 많은 상이한 인자에 따라서 변한다.

[0440] 치료 용량은 안전성과 효능을 최적화하도록 적정되어야 한다. 본원 발명의 접합체를 이용한 IVT 투여를 위한 용량은 주사마다 0.1 mg/눈 내지 10 mg/눈의 범위 안에 있을 수 있다. 한쪽 눈당 단회 용량은 한쪽 눈당 1회 이상의 주사로 수행될 수 있다. 예를 들면, 20 mg/눈의 단회 용량은 20 mg의 총 용량을 야기하는, 각각 10 mg의 2회 주사로 전달될 수 있다. 주사마다 용적은 10 마이크로리터 및 50 마이크로리터 사이일 수 있고, 반면 투약마다 용적은 10 마이크로리터 및 100 마이크로리터 사이일 수 있다. Lucentis에 이용하기 적합한 미국 식품의약국 (FDA)-허가된 용량과 섭생이 고려된다. 항-VEGF 항체 또는 항원 결합 단편에 이용하기 적합한 다른 용량과 섭생은 온전히 참조로서 편입되는 US 2012/0014958에서 설명된다.

[0441] 조성물은 여러 번에 걸쳐 투여될 수 있다. 단회 투약 사이의 간격은 주 1회, 월 1회 또는 연 1회일 수 있다. 간격은 또한, 예를 들면 시력 또는 황반 부종에 근거하여, 환자에서 재치료에 대한 필요성에 따라 불규칙적일 수 있다. 이에 더하여, 대안적 투약 간격이 의사에 의해 결정되고 월 1회 또는 필요에 따라 효율적으로 시행될 수 있다. 효능은 눈의 상태뿐만 아니라 예를 들면, 병변 성장, 항-VEGF 구조의 속도, 광간섭 단층촬영술 (OCT)에 의해 결정된 바와 같은 망막 두께, 그리고 시력에 의해 특징화되는 눈 질환의 종류와 중증도에 근거된다. 용량과 빈도는 환자에서 본원 발명의 접합체의 반감기 및 치료 표적 (예를 들면, VEGF, C5, EPO, 인자 P 등)의 수준에 따라서 변할 수 있다. 하지만, 본원 발명의 바람직한 구체예에서, 조성물은 많으면 3 개월마다, 특히 많으면 4 개월마다, 더욱 특히 6 개월마다 투여된다. 이것은 개별 결합되지 않은 (자유) 첫 번째 성분과 비교하여, 접합체에서 첫 번째 성분의 증가된 반감기 (따라서 효능의 연장된 지속 기간)를 반영한다. 이것에 따라서, 접합체에서 첫 번째 성분의 제거 반감기는 접합되지 않은 첫 번째 성분과 비교하여 적어도 3배, 적어도 4배 또는 적어도 5배 연장된다. 자유 첫 번째 성분과 비교하여 접합체에서 첫 번째 성분에 대한 제거 반감기의 상대적 증가는 IVT 주사에 의해 분자를 투여하고, 그리고 당해 분야에서 공지된 분석법, 예를 들면 ELISA, 질량 분광분석, 웨스턴 블롯, 방사면역검정, 또는 형광 표지화를 이용하여 다양한 시점에서 남아있는 농도를 계측함으로써 결정될 수 있다. 혈중 농도 역시 기존 문헌 (Xu L et al., invest Ophthalmol Vis ScL, 54(3):1816-24 (2013))에서 설명된 바와 같이 계측되고 눈으로부터 청소율을 계산하는 데 이용될 수 있는데, 일반적으로, 접합체의 일부로서 분자 (예를 들면, 항체 또는 단편)는 자유 분자의 것보다 긴 안구 반감기를 보여준다. 예를 들면, 눈에서 접합체는 자유 첫 번째 성분과 비교하여 반감기에서 25% 증가 (예를 들면, 5 일에서 6.25 일로), 자유 첫 번째 성분과 비교하여 반감기에서 50% 증가 (예를 들면, 5 일에서 7.5 일로), 자유 첫 번째 성분과 비교하여 반감기에서 75% 증가 (예를 들면, 5 일에서 8.75 일로), 또는 자유 첫 번째 성분과 비교하여 반감기에서 100% 증가 (예를

들면, 5 일에서 10 일로)를 나타낼 수 있고, 일정한 양상에서 접합체의 반감기는 자유 첫 번째 성분과 비교하여 반감기에서 100%를 초과하여 증가할 수도 있는 것으로 예기된다 (예를 들면, 5 일에서 15, 20 또는 30 일로; 1 주에서 3 주, 4 주 또는 그 초과로; 기타 등등).

[0442] **D. 병용 요법**

[0443] 병용 요법은 병용 투여 (여기서 두 가지 이상의 치료제가 동일하거나 또는 별개의 제제 내에 포함된다), 그리고 개별적 투여를 포괄하고, 이러한 사례에서, 치료 분자 및 접합체의 투여는 추가 치료제 또는 치료제들의 투여에 앞서, 투여와 동시에 및/또는 투여 이후에 발생할 수 있다. 일정한 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 추가 화합물과 동시에 투여된다. 일정한 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 추가 화합물 전후에 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물의 투여 및 추가 치료제의 투여는 서로 약 1, 2, 3, 4 또는 5 개월 이내에, 또는 약 1, 2 또는 3 주 이내에, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 일 이내에 발생한다.

[0444] 눈 질환의 치료를 위한 임의의 적합한 치료제가 상기 추가 화합물, 특히 눈 질환의 치료를 위한 작용제로서 이용될 수 있다. 눈 질환은 상기 섹션 III에서 논의된다. 게다가, 치료 분자의 성분으로서 상기 섹션 II.A에서 논의된 임의의 분자 또한 병용 요법에 이용되는 추가 화합물로서 이용될 수 있다.

[0445] 일부 구체예에서, 추가 화합물은 상기 섹션 II.A.1.h)에서 및 Carmeliet et al., Nature 407:249-257 (2000)에서 논의된 항신생혈관제이다. 다른 적합한 항신생혈관제는 코르티코스테로이드, 혈관신생억제 스테로이드, 아네코르테이브 아세트산염, 앤지오스타틴, 엔도스타틴, 티로신 키나아제 저해제, 기질 금속프로테이나아제 (MMP) 저해제, 인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 3 (IGFBP3), 간질 유래 인자 (SDF-1) 길항제 (예를 들면, 항-SDF-1 항체), 색소 상피 유래 인자 (PEDF), 감마-세크레타아제, 델타 유사 리간드 4, 인테그린 길항제, 산소결핍 유도 인자 (HIF)-1α 길항제, 단백질 키나아제 CK2 길항제, 혈관신생의 부위로 줄기 세포 (예를 들면, 내피 선조 세포) 귀소를 저해하는 작용제 (예를 들면, 항-혈관 내피 카드헤린 (CD-144) 항체 및/또는 항-SDF-1 항체), 그리고 이들의 조합을 포함한다.

[0446] 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 또한, 예를 들면, 레이저 광응고 (예를 들면, 범망막성 광응고 (PRP)), 드루젠 레이저법, 황반 원공 수술, 황반 전위 수술, 이식가능 미니어처 망원경, PHI-모션 혈관조영술 (마이크로-레이저 요법 및 공급 혈관 치료로서 또한 알려져 있음), 양성자 빔 요법, 미세 자극 요법, 망막 박리 및 유리체 수술, 공막 돌륭, 황반하 수술, 동공 통과 열요법, 광계 I 요법, RNA 간섭 (RNAi)의 이용, 체외 레오페레시스 (막 분별 여과 및 레오테라피로서 또한 알려져 있음), 마이크로칩 이식, 줄기 세포 요법, 유전자 대체 요법, 리보자임 유전자 요법 (산소결핍 반응 요소에 대한 유전자 요법, Oxford Biomedica; Lentipak, Genetix; 및 PDEF 유전자 요법, GenVec 포함), 광수용기/망막 세포 이식 (이식할 수 있는 망막 상피 세포, Diacrin, Inc.; 망막 세포 이식, 예를 들면, Astellas Pharma US, Inc., ReNeuron, CHA Biotech 포함), 침술, 그리고 이들의 조합을 비롯하여, 눈 질환 (예를 들면, AMD, DME, DR, RVO 또는 GA)의 치료를 위한 요법 또는 수술 절차와 병용 투여될 수 있다.

[0447] 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 또한, 시각 회로 조절제 (예를 들면, 에믹수스탯 염산염); 스쿠알라민 (예를 들면, OHR-102; Ohr Pharmaceutical); 비타민 및 무기물 첨가제 (예를 들면, 연령 관련 눈 질환 연구 1 (AREDS1; 아연 및/또는 항산화제) 및 연구 2 (AREDS2; 아연, 항산화제, 루테인, 제아잔틴 및/또는 오메가-3 지방산)에서 설명된 것들); 세포 기반 요법, 예를 들면, NT-501 (Renexus); PH-05206388 (Pfizer), huCNS-SC 세포 이식 (StemCells), CNTO-2476 (제대 줄기 세포주; Janssen), OpRegen (RPE 세포의 현탁액; Cell Cure Neurosciences), 또는 MA09-hRPE 세포 이식 (Ocata Therapeutics)과 병용 투여될 수 있다.

[0448] 일부 구체예에서, 추가 치료제는 AMD 치료제이다. 예를 들면, 항-PDGFR 항체 REGN2176-3이 아플리베르셉트 (EYLEA®)와 공동제제화될 수 있다. 일부 경우에, 이런 공동제제는 치료 분자, 접합체 또는 조성물과 병용 투여될 수 있다.

[0449] 일부 구체예에서, 추가 화합물은 엔도스타틴 및 앤지오스타틴을 발현하는 렌티바이러스 벡터 (예를 들면, RetinoStat)를 포함한다.

[0450] 일정한 구체예에서, 추가 화합물은 IL-1β; IL-6; IL-6R; IL-13; IL-13R; PDGF; 안지오포이에틴; Ang2; Tie2; S1P; 인테그린 αvβ3, αvβ5 및 α5β1; 베타셀룰린; 아펠린/APJ; 에리트로포이에틴; 보체 인자 D; TNFα; HtrA1; VEGF 수용체; ST-2 수용체; 그리고 AMD 위험과 유전적으로 연계된 단백질, 예컨대 보체 경로 성분 C2, 인자 B, 인자 H, CFHR3, C3b, C5, C5a 및 C3a; HtrA1; ARMS2; TIMP3; HLA; 인터류킨-8 (IL-8); CX3CR1; TLR3; TLR4; CETP; LIPC; COL10A1; 및 TNFRSF10A로 구성된 군에서 선택되는 두 번째 생물학적 분자에 결합한다. 일정

한 구체예에서, 추가 화합물은 상기 섹션 II.A.3에서 논의된 항체 및 항원 결합 단편의 실례를 비롯한, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.

[0451] **E. 표적 조직**

[0452] 일부 구체예에서, 표적 조직은 눈, 뇌, 뼈 및/또는 종양을 포함한다. 일부 구체예에서, 조직은 망막을 포함한다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 눈, 뇌, 뼈 또는 종양 내로 주사된다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 유리체액, 뇌척수액 또는 윤활액 내로 주사된다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 피하 주사된다.

[0453] 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여, 주사 부위에 대하여 향상된 양립성, 더 긴 체류 시간, 및/또는 더 긴 반감기를 제공한다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여, 표적 조직에서 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 더욱 제공할 수 있다.

[0454] 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여 향상된 유리체 양립성, 더 긴 유리체 체류 시간, 더 긴 유리체 반감기, 및/또는 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 제공한다. 일부 구체예에서, 치료 분자, 접합체 또는 조성물은 변형되지 않은 치료 활성제와 비교하여 뇌, 윤활 관절 또는 종양에서 향상된 양립성, 더 긴 체류 시간, 더 긴 반감기, 및/또는 약리학적 효과의 향상된 지속 기간을 제공한다.

[0455] **F. HA에 치료 분자의 결합**

[0456] 일부 구체예에서, 상기 방법은 투여 단계 전 치료 분자를 HA에 결합시키는 (다시 말하면, 치료 분자를 HA와 전복합화하여 접합체를 형성하는) 단계를 포함한다. 이들 구체예에서, 전복합화는 치료 분자가 HA에 결합할 수 있게 한다. 이들 구체예 중 일부에서, HA는 치료 분자의 HABD에 결합된다. HABD의 실례는 상기 섹션 II.B에서 논의된다.

[0457] 일부 구체예에서, 상기 방법은 치료 분자를 포함하는 첫 번째 용액 및 HA를 포함하는 두 번째 용액을 혼합하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 혼합하는 것은 용기를 포함한다. 용기의 실례는 바이알, 단일 구획 주입기, 그리고 2 구획 주입기를 포함한다. 일부 구체예에서, 혼합하는 것은 개체에게 투여할 준비가 된 HA에 결합된 치료 분자를 생성한다.

[0458] 일부 구체예에서, HA 크기는 400 Da 내지 200 kDa의 범위 안에 있다. 일부 구체예에서, HA는 적어도 5 kDa이다. 일부 구체예에서, HA는 10 kDa이다. 일부 구체예에서, HA 크기/양은 결합된 또는 전복합화 혼합물 내에 존재하는 HA 결합 부위의 숫자에 대한 몰 과잉의 HA를 가능하게 한다. 일부 구체예에서, HA 크기/양은 HABD에 대한 몰 과잉의 결합 당량을 제공한다. 일부 구체예에서, HA 크기/양은 1.5:1 내지 1:1의 범위 안에 있는, HA 대 치료 분자의 비율을 가능하게 한다.

[0459] **실시예**

[0460] 다음은 본원 발명의 방법과 조성물의 실시예이다. 앞서 제공된 일반적인 설명을 고려하여, 다양한 다른 구체예가 실시될 수 있는 것으로 이해된다.

[0461] 아래의 실시예는 Fab 단편 또는 펩티드 및 히알루로난 결합 도메인을 포함하는 융합 단백질, 다시 말하면, Fab-HABD를 논의한다. 실시예 1-7은 CD44 및/또는 TSG6 HABD에 관계한다. 실시예 8-18은 VG1 HABD에 관계한다.

[0462] **실시예 1. Fab-히알루로난 결합 도메인 융합 단백질 (Fab-HABD)의 생성 및 HA와의 복합화**

[0463] Fab 단편 및 히알루로난 결합 도메인의 10개의 융합 단백질 (차후에 Fab-HABD로 명명됨)이 생성되었다 (표 2). 이들 Fab-HABD는 Gly-Ser 내포 링커 서열을 통한, Fab 단편의 중쇄의 C 말단에 하나의 HABD의 재조합 융합에 의해 창출되었다 (본원에서 "1x 버전"으로 명명됨). 일부 경우에, 추가의 HABD가 Fab 단편의 경쇄의 C 말단에 융합되었다 (본원에서 "2x 버전"으로 명명됨).

[0464] VEGF 및 PDGF ("VPDF"로 명명됨), 디곡시제닌 ("Dig"로 명명됨), 그리고 VEGF (클론 "G6.31")에 특이적으로 결합하는 Fab 단편이 Fab-HABD를 생성하는 데 이용되었다.

[0465] HABD는 CD44 (서열 번호: 2) 또는 TSG6 (서열 번호: 4)으로부터 유래되었다.

[0466] Dig 항체는 하나 또는 두 개의 CD44 HA 수용체 도메인에 공유적으로 연결되고 비결합 대조 분자 (서열 번호: 9-

12)로서 이용되었다.

표 2

표 2: 실시예에서 이용된 Fab-HABD의 아미노산 서열.

명칭	HC	LC
VPDF-1xCD44	서열 번호: 5	서열 번호: 6
VPDF-2xCD44	서열 번호: 7	서열 번호: 8
Dig-1xCD44	서열 번호: 9	서열 번호: 10
Dig-2xCD44	서열 번호: 11	서열 번호: 12
RabFab-1xTSG6	서열 번호: 13	서열 번호: 14
RabFab-2xTSG6	서열 번호: 15	서열 번호: 16
G6.31-1xTSG6	서열 번호: 17	서열 번호: 18
G6.31-2xTSG6	서열 번호: 19	서열 번호: 20
NVS24-1xTSG6 (Lava12)	서열 번호: 21	서열 번호: 22
VPDF-1xTSG6 (Lava12)	서열 번호: 23	서열 번호: 24
VPDF-2xCD44-ko (대조)	서열 번호: 25	서열 번호: 26

[0467]

[0468] **A. 재료와 방법**

[0469] **1. 단백질 발현**

[0470] 다양한 Fab-HABD에 대한 발현 플라스미드가 표준 분자생물학 기술을 이용한 제한 클로닝 또는 유전자 합성에 의해 생성되었다. 각각의 폴리펩티드 사슬에 대해 별개의 발현 벡터가 생성되었다. 발현이 HEK293 세포(ThermoFisher)에서 수행되었고, 그리고 발현 플라스미드가 1:1 비율로 혼합되었다.

[0471] 일부 경우에, TSG6이 대장균 (*E. coli*)에서 발현되었다.

[0472] 일부 경우에, RabFab-1xTSG6 및 RabFab-2xTSG6이, 안정되게 형질감염된 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포로부터 분비에 의해 생성되었다.

[0473] **2. 단백질 정제**

[0474] 상층액이 4℃에서, 20 분 동안 4,000 rpm으로 원심분리에 의해 수확되었다. 그 후에 무세포 상층액이 0.22 μm 바틀탑-필터를 통해 여과되고 냉동기 (-20℃)에서 보관되었다.

[0475] 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)와 함께 항-Ckappa 및 항-CH1 수지를 이용한 친화성 크로마토그래피에 의해, Fab-HABD가 세포 배양 상층액으로부터 정제되었다.

[0476] 간단히 말하면, 무균 여과된 세포 배양 상층액이, 1 x PBS 완충액 (10 mM Na2HPO4, 1 mM KH_2PO_4, 137 mM NaCl 및 2.7 mM KCl, pH 7.4)으로 평형화된 KappaSelect 수지 (GE Healthcare)에서 포획되고, 평형화 완충액으로 세척되고, pH 2.8에서 100 mM 구연산나트륨으로 용리되었다. 용리된 항체 분획물이 한 데 모아졌고, 그리고 pH가 7.5로 조정되었다. 단백질이 이후, 1 x PBS 완충액 (10 mM Na_2HPO_4, 1 mM KH_2PO_4, 137 mM NaCl 및 2.7 mM KCl, pH 7.4)으로 평형화된 CaptureSelect IgG-CH1 수지 (Life Technologies)에서 포획되고, 평형화 완충액으로 세척되며, pH 2.8에서 100 mM 구연산나트륨으로 용리되었다. 단백질 샘플의 농도가 280 nm에서 나노드롭 800 분광광도계 (Thermo Scientific) 상에서 결정되었다.

[0477] 1.5 mL/분의 유동률에서 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0 작업 완충액을 이용하여 HiLoad 16/60 Superdex 200 예비 등급 칼럼 (GE Healthcare)을 통해 분석적 SEC가 수행되었다.

[0478] 크기 배제 크로마토그래피로부터 항체 내포 혼주된 분획물이 -80℃에서 동결되고 추가 이용을 위해 보관되었다.

[0479] 일부 경우에, TSG6이 대장균 (*E. coli*)으로부터 정제되었다. 간단히 말하면, 7 M 구아니딘-HCl, 50 mM 트리스-

HCl, 100 mM 시티온산나트륨 및 20 mM 아황산나트륨으로 구성되는 완충액을 이용하여, 대장균 (*E. coli*) 세포가 추출되었다. Polytron® 균질기를 이용한 균질화, 원심분리 및 상층액의 여과 후, his-태깅된 단백질이 6 M 구아니딘-HCl, 25 mM 트리스-HCl, pH 8.6으로 평형화된 Ni-NTA 칼럼 (GE Healthcare)에서 포획되었다. 칼럼이 25 mM 트리스-HCl pH 8.6, 0.1% 트리톤 X-114으로 세척되고 250 mM 이미다졸을 내포하는 완충액으로 용리되었다. 칼럼으로부터 용리된 TSG6이, 0.5 M 구아니딘-HCl, 0.5 M l-아르기닌, 1 mM 환원된 글루타티온 (GSH) 및 1 mM 산화된 글루타티온 (GSSG)의 용액과 대비하여 1.5 mg/mL로 희석, 그 이후에 4℃의 온도에서 하룻밤 동안 투석에 의해 재접힘되었다. 25 mM 아세트산나트륨, pH 5.0으로 완충액 교환 후, 재접힘된 물질이 SP-Sepharose™ (GE Healthcare) 상에서 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 정제되었다.

[0480] 일부 경우에, RabFab-1xTSG6 및 RabFab-2xTSG6이, 안정되게 형질감염된 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포에 의해 분비되고 세포 배양 배지로부터 정제되었다. 이들 단백질은 재접힘을 필요로 하지 않았다. RabFab-1xTSG6은 이러한 Fab가 gly-gly-gly-gly-ser 링커를 통해 TSG-에 융합되었다; HABD는 HC의 C 말단 상에 있다. RabFab-2xTSG6은 이러한 Fab가 gly-gly-gly-gly-ser 링커를 통해 TSG6에 융합되었다; 하나의 HABD는 HC의 C 말단 상에 있고, 반면 다른 하나는 LC의 C 말단 상에 있다. 양쪽 단백질은 정제에 이용하기 위한, 중쇄의 C 말단에서 His-태그를 갖는다. 이들 Fab-HABD는 (1) Shatz, W. et al., Mol. Pharm., 13(9):2996-3003 (2016)에서 설명된 바와 같이 항원-친화성 칼럼 상에서 포획, (2) 니켈-NTA 칼럼 상에서 His-태깅된 물질의 단리, 그 이후에 (3) SP-세파로오스 상에서 양이온 교환 크로마토그래피로 구성되는 3가지 칼럼 크로마토그래피 단계를 이용하여 CHO 상층액으로부터 정제되었다.

[0481] **3. 히알루로난 (HA)과의 복합화**

[0482] Fab-HABD가 Fab-HABD-HA 접합체 (차후에 Fab-HABD-HA로 명명됨)의 형성을 위해, 10 kDa 히알루론산나트륨 (Lifecore, Biomedical)과 1:1 (w/w) 혼합되었다. 혼합한 후, 접합체가 농축되고 Amicon Ultra 10 kDa 컷오프 (Millipore)로 재완충되었다. 최종 제제는 20 mM 히스티딘 pH 6.0, 260 mM 수크로오스, 140 mM NaCl, 0.02% Tween 20이었다. 최종적으로, 접합체가 0.22 μm 필터 (Ultrafree-MC, 원심 단위 0.22 μm, GV Durapore)를 통해 여과되었다. 단백질-HA 접합체의 형성이 개별 Fab-HABD와 비교하여 더 짧은 체류 시간으로의 SEC 이동에 의해 모니터링되었다 (도 1 참조).

[0483] **실시예 2. Fab-HABD의 분자 특성**

[0484] **실시예 2.1. HA와의 상호작용**

[0485] **A. 재료와 방법**

[0486] HA에 결합하는, Fab-HABD의 HABD의 능력이 조사되었다. HA에 Fab-CD44 및 Fab-TSG6 Fab-HABD의 결합이 Biacore T200 기기 (GE Healthcare)를 이용한 SPR에 의해 검사되었다 (표 3). 간단히 말하면, Fab-CD44 Fab-HABD가 각각 3.7 내지 300 nM 범위의 농도로, HA 코팅된 칩 (SCBS HY, Xantect Bioanalytics GmbH, Germany) 위에 80 초 또는 120 초 동안 주입되었다. 일부 실험의 경우에, HA 코팅된 칩이, 스트렙타비딘으로 코팅된 Series S Sensor SA 칩 (GE Healthcare) 위에 비오틴-HA (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri U.S.)의 간접적인 결합에 의해 제조되었다. 해리 상이 600 초 동안 모니터링되었다. 차후에, 10 mM 글리신 pH 1.5를 60 초 동안 또는 3 M $MgCl_2$를 30 초 동안 주입함으로써 표면이 재생되었다. 완충액 주입으로부터 획득된 반응을 차감함으로써, 벌크 굴절률 차이가 교정되었다. 모든 실험이 PBS-T (10 mM Na2HPO4, 1 mM KH2PO4, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl pH 7,4, 0.05% Tween-20)를 이용하여 25℃에서 수행되었다. 파생된 곡선이 BIAevaluation 소프트웨어를 이용하여 1:1 랭뮤어 결합 모형에 적합되었다. 모든 실험이 PBS-T (10 mM Na_2HPO_4, 1 mM KH_2PO_4, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl pH 7,4, 0.05% Tween-20)를 이용하여 25℃에서 수행되었다.

[0487] 이에 더하여, VDPF-2xCD44의 HA와의 상호작용이 등온 적정 열량측정법 (ITC)에 의해 검사되었다. 간단히 말하면, Fab-CD44 융합이 PBS (10 mM Na_2HPO_4, 1 mM KH_2PO_4, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl pH 7,4)에 대해 투석되었다. 투석 후, 임의의 완충액 관련된 불일치를 방지하기 위해, 모든 분자가 정확하게 동일한 완충액 조건에 있도록 남아있는 완충액이 HA를 용해시키는 데 이용되었다. HA 분자가 각각, 10 μM (10 kDa HA) 또는 2 μM (50 kDa HA)의 농도로 샘플 셀 내로 부하되었다. 참조 셀은 탈이온수가 부하되었다. 주입기가 150 μM의 농도로 Fab-CD44 융합으로 채워졌다. 적정 실험이 25℃에서 수행되었다. 친화성 상수 K뿐만 아니라 화학량론 N이 Origin 7.0 (OriginLab Corporation)에서 한 세트의 사이트 모형을 이용하여 계산되었다.

[0488] 유사하게, 이들 실험을 위해 TSG6 (20 μM)이 열량측정 셀에 배치되고 주입기에서 HA (50 μM)로 적정된다는 점

을 제외하고, ITC가 TSG6의 10 kDa HA와의 상호작용을 계측하는 데 이용되었다 (표 4). PBS를 내포하는 용액이 앞서 설명된 바와 같이 제조되었고, 그리고 계측의 온도가 25℃ 또는 37℃이었다. 이들 계측은 Auto PEAQ ITC 기기 (Malvern Instruments)에서 수행되었다. 데이터 분석은 N이 1.0에서 고정되어 유지되고 HA 농도 및 친화성 상수 K가 변수 파라미터이라는 점을 제외하고, 선행 단락에서 설명된 바와 동일하였다.

[0489] **B. 결과**

[0490] Fab-CD44 및 Fab-TSG6에 의한 HA 결합에 대한 SPR에 의한 K_D는 표 3에서 도시된다.

표 3

[0491]

표 3: Fab-CD44 및 Fab-TSG6 분자 사이에 HA와의 상호작용 (SPR).

서열 번호	분자	K_D [μM]
5, 6	VPDF-1xCD44	>10
7, 8	VPDF-2xCD44	~ 0.6
25, 26	VPDF-2xCD44-ko	결합 없음
11, 12	Dig-2xCD44	~ 0.6
17, 18	G6.31-1xTSG6	1.5
19, 20	G6.31-2xTSG6	0.01
23, 24	VPDF-1xTSG6 (Lava12)	1.5
4	TSG6	0.9
13, 14	RabFab-1xTSG6	1.6
15, 16	RabFab-2xTSG6	0.09
21, 22	NVS24-1xTSG6 (Lava12)	1.2

[0492] 상호작용의 강도는 HABD 서열에 의해서뿐만 아니라 상호작용의 결합능에 의해 결정된다 (다시 말하면, 2x-버전은 HA에 탐욕적 결합을 통해 더 높은 기능적 친화성을 보여준다).

[0493] ITC 분석 (표 4)은 10 kDa HA 사슬마다 8-15개 TSG6 분자의 추정 화학량론을 표시하는 400-745 μM로서 계산된 결합 부위 농도와 함께, 아래에 도시된 HA 친화성을 산출하였다. 셀에서 50 μM VPDF-2xCD44 및 주입기에서 150 μM 10 kDa HA를 이용한 유사한 실험이 25 μM의 K_D 및 10 kDa HA 사슬마다 4.5 VPDF-2xCD44의 겉보기 화학량론을 산출하였다. CD44의 더 약한 HA 결합 친화성은 더 높은 농도가 ITC 실험에 이용될 것을 요구하였다. 2xCD44 융합의 이가 HA 결합 성격, 그리고 TSG6과 비교하여 CD44의 더 높은 분자량으로부터 예상된 대로, 10 kDa에 대한 결합 화학량론이 2xCD44에 비하여 1xTSG6에 대해 2-3배 더 크다. 상호작용의 강도는 HABD 서열에 의해서뿐만 아니라 상호작용의 결합능에 의해 결정된다 (다시 말하면, 2x-버전은 HA에 탐욕적 결합을 통해 더 높은 기능적 친화성을 보여준다).

표 4

[0494]

표 4: Fab-CD44 및 Fab-TSG6 분자 사이에 HA와의 상호작용 (ITC).

서열 번호	분자	HA	K_D [μM]	추정 화학량론
7, 8	VPDF-2xCD44	10 kDa	2.2-5	1.5
7, 8	VPDF-2xCD44	50 kDa	0.7	5
4	TSG6	10 kDa	9.2 (온도 = 25℃)	14.9
13, 14	RabFab-1xTSG6	10 kDa	17.7 (온도 = 25℃)	12.3
13, 14	RabFab-1xTSG6	10 kDa	7.9 (온도 = 37℃)	8.2
7, 8	VPDF-2xCD44	10 kDa	25.0 (온도 = 37℃)	4.5

[0495] 상호작용의 화학량론의 관점에서, 우리는 평균적으로, 10 kDa HA 분자당 1.5 VPDF-2xCD44가 결합될 수 있는 반면, 50 kDa HA 분자당 5 VPDF-2xCD44가 결합될 수 있다는 것을 발견하였다.

[0496] SPR 계측에 따르면, VPDF-2xCD44는 VEGF 및 PDGF 리간드 둘 모두에 동시에 결합할 수 있었다. VPDF-2xCD44에 VEGF 및 PDGF의 결합이, 변형되지 않은 VPDF에 그들의 결합과 비교되었다. 간단히 말하면, PDGF가 표준 결합 화학을 이용하여 Series S Sensor 칩 CM5 (GE Healthcare)에 결합되어 대략 4000 공명 단위 (RU)의 표면 밀도가 생성되었다. VPDF-2xCD44 융합뿐만 아니라 변형되지 않은 VPDF 대조를 각각 3 μg/mL의 농도로 주입한 후, 양쪽 리간드 PDGF 및 VEGF에 대한 이들 Fab의 동시 결합을 증명하기 위해 VEGF가 5 μg/mL의 농도로 주입되었다. 차후에, 10 mM 글리신 pH 2.0을 60 초 동안 주입함으로써 표면이 재생되었다. SPR 계측은 VPDF Fab 단편 중쇄의 C 말단에 HABD의 융합이 이들 리간드의 표적 단백질과의 상호작용을 교란하지 않는다는 것을 확증하였다.

[0497] **실시예 2.2. Fab-HABD의 안정성**

[0498] 눈에서 지속성 전달을 위한 Fab-HABD의 이용은 수개월에 걸친 규모로 체온에서 단백질 안정성을 필요로 한다. 이것에 대한 필요조건은 37℃보다 높은, Fab-HABD의 열 안정성이다.

[0499] **A. 재료와 방법**

[0500] VPDF-2xCD44 및 TSG6의 열 안정성이 정적 광 산란 및 단백질 자가형광에 의해 검사되었다. 샘플이 대략 1 mg/mL로 희석되고, 그리고 Optim 기기 (Avacta Inc.)를 이용하여 0.1℃/분의 열 발생률로 25℃에서 80℃로 온도 램프를 거쳤다. 광 산란 및 형광 데이터가 이러한 과정 동안 266 nm 레이저로 방사선조사 시에 기록되었다. 산란 강도가 증가하는, 대략 75℃의 온도로서 규정된 응집 개시가 결정되었다. 그와 동시에, 형광 방출 스펙트럼이 기록되었다.

[0501] VPDF-CD44의 경우에, 형광 스펙트럼의 질량중심 평균이 온도와 대비하여 플로팅될 때, 대략 56℃ 및 79℃에서 2개의 전이가 계측되었다. 이들 전이는 단백질, 아마도 Fab 및 CD44 도메인의 변성을 표시한다. 열 풀림에 관련된 임의의 산란 또는 스펙트럼 변화는 따라서 >>37℃인데, 이것은 이러한 Fab-HABD의 우수한 안정성을 표시한다.

[0502] **B. 결과**

[0503] VPDF-2xCD44의 경우에 56 ℃에서 및 79 ℃에서 2개의 전이가 계측되었다. 이들 2개의 T_m은 VPDF-2xCD44의 변성에서 전이를 표시하는데, CD44 도메인은 56 ℃에서 변성되고 Fab는 79 ℃에서 변성된다.

[0504] TSG6의 경우에, 관찰된 $T_{m\ 개시}$가 35℃인 것으로 계측되었고 43℃의 T_m이 계측되었다.

[0505] **실시예 3. 쥐 레이저 맥락막 혈관신생 (CNV)에서 생체내 효능**

[0506] **A. 재료와 방법**

[0507] Fab-HABD가 아래의 가정을 검증하기 위해, 레이저 유발 맥락막 혈관신생 (쥐 레이저 CNV)의 생체내 쥐 모형에서 연구되었다: (1) Fab-HABD가 IVT HA에 결합에도 불구하고 생체내에서 유효하다 (다시 말하면, Fab-HABD가 혈관

신생을 저해할 수 있다); 그리고 (2) Fab-HABD가 개별 변형되지 않은 Fab 단편과 비교하여 더 길게 지속되는 생체내 효능을 갖는다.

[0508] 이를 위해, 레이저 손상 (한쪽 눈당 6번의 레이저 화상) 1 주 또는 3 주 전에 단백질 제제의 IVT 주사가 쥐에게 제공되었다. 레이저 손상을 세팅하고 1 주 후에, 병변이 형광 혈관조영술 (FA) 영상화로 혈관 성장에 대해 분석되었다.

[0509] Fab-HABD가 개별 변형되지 않은 Fab 단편과 비교되었다. Fab-HABD의 길게 지속되는 효능의 검출을 위해, 쥐 모형의 동일한 용량 및 지속 기간에서 Fab-HABD에 대한 더 길게 지속되는 효능을 증명하기 위해 변형되지 않은 Fab의 용량이 "최소 효과 용량" (다시 말하면, 상기 모형의 지속 기간 내에 운반제와 비교하여 혈관신생의 단지 낮은 검출가능 저해)으로 적정되었다.

[0510] **B. 결과**

[0511] 모든 검사된 Fab-HABD는 생체내에서 혈관신생의 저해를 보여주었다 (표 5). 이것은 비록 Fab-HABD가 유리체에서 HA에 결합되긴 했지만, 이들이 유관한 조직에 도달하여 약리학적 효과를 발휘한다는 것을 증명한다.

표 5

[0512] 표 5: 쥐 레이저 CNV에서 생체내 효능.

서열 번호	분자	용량	% 저해 CNV, 1 주 모형	% 저해 CNV, 3 주 모형
해당 없음	운반제	-	0	0
101, 102	VPDF (변형되지 않음)	0.01 μg	44	34
5, 6	VPDF-1xCD44	0.01 μg	84	82
7, 8	VPDF-2xCD44 + 10 kDa HA*	0.01 μg	72	81
23, 24	VPDF-1xTSG6 (Lava12)	0.01 μg	해당 없음	69

*10 kDa HA에 전복합화된 VPDF-2xCD44가 검사되었다

[0513] 모든 검사된 Fab-HABD는 동일한 모형 셋업 내에 동일한 용량에서 개별 변형되지 않은 Fab 단편과 비교하여 약리학적 효과의 더 긴 지속 기간을 보여주었다 (표 5). 이것은 IVT HA에 결합하는 능력이 생체내에서 약리학적 효과를 연장할 수 있다는 것을 증명한다.

[0514] 이러한 생체내 모형의 분해능은 HA를 향한 친화성에서 유의미한 차이에도 불구하고, 상이한 분자에 대한 효능의 지속성의 차별화를 허용하지 않았다. 이러한 모형에서 적용된 낮은 비치료적 용량에서, 어떤 내약성 문제도 검출되지 않았다. Fab-HABD의 용량을 제공받은 쥐의 모든 눈은 장애의 징후 없이 완전히 정상적이었고, 그리고 단지 생전 단계 동안만 완충액이 제공된 눈과 비슷하였다.

[0515] **실시예 4.**

[0516] **RabFab, RabFab-1xTSG6 및 RabFab-2xTSG6을 이용한 토끼 약물동력학적 (PK) 연구**

[0517] **A. 재료와 방법**

[0518] 동물 연구를 위한 단백질이 투석을 통해 20 mM 히스티딘 아세트산염, 150 mM NaCl, pH 5.5, 또는 인산염 완충된 식염수 (PBS), pH 7.4 중 어느 하나에서 제제화되었다. 제제는 어는점 내림법에 의해 계측된, 300 및 340 mOsm/kg 사이의 삼투질농도로 등장성이었다. 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의한 분석은 모든 단백질이 이들 제제에서 ≥ 95% 단량체성이라는 것을 암시하였다. 내독소 수준이 최종 투약 농도에서 한쪽 눈당 0.1 EU 미만인 것으로 사정되었다.

[0519] 유리체 반감기 연구를 위해, 추가의 약물동력학적 연구가 수행되었는데, 여기서 암컷 토끼의 양쪽 눈에 ITV 주사에 의해 50 μL의 총 용적에서 0.05 (n=2), 0.15 (n=2) 및 2.5 (n=4) mg/눈의 용량으로 대조 물품 (PBS,

n=1), 0.15 mg/눈 AlexaFluor-488 표지화된 RabFab (n=2) 또는 AlexaFluor-488 (AF-488) 표지화된 RabFab-2xTSG6이 투여되었다. 유리체 및 방수에서 검사 물품 농도가 기존 문헌에서 설명된 바와 같이, 형광광도측정을 이용하여 특정된 시점에서 계측되었다. Dickmann, L.J. et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 56(11): 6991-6999 (2015). 농도 시간 프로필이 Phoenix WinNonlin (Certara Inc., Mountain View, CA)을 이용한 비구획 분석을 이용하여 약물동력학적 파라미터를 추정하는 데 이용되었다. 형광 광도 접근방식을 이용하여 생성된 농도 시간 프로필의 경우에, 아마도 투여 부위에서 개체간 변이 및 유리체를 통한 검사 물품의 후속 확산에 기인한 높은 가변성으로 인해, 투약후 첫 48 시간 이내에 샘플링이 PK 분석으로부터 배제되었다. Dickmann, L.J. et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 56(11): 6991-6999 (2015). PK 분석이, 청소율 (CL)이 CL = 용량/AUC로서 계산된 비구획 분석을 이용하여 수행되었는데, 여기서 용량은 알려져 있고 AUC는 선형 사다리꼴 방법을 이용하여 계측된다. 항정 상태에서 분포 용적이 청소율 값 및 종말 단계의 기울기로부터 획득된 제거 속도 상수를 이용하여, V = CL/kel로서 계산되었다. 제거 반감기는 t1/2 = ln(2)/kel로서 계산되었다.

[0520] **B. 결과**

[0521] 안구 체류 시간에 영향을 주는, HA 결합의 능력이 뉴질랜드 백색 토끼에서 약물동력학적 (PK) 실험을 이용하여 초기에 조사되었다. 비록 토끼 유리체의 HA 농도 (~65 μg/mL)가 인간 유리체 (100-400 μg/mL), 또는 다른 전임상 종 예컨대 돼지 (유리체 HA ~180 μg/mL) 또는 시노몰구스 원숭이 (유리체 HA ~150 μg/mL)보다 훨씬 낮긴 하지만, 검사 물품의 IVT 투약 이후에 초기 PK 연구를 위해 토끼가 종종 이용된다. 0.3 mg/눈의 RabFab, 0.3 mg/눈의 RabFab-1xTSG6, 또는 0.5 mg/눈의 RabFab-2xTSG6의 IVT 주사를 이용하도록 연구가 설계되었다. 탈체에서 유리체액에 첨가된 단백질을 이용한 회수율 실험은 RabFab 및 RabFab-1xTSG6이 기존 문헌 (Shatz et al., 2016 Molecular Pharmaceutics)에서 설명된 바와 같이 항-이디오타입 검출 항체를 이용한 ELISA를 이용하여 정량될 수 있다는 것을 암시하였다. 하지만, ELISA에 의해 RabFab-2xTSG6으로 획득된 회수율이 불량하여, 이러한 물질에 대해 유리체 농도의 방사화학적 결정이 이용되었다. PK 연구를 위해, RabFab-2xTSG6이 ^{125}요오드로 방사성표지화되었다.

[0522] 도 2a에서 도시된 바와 같이, 표 6에서 요약된 PK 파라미터로, RabFab-1xTSG6 및 RabFab-2xTSG6 둘 모두 자유 RabFab와 비교하여 더 긴 유리체 체류 시간을 보여주었다. RabFab-1xTSG6은 RabFab보다 1.4배 긴 반감기를 나타냈고, 반면 RabFab-2xTSG6의 경우에는 반감기의 증가가 2.2배이었다. 이들 결과는 HABD에 Fab의 융합이 안구 구획에서 이들 분자의 체류 시간을 증가시킬 수 있다는 것을 증명한다. 다른 종에서 더 높은 유리체 HA 농도를 고려할 때, Fab-HABD를 이용하면 이들 동물에서 훨씬 큰 반감기 연장이 획득될 것으로 예상된다.

표 6

[0523]

표 6: 토끼 PK 연구 파라미터.

서열 번호	검사 물품	$t_{1/2}$ (일)	CL (mL/일)
15, 16	RabFab-2xTSG6	7.1	0.15
13, 14	RabFab-1xTSG6	4.3	0.19
61, 62	RabFab	3.1	0.28

[0524] 게다가, 유리체 반감기 연구는 형광광도측정에 의해 관찰된 바와 같이 RabFab와 비교하여 RabFab-2xTSG6의 유리체 반감기에서 ~3 내지 4배 증가가 있으며, 평가된 범위에 걸쳐 용량에 대한 의존성이 명백하게 없다는 것을 보여주었다 (도 2b); 하지만, 21-일 연구 지속 기간은 약물동력학적 파라미터의 신뢰성 있는 결정을 내리기에는 충분히 길지 않았으며, 투여된 RabFab-2xTSG6 중 대략 40%만 연구의 종료 시점에 유리체 내에 남아있을 것으로 추정되었다.

[0525] **실시예 5. RabFab-1xTSG6 및 자유 TSG6의 토끼 안구 내약성**

[0526] **A. 재료와 방법**

[0527] 자유 TSG6 및 RabFab-1xTSG6의 단회 ITV 용량의 독성이 뉴질랜드 백색 토끼에서 사정되었다. 4-주, 단회 IVT 용량 연구가 설계되고 (표 7) 수행되었다. 혈청에서 RabFab-1xTSG6 또는 자유 TSG6에 대한 항약물 항체 (ADA)가

ELISA에 의해 계측되었다. 평판이 RabFab-1xTSG-6 또는 자유 TSG6으로 코팅되고 연구 동물로부터 수집된 혈청과 함께 인큐베이션되었으며, 이후 항약물 항체가 HRP-접합된 염소 항토끼 Fc 항체로 검출되었다.

표 7

표 7. 토끼 안구 내약성 연구 (18-2244) 설계.

군	검사 물품	# 동물	용량 (mg/눈)	용량 용적 (μL)	사정
1	자유 TSG6 (서열 번호: 4)	4마리 (4 일째 및 30 일째에 부검을 위해 각각 2마리)	0.5	50	OE-3일 자, 8일 자, 15일 자, 22일 자, 29일 자 TK-투약전, 1일 자 (1시간, 6 시간), 2일 자, 4일 자, 8일 자, 15일 자, 22일 자, 30일 자 ADA-투약전, 4일 자, 8일 자, 15일 자, 22일 자, 30일 자 조직병리학 및 전자 현미경검사
2	RabFab-1xTSG6 (서열 번호: 13, 14)	4마리 (4 일째 및 30 일째에 부검을 위해 각각 2마리)	2.0	50	

OE= 안과 검사; TK=독성역학; ADA=항약물 항체

[0528]

[0529] B. 결과

[0530] 일반적으로, RabFab-1xTSG-6을 제공받은 동물은 자유 TSG6이 투여된 것들보다 덜 심각한 조사 결과를 나타냈다. 자유 TSG6이 투여된 동물은 유의미한 임상적 관찰 결과를 나타냈다. 4마리 동물은 4일 자에 예정된 대로 부검되었지만, 다른 4마리 동물은 유의미한 임상적 관찰 결과 및 동물 복지에 대한 우려로 인해, 30일 자보다는 12일 자 또는 17일 자 중 어느 한 일자에 조기에 종료되었다. 이들 임상적 관찰 결과는 팽화되고 붉어진 안검과 결막, 직원이 접근할 때 눈을 계속 감고 있는 동물, 그리고 안구 염증과 자극을 포함하였다. 투약후 3일째까지, 자유 TSG6이 투여된 동물은 망막 변성을 완결하는 수정체 및 외면의 현미경적 조사 결과와 상관된 현저한 후방 초기 백내장 및 가변적 망막 혈관 약화를 나타냈다. 유사하지만 덜 심각한 조사 결과가 RabFab-1xTSG6이 투약된 동물에서 나타났다. 현저한, 지배적으로 단핵 세포 염증이 투약후 7 일째부터 모든 동물에서 확인되었다. 염증 및 망막 변성이 망막 박리와 비대, 그리고 비멘틴, 신경교 섬유질 산성 단백질 (GFAP) 및 글루타민 합성효소 양성 뮐러 세포의 말초 이주의 증거와 다초점성으로 연관되었다. TSG6의 IVT 투약 이후에 4 일째에 망막 변성을 보여주는 조직병리학 이미지가 도 3에서 도시된다.

[0531] RabFab-1xTSG6이 투여되고 4일 자에 부검이 진행된 양쪽 동물은 4일 자에 혈청 내에 존재하는 항약물 항체 (ADA)의 증거가 있었다. 하지만, 이들 동물 중에서 1마리는 투약전 ADA를 나타냈고, 반면 이러한 치료군에서 나머지 3마리 동물은 투약전 ADA를 나타내지 않았다. 추후 부검이 진행된 이러한 군의 동물들은 4일 자 및 8일 자에는 혈청 ADA에 대해서 음성이지만, 15일 자에는 ADA 양성이 되었다. 자유 TSG6으로 처리된 동물에 대한 혈청 ADA 반응의 분석은 검정의 불량한 민감도로 인해, 결론에 이르지 못하였다.

[0532] 일반적으로, RabFab-1xTSG6을 제공받은 동물은 자유 TSG6이 투여된 것들보다 덜 심각한 조사 결과를 나타냈다 (표 8). 백내장이 각 동물에 존재하지만 이들 백내장은 성격에서 점상이었고, 그리고 현미경적 절편에서 연관성이 확인되지 않았다. 망막 변성의 임상적 증거는 없었지만, 최소 내지 경등도 외망막 변성의 현미경적 증거가 개별 눈에 존재하였다. 유사한 중등도 내지 중증 유리체와 방수 세포가 8일 자부터 계속해서 존재하였다. 이들 동물은 4일 자 및 17일 자에 안락사되었다.

표 8

표 8. 양측으로 2mg/눈 RabFab-TSG6 또는 0.5 mg/눈 자유 TSG6이 투여된 동물에서 현미경적 병변.

동물	4일 자				연구의 종료			
	자유 TSG6		RabFab-1xTSG6		자유 TSG6		RabFab-1xTSG6	
	1	2	5	6	3	4	7	8
망막 변성 (OD/OS)	2/4	2/4	0/1	2/0	2/3	4/2	2/2	1/1
수정체 변성 (OD/OS)	0/2	2/2	0/0	0/0	0/0	3/0	0/0	0/0
염증 (OD/OS)	2/1	1/1	0/1	1/1	1/1	3/2	3/3	1/1
각 병변은 5-포인트 척도 (1-최소 내지 5-중증)에서 등급 분류되었다.								

[0533]

[0534] 항-RabFab 반응의 사정이 투약에 앞서, 3/8마리 동물 (자유 TSG6이 투여된 2마리 동물 및 RabFab-1xTSG6이 투여된 1마리 동물)에 대한 컷오프를 초과하는 값의 존재에 의해 복잡해졌다. 하지만, 검사 항목의 투여 이후에, RabFab-1xTSG6이 투여된 3/4마리 동물은 신생 또는 증가하는 ADA 역가를 가졌고: 1마리 동물은 4일 자에 안락사되었고, 그리고 양쪽 동물은 17일 자에 안락사되었다. 대조적으로, 자유 TSG6이 투여된 동물 1 (4일 자 부검)만 투약전과 비교하여 상승된 ADA 역가를 가졌다.

[0535] 임상 징후의 조기 발생 및 현미경적 병변은 망막과 수정체 변성에서 TSG6에 대한 직접적인 역할을 암시한다; 하지만, 후속 시점에서 조사 결과는 예상치 않게 활발한 ADA 반응에 의해 혼란스러워졌다. 뮐러 세포의 말초 이주는 망막에 대한 손상 또는 망막의 박리 이후에 토끼 망막의 비특이적 반응인 것으로 결론되었다.

[0536] **실시예 6. 미니 돼지에서 치료 용량의 약물동력학 (PK)**

[0537] 본 연구의 목표는 미니 돼지에게 IVT 주사 (IVT)에 의해 1회 투여된 Fab-HABD 및 Fab-HABD-HA의 안구와 전신 PK 파라미터, 그리고 그 결과로 나타난 안구 반감기 ($t_{1/2}$)의 연장을 결정하는 것이었다. 이에 더하여, 항약물 항체 (ADA), 안구 내약성, 그리고 안구 병리 (일부 연구 개체에서)의 조사가 수행되었다.

[0538] **A. 재료와 방법**

[0539] 14마리의 괴팅겐 SPF 미니 돼지의 양쪽 눈에 다음 검사 항목의 치료 용량 (50 μL/눈)이 제공되었다 (표 9).

표 9

표 9. 미니 돼지 약물동력학 (PK) 연구.

검사 항목	VPDF (변형되지 않음)	VPDF-2xCD44 (서열 번호: 7, 8)	VPDF-2xCD44 (서열 번호: 7, 8) + 10 kDa HA
동물 숫자	4	5	5
단백질 용량 [μg/눈]	500	871.5	871.5
용량 [nmol/눈]	10.5	10.5	10.5
용량 용적 [μl/눈]	50	50	50
단백질 농도 [mg/mL]	10	17.4	17.4
눈의 총합	8	10	10

[0540]

[0541] IVT 투약 후, 검사 항목 투약된 동물의 혈액과 방수 샘플이 연구의 지속 기간 내내 (9 주까지) 주기적으로 수집되었고, 그리고 검사 항목의 전신과 안구 PK를 추적하기 위해, 유리체액이 예정된 안락사 직후에 수확되었다. 혈장, 방수 및 유리체액이 검사 항목 농도에 대해 분석되었고, 혈장과 유리체 샘플이 ADA의 존재에 대해 더욱 분석되었다.

[0542] B. 연구의 생전 단계 동안 결과인, VPDF-2xCD44를 제공받은 5마리 동물 중 주로 2마리의 눈과 관련된 육안적 조사 결과는 본 검사 항목의 IVT 주사가 돼지 눈에 내약성이 아니어서 이들 동물의 조기 희생을 야기한다는 것을 증명하였다. 동물마다 하나의 눈이 조직병리학적 평가를 위해 제공되었다. 간단히 말하면, 이런 육안적 조사 결과는 혼탁상 유리체, 유리체의 정상보다 낮은 점도, 그리고 최종적으로 시력 상실의 행동 징후이었다. 눈에서 조직병리학적 검사 결과는 홍채, 섬모체, 섬유주대 및 망막에서 혈관주위/혈관, 지배적으로 단핵 세포 침윤을 동반한 중등도 혼합 세포 염증으로 구성되었다. 망막 변성은 변성된 신경절 세포, INL에서 세포의 손실, 응집된 광수용기, 그리고 PR 층에서 변위된 핵으로 구성되었다. 게다가, 혼합 세포 침윤 및 섬유성 가닥을 동반한 호산성 단백질성 물질이 유리체에서 관찰되었다. 시신경에서는 발견된 것이 없었다.

[0543] VPDF-2xCD44 + 10 kDa HA를 제공받은 5마리 동물 중 적어도 1마리의 눈과 관련된 육안적 조사 결과는 VPDF-2xCD44와 비교하여 훨씬 덜 심각하였다. 간단히 말하면 각막 뒤에 저장소를 만들지만 조기 종료에는 고려되지 않은, 양쪽 눈의 전방에서 발적/흰색 베일에 주목한다.

[0544] 결론적으로, VPDF-2xCD44의 HA와의 복합화 (다시 말하면, IVT 주사 전 HA로 CD44 HA 결합 부위의 점유)는 VPDF-2xCD44의 안구 내약성을 향상시켰다.

[0545] 변형되지 않은 VPDF을 제공받은 동물의 군에서는 어떤 육안적 조사 결과 또는 내약성 문제도 발견되지 않았다.

[0546] 검사 항목 VPDF-2xCD44 및 VPDF-2xCD44 + 10 kDa HA에 대한 PK 결과는 방수 및 유리체로부터 도출되었고, 비구획 분석에 의해 개별 농도 시간 데이터로부터 계산되었으며, 도 4a-b에서 그래픽적으로 제시된다.

[0547] 변형되지 않은 VPDF의 5.8 일의 IVT $t_{1/2}$는 이런 분자에 대해 예상되는 범위 안에 있는 반면, VPDF-2xCD44 + 10 kDa HA의 48 일의 IVT $t_{1/2}$는 변형되지 않은 VPDF와 비교하여 안구내 체류 시간의 ~8배 증가에 상응한다. 결론적으로, VPDF-2xCD44 + 10 kDa는 HA에 복합화되지 않은 VPDF-2xCD44와 비교하여 유의미하게 향상된 내약성 및 변형되지 않은 VPDF와 비교하여 유의미하게 향상된 안구내 반감기를 보여준다.

[0548] **실시예 7. 유리체 양립성을 위한 HA와의 전복합화**

[0549] 생체내 미니 돼지 연구로부터 육안적 조사 결과, 다시 말하면, 유리체의 혼탁은 VPDF-2xCD44의 순수한 HA와의 전복합화에 의해 축소될 수 있는, VPDF-2xCD44의 돼지 유리체와의 비양립성 (다시 말하면, 침전물의 형성)을 암시한다. 이들 효과를 더욱 조사하고 이들 관찰 결과가 VPDF-2xCD44 분자에 한정되는지 또는 다른 Fab-HABD에 대해서도 검출될 수 있는지를 검사하기 위해, 우리는 유리체 변성을 검출하기 위한 탈체 검사 시스템을 개발하였

다.

[0550] HA와 전복합화될 때 여러 Fab-HABD의 유리체 양립성을 사정하기 위한 시험관내 "비말" 검사가 개발되었다. 본 실시예에서는 HA와 전복합화된 Fab-HABD (다시 말하면, 접합체)가 시험관내 실험에서 유리체와 양립하였다는 것을 예증한다. 이전에 관찰된 유리체 비양립성은 자유 HABD에 의해 유발될 수 있었는데, 이것은 HA 전복합화에 의해 경감되었다. Fab-HABD의 자유 HABD와의 비양립성은 농도 의존성인 것으로 밝혀졌다. 추가적으로, HA 결합을 상실시키는 점 돌연변이를 포함하는 Fab-HABD 돌연변이체인 CD44ko는 전복합화된 형태 및 단리된 형태 둘 모두에서 유리체와 양립하였다.

[0551] **실시예 7.1. VPDF-2xCD44의 10 kDa HA와의 전복합화는 유리체내 (IVT) 내약성을 향상시킨다**

[0552] **A. 재료와 방법**

[0553] 첫 번째 검사에서, 돼지 유리체가 Dounce 균질기에서 10x 균질화되고 2 분 동안 10,000 g로 원심분리에 의해 조직파편으로부터 청소되었다. 균질화된 유리체의 2-μl 비말이 이후, 유리 현미경 슬라이드 위에 적용되었다. 이에 더하여, 2 μl의 검사 샘플 (다시 말하면, 규정된 농도에서 Fab-HABD 또는 Fab-HABD-HA)이 추가 혼합 없이, 유리체 방울의 위에 첨가되었다. 이들 방울의 병합 후 대략 1 분 시점에, 샘플이 명시야 방식으로 40배 배율에서 광학 검경에 의해, 불균질성 및 침전에 대해 조사되었다.

[0554] **B. 결과**

[0555] 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0에서 200 mg/mL 농도의 변형되지 않은 VPDF와 혼합된 돼지 유리체는 균질하고 투명한 반면 (도 5a), 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0에서 20 mg/mL 농도의 VPDF-2xCD44와 혼합된 돼지 유리체는 불균질하고 침전의 명백한 징후를 보여준다 (도 5b).

[0556] 이러한 결과는 생체내에서 IVT 주사 시에도 VPDF-2xCD44의 돼지 유리체와의 비양립성을 암시한다. 따라서, 유리체 비양립성은 VPDF-2xCD44에 대해 목격된 생체내 내약성 문제의 잠재적인 근본 원인 중 하나이다.

[0557] 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0에서 20 mg/mL 농도의 VPDF-2xCD44의 1% (w/v) HA (10 kDa, Lifecore, Biomedical)와의 전복합화는 유리체 양립성을 야기한다 (도 5c). 이러한 결과는 전술된 미니 돼지 생체내 연구로부터 조사 결과를 반영하는데, 여기서 VPDF-2xCD44의 10 kDa HA와의 전복합화가 IVT 내약성을 향상시키는 것으로 밝혀졌다.

[0558] **실시예 7.2. VPDF-2xCD44의 유리체 비양립성은 농도에 의존한다**

[0559] **A. 재료와 방법**

[0560] VPDF-2xCD44의 유리체 비양립성의 농도 의존성을 검사하기 위해, 2 μl의 돼지 유리체가 37.5 mg/mL의 시작 농도로 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0에서 VPDF-2xCD44의 1:4 희석액과 혼합되었다. 유리체 및 단백질의 혼합물이 광학 검경에 의해 유리체 불균질성에 대해 조사되었다.

[0561] **B. 결과**

[0562] 검출된 불균질성은 단백질 농도에 의존하였다 (표 10; 도 6a-f). VPDF-2xCD44의 유리체 양립성은 0.6 내지 0.15 mg/mL 사이에서 도달되었다. 이들 결과를 전술된 생체내 미니 돼지 연구에서 조사 결과 (VPDF-2xCD44의 농도 = 17.4 mg/mL)와 관련시키는 것은 17.4 mg/mL 농도의 VPDF-2xCD44 용액의 IVT 주사가, 관찰된 내약성 문제에 대한 근본 원인일지도 모르는 유사한 불균질성을 야기할 수도 있다는 것을 암시한다.

표 10

표 10. VPDF-2xCD44 (서열 번호: 7, 8)의 유리체 비양립성의 농도 의존성.

VPDF-2xCD44 농도 [mg/mL]	37.5	9.4	2.4	0.6	0.15	0.04
유리체 불균질성	+++	+++	++	+	-	-

+++ 강함 / ++ 중간 / + 약함 / - 투명

[0563]

[0564] **실시예 7.3. VPDF-2xCD44의 유리체 비양립성은 그의 유리체내 (IVT) HA와의 상호작용에 관계한다**

[0565] **A. 재료와 방법**

[0566] VPDF-2xCD44의 유리체 비양립성이 VPDF-2xCD44의 IVT HA와의 상호작용에 의해 유발되는지를 검사하기 위해, 우리는 단백질의 나머지 부분을 무손상 상태로 남겨두면서, HA에 결합을 전폐하는 CD44의 HA 결합 부위 내에 점 돌연변이를 내포하는 이러한 분자의 변이체 (VPDF-2xCD44-ko) (본원에서 "ko 변이체"로 명명됨)를 설계하였다.

[0567] **B. 결과**

[0568] CD44ko 변이체는 일시적인 발현, 정제 및 생물물리학적 특징 (분석적 크기 배제, 변성 SDS 모세관 전기이동)에서 동일한 행동을 보여주었고, 그리고 그의 동일성이 질량 분광분석에 의해 확증되었다. HA 결합 부위 돌연변이의 도입은 SPR (실시예 2의 경우에서와 동일한 방법으로 검사됨)에 의해 밝혀진 바와 같이, 친화성의 완전한 손실을 야기하였다.

[0569] 이러한 VPDF-2xCD44-ko 변이체가 2x VPDF와 동일한 농도에서 상기 실시예 7.2에서 설명된 바와 같이 유리체 양립성에 대해 검사될 때, 어떤 유리체 불균질성도 검출되지 않았는데, 이것은 유리체 양립성을 암시한다 (표 11).

표 11

[0570]

표 11. VPDF-2xCD44 및 상응하는 녹아웃 변이체의 유리체 양립성.

분자	VPDF-2xCD44 (서열 번호: 7, 8)	VPDF-2xCD44ko (서열 번호: 25, 26)
농도 [mg/mL]	20	20
유리체 불균질성	+++	-

++ 강함 / ++ 중간 / + 약함 / - 투명

[0571] **실시예 7.4. VPDF-2xCD44는 히알루론산분해효소로 전처리 후 유리체와 양립한다**

[0572] **A. 재료와 방법**

[0573] 추가적으로, 우리는 HA를 분해하기 위해 히알루론산분해효소로 전처리된 돼지 유리체에서 VPDF-2xCD44의 유리체 양립성을 검사하였다. 이를 위해, 돼지 고환으로부터 획득된 히알루론산분해효소 (Sigma)가 PBS에서 2 mg/mL (>1.5 U/μL)로 용해되었다. 1 μL의 이러한 히알루론산분해효소 용액이 50 μL 돼지 유리체에 첨가되고 37 ℃에서 2 시간 동안 인큐베이션되었다. 대조 샘플은 PBS 완충액으로만 처리되었다.

[0574] **B. 결과**

[0575] 결과로써, VPDF-2xCD44는 아마도 고분자량 HA의 분해로 인해, 히알루론산분해효소로 전처리된 유리체와 혼합될 때 20 mg/mL의 농도에서 불균질성을 보여주지 않았다.

[0576] 요약하면 이들 결과는 VPDF-2xCD44의 생체내 내약성 문제에 대한 근본 원인일 수 있는 유리체 비양립성이 CD44-HABD의 고분자량 IVT HA와의 상호작용에 관계한다는 것을 암시한다.

[0577] **실시예 7.5. Fab-HABD의 유리체 비양립성은 일정한 농도에서 HABD의 유리체 HA와의 상호작용에 관계한다**

[0578] **A. 재료와 방법**

[0579] 유리체 비양립성이 단지 VPDF-2xCD44만의 특질인지를 검사하기 위해, 우리는 상기 실시예 7.2 및 7.3에서 전술된 바와 같이, 유리체 불균질성에 대해 다른 Fab-HABD 또는 HABD 단독을 검사하였다. 검사된 단백질은 실시예 1에서 설명된다.

[0580] **B. 결과**

[0581] VPDF-1xCD44는 VPDF-2xCD44와 비교하여 비슷한 유리체 불균질성을 보여주었다. 이들 결과는 2x 버전에 의한 HA-중합체의 결합능 및 잠재적인 교차연결에서 증가가 유리체 비양립성에 관련되지 않는다는 것을 암시한다. 이들

결과는 CD44 HABD 사이에 IVT HA와의 상호작용이 유리체 비양립성에 관련된다는 것을 암시한다 (표 12).

표 12

표 12. VPDF-1xCD44와 비교하여 HABD TSG6을 포함하는 표시된 분자의 유리체 양립성.

분자	VPDF-1xCD44	G6.31	G6.31-1xTSG6	G6.31-2xTSG6	NVS24-1xTSG6 (Lava12)	TSG6
서열 번호	5, 6	103, 104	17, 18	19, 20	21, 22	4
농도 [mg/mL]	20	5	5	2.3	5	5
유리체 불균질성	+++	-	++	++	++	++

++ 강함 / ++ 중간 / + 약함 / - 투명

[0582]

[0583] TSG6 도메인을 갖는 Fab-HABD는 CD44를 갖는 Fab-HABD와 비슷한 유리체 불균질성을 보여준다. Fab 성분 G6.31은 동일한 농도에서 유리체 불균질성을 보여주지 않는 반면, 단리 상태의 TSG6-도메인은 그러하였다. 이것은 유리체 비양립성이 일정한 농도에서 HABD 및 유리체 HA 사이의 상호작용에 관련된다는 암시를 다시 한 번 뒷받침한다.

[0584] **실시예 7.6. 유리체 비양립성은 HA와의 전복합화에 의해 구조될 수 있다**

[0585] **A. 재료와 방법**

[0586] VPDF-1xCD44 및 TSG6-변이체에 대해 검출된 유리체 비양립성이 HA와의 전복합화에 의해 구조될 수 있는지를 검사하기 위해, 우리는 1 % (w/v) HA (10 kDa, Lifecore, Biomedical)로, 표 13에서 도시된 접합체를 생성하였다.

[0587] **B. 결과**

[0588] 유리체 불균질성은 10 kDa HA와의 전복합화에 의해, 검사된 모든 Fab-HABD에 대해 구조되었다 (표 13). 이들 결과는 HA 결합 단백질의 순수한 HA와의 전복합화가 이들 분자의 유리체 양립성 및 이에 따른 잠재적인 내약성 문제를 향상시키기 위한 방법일 수 있다는 것을 암시한다.

표 13

표 13. 1% HA 10 kDa와 전복합화된 TSG6 HABD를 포함하는 Fab-HABD의 유리체 양립성.

Fab-HABD + 1% HA 10 kDa	VPDF-1xCD44	G6.31Fab	G6.31-1xTSG6	G6.31-2xTSG6	NVS24-1xTSG6 (Lava12)	TSG6
서열 번호	5, 6	103, 104	17, 18	19, 20	21, 22	4
농도 [mg/mL]	20	5	5	2.3	5	5
유리체 불균질성	-	-	-	-	-	-

++ 강함 / ++ 중간 / + 약함 / - 투명

[0589]

[0590] **실시예 7.7. Fab-HABD의 유리체 비양립성은 돼지 유리체에 특이적이지 않다**

[0591] **A. 재료와 방법**

[0592] CD44 및 TSG6 내포 Fab-HABD에 대해 검출된 유리체 비양립성이 돼지 유리체에서만 발생하는 효과인지를 검사하기 위해, 우리는 돼지 유리체 대신에 토끼 유리체를 이용하여 상기 실시예 7.1-7.6에서 설명된 바와 같은 양립성 검사를 수행하였다.

[0593] **B. 결과**

[0594] 모든 검사된 Fab-HABD에 대해 돼지 유리체에서와 동일한 유리체 비양립성이 검출되었다. 이에 더하여, 토끼 유리체에서 검출된 모든 유리체 비양립성이 Fab-HABD의 10 kDa HA와의 전복합화에 의해 구조될 수 있었다.

[0595] 이들 결과는 유리체 비양립성이 돼지 유리체에 특이적이지 않다는 것을 암시한다.

[0596] **실시예 7.8. 유리체 불균질성은 생체내 주사 시에 유발된다**

[0597] **A. 재료와 방법**

[0598] 탈체 유리체 양립성 검사 결과 및 생체내 미니 돼지 연구로부터 내약성 조사 결과를 연계하기 위해, 우리는 유리체 불균질성 및 HA-전복합화에 의한 구조가 전체 돼지 눈에서 검출될 수 있는지를 검사하였다.

[0599] 이를 위해, 전체 돼지 눈이 도축 직후에 접수되었고 17.4 mg/mL +/- 1% (w/v) HA 10 kDa의 농도로 20 mM 히스티딘, 140 mM NaCl, pH 6.0에서 50 μl의 VPDF-2xCD44 용액이 주사되었다. 눈 (전술된 생체내 미니 돼지 연구에서와 동일). 눈은 이후 HBSS (Lonza, Biowhittaker)로 이전되고 37℃에서 4 시간 동안 유지되었다. 인큐베이션 후, 눈이 개방되었고, 유리체가 이전되고 불균질성에 대해 조사되었다.

[0600] **B. 결과**

[0601] 도 7a-c에서 도시된 바와 같이, 주사 시에 유리체 비양립성이 Fab-HABD의 HA와의 전복합화에 의해 해결될 수 있다. 완충액의 주사는 IVT 불균질성을 야기하지 않고 투명한 유리체를 야기하였다 (도 7a). VPDF-2xCD44의 주사는 유리체 내에 주사 부위 주변에서 조밀한 흰색 불균질성 (침전물 유사)을 야기하였다 (도 7b). 순수한 HA와 전복합화된 VPDF가 주사된 눈으로부터 획득된 유리체는 유의미한 차이를 보여주었다 (도 7c): 비록 불균질성이 검출되긴 하지만, 이것은 유리체의 전역에서 훨씬 덜 조밀하고 더 얇았다.

[0602] 이들 결과는 VPDF-2xCD44 유발 불균질성이 전체 돼지 눈에서 주사 부위 인근에서만 발생한다는 것을 암시한다. 이러한 이론에 한정됨 없이, 우리는 동일한 불균질성이 생체내에서 주사 시에 유발되고, 그리고 관찰된 내약성 문제에 대한 근본 원인일 수도 있다는 것을 제안한다.

[0603] 추가적으로, VPDF-2xCD44의 HA와의 전복합화는 주사 부위 주변에서 관찰된 불균질성을 감소시킨다. 우리는 동일한 효과가, VPDF-2xCD44-HA에 대해 생체내에서 관찰된 향상된 내약성을 야기한다는 것을 제안한다. 유리체 비양립성이 다른 TSG6 HABD에서도 발생하고 순수한 HA로 예비 제제화에 의해 동등하게 구조될 수 있다는 실시예 7.5 및 7.6에서의 관찰 결과와 함께, 우리는 이러한 접근방식이 HABD 내포 단백질의 유리체 양립성 및 이에 따른 IVT 내약성을 향상시키는 일반적인 원리일 수 있다는 것을 제안한다.

[0604] **실시예 8. 베르시칸 VG1 및 VG1ΔIg HABD는 HA에 결합할 수 있다**

[0605] 베르시칸의 HABD가 TSG6 및 CD44 HABD의 것들보다 우수한 안구 내약성 및 안구 체류 시간을 제공하는 HABD로서 이용될 수 있는지를 결정하기 위한 연구가 수행되었다.

[0606] 베르시칸은 링크 모듈의 일렬 반복을 갖는 것으로 확인되었다. 도 8a에서 도시된 바와 같이, 베르시칸의 아미노산 서열은, 본원에서 WT VG1로 명명되는 베르시칸의 N 말단 단편이 N 말단 Ig 유사 도메인 및 2개의 링크 도메인을 포함하도록, Ig 유사 도메인, 그 이후에 2개의 링크 모듈을 인코딩한다. 본 실시예에서, 우리는 WT VG1 및 Ig 도메인이 없는 절두된 변이체, VG1ΔIg를 생성하고, 그리고 이들을 HA에 결합에 대해 검사하였다. 추가적으로, 아래의 실시예에서 WT VG1, 그리고 Fab 및 WT VG1로 구성되는 Fab-HABD가, 토끼 및 미니 돼지에 IVT 주사 시에 시험관내 유리체 양립성 및 내약성에 대해 검사되었다.

[0607] **A. 재료와 방법**

[0608] 이들 단백질에 대한 발현 플라스미드가 제한 클로닝 및/또는 표준 분자생물학 기술을 이용한 유전자 합성에 의해 생성되었다. 발현이 CHO 또는 HEK293 세포 중 어느 하나에서 수행되었다.

[0609] 상층액이 4℃에서, 20 분 동안 4,000 rpm으로 원심분리에 의해 수확되었다. 그 후에, 무세포 상층액이 0.22 μm

바틀탑-필터를 통해 여과되고 냉동기 (-20℃)에서 보관되었다.

[0610] WT VG1 및 VG1ΔIg의 His-태깅된 돌연변이체가 SEC와 함께 Ni-NTA 수지를 이용한 친화성 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상층액으로부터 정제되었다. 간단히 말하면, 무균 여과된 세포 배양 상층액이 HisTrap 수지에서 포획되고, 세척되며, 높은 이미다졸 농도를 내포하는 완충액을 이용하여 용리되었다. 용리된 단백질 분획물은 한 데 모아지고 농축되며, 이후 20 mM 히스티딘 아세트산염, 150 mM NaCl, pH 5.5를 작업 완충액으로서 이용한 SEC가 진행되었다.

[0611] HA에 WT VG1 및 VG1ΔIg의 결합이 Biacore T200 기기 (GE Healthcare)를 이용한 SPR에 의해 검사되었다. 간단히 말하면, WT VG1 및 VG1ΔIg가, 고정된 스트렙타비딘을 통해 비오틴-HA (Creative PEGWorks, North Carolina)로 간접적으로 코팅된 Series S CM5 칩 (GE Healthcare Life Science Solutions) 위에 80 초 또는 120 초 동안 주입되었다. 주입 농도는 각각, 0.5 nM 내지 1 μM의 범위 안에 있었다. 해리 상이 300 초 내지 600 초 동안 모니터링되었다. 차후에, 1 M $MgCl_2$를 15 초 동안 주입함으로써 표면이 재생되었다. 모든 실험은 PBS (10 mM Na_2HPO_4, 1 mM KH_2PO_4, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl pH 7.4)를 이용하여 25℃에서 수행되었다. HA 결합에 대한 파생된 곡선이 BIAevaluation 소프트웨어를 이용하여 1:1 랭뮤어 결합 모형에 적합되었다.

[0612] **B. 결과**

[0613] 베르시칸 HABD는 HA에 결합할 수 있다. 각 단백질에 대한 HA 결합에 대한 K_D는 표 14에서 도시된다.

표 14

[0614]

표 14. WT VG1 및 VG1ΔIg 단편에 대한 SPRHA에 의한 결합.

서열 번호	단백질	K_D [μM]
29	WT VG1	0.17
32	VG1ΔIg	0.23

[0615] **실시예 9. WT VG1 및 TSG6 단백질의 글리코사미노글리칸 결합 프로필**

[0616] **A. 재료와 방법**

[0617] WT VG1 및 TSG6의 글리코사미노글리칸 (GAG) 결합 프로필이, Biacore T200 기기 (GE Healthcare)를 이용한 SPR에 의해 헤파린 황산염 및 콘드로이틴 황산염에 결합을 계측함으로써 결정되었다. 간단히 말하면, 이들 단백질이, 스트렙타비딘을 통해 비오틴-헤파린 황산염 또는 비오틴-콘드로이틴 황산염 중 어느 하나로 간접적으로 코팅된 Series S CM5 칩 (GE Healthcare Life Science Solutions) 위에 180 초 동안 주입되었다. 주입 농도는 각각, ~ 5 nM 내지 1000 nM의 범위 안에 있었다. 해리 상이 120 초 동안 모니터링되었다. 차후에, 1 M $MgCl_2$를 30 초 동안 주입함으로써 표면이 재생되었다.

[0618] **B. 결과**

[0619] 이들 결과는 WT VG1이 TSG6보다 결합에서 더 선택적이라는 것을 암시한다 (표 15). WT VG1은 헤파린 황산염 또는 콘드로이틴 황산염에 대한 식별할 수 있는 결합이 없는 반면, TSG6은 헤파린 및 콘드로이틴 황산염 둘 모두에 대한 단단한 결합을 나타냈다.

표 15

표 15. SPR에 의한 헤파린 황산염 및 콘드로이틴 황산염 결합.

서열 번호	분자	헤파린 황산염 결합 K_D [μM]	콘드로이틴 황산염 결합 K_D [μM]
29	WT VG1	결합 없음	결합 없음
4	TSG6	0.01	0.01

[0620]

[0621] **실시예 10. VG1 HABD를 포함하는 Fab-HABD는 항원 및 HA에 결합할 수 있다**

[0622] **A. 재료와 방법**

[0623] **A.1. 작제물 설계**

[0624] Fab-HABD는 Fab 단편 중쇄의 C 말단 또는 IgG1 중쇄의 N 말단에 WT VG1 서열의 재조합 융합을 통해 생성되었거나 또는 생성될 수 있다. 펩티드-VG1 융합의 경우에, 펩티드 (EETI)가 WT VG1의 N 말단 (EETI-VG1) 및 WT VG1의 C 말단 (VG1-EETI) 둘 모두에 부착된 작제물이 생성되었거나 또는 생성될 수 있다. TEV 개열 부위가 EETI 및 WT VG1 사이에 통합된 2개의 추가 작제물 (EETI-TEV-VG1 및 VG1-TEV-EETI)이 또한 생성되었다. 이용되었거나 또는 이용될 수 있는 링커는 표 16에서 도시된다.

표 16

표 16. 링커 서열.

링커 서열 번호	단백질	링커
27	RabFab-VG1	GGGGS
27	PigFab-VG1	GGGGS
27	G6.31.Fab-VG1	GGGGS
27	VPDF-VG1	GGGGS
82	VG1-Fc (2x)*	RKCLIPPGNSVT
27	VPDF-VG1ΔIg (예언적 작제물)	GGGGS
88	2OD12v2.3-VG1	GGGGSGGGGS
88	라니비주맙-VG1	GGGGSGGGGS
83	항-HtrA1-VG1	GGGG
84	EETI-VG1	GSGSGSGSGS
85	EETI-TEV-VG1	ENLYFQGSGSGSGSGS
84	VG1-EETI	GSGSGSGSGS
85	VG1-TEV-EETI	ENLYFQGSGSGSGSGS

* VG1을 Fc와 융합하는 것은 동종이합체인 융합 단백질을 만들어, 분자당 VG1의 2개 사본을 야기한다. 따라서, 단백질 명칭에서 "2x" 표기.

[0625]

[0626] **A.2. 종 정합된 대용 돼지 항-VEGF Fab의 생성**

[0627] abYsis 데이터베이스의 검색에서 돼지 (수스 수크로파 (*Sus scrofa*)) IgG에 대한 대합된 중쇄와 경쇄의 어떤 공지된 사례도 산출되지 않았기 때문에, 우리는 항-VEGF Fab (G6.31.AARR)로부터 CDR 합체에 의해, 공지된 항원에

대한 능동적 결합 항체를 생성하는 것을 모색하였다. G6.31 프레임워크 (V_H4/V_LK2)에 높은 서열 동일성을 갖는 돼지 mRNA EST에 대해 NCBI Expressed Sequence Tag (EST) 데이터베이스가 검색되었다. 여러 서열이 선택되었고, 그리고 G6.31.AARR로부터 유래된 CDR이 적합한 프레임워크 영역 내에 합체되어 "돼지화" G6.31.AARR이 생성되었다. 중쇄와 경쇄 서열이 무작위로 대합되고 30 mL 배양액 내에 293Expi 또는 CHO 세포에서 발현되었다. 정제가 Capto L 수지에서, 그 이후에 크기 배제 크로마토그래피에 의해 수행되었고, 그리고 정제된 단백질이 SDS-PAGE, mass-spec에 의해 조사되고 인간 및 돼지 VEGF에 결합에 대해 평가되었다. VEGF에 대해 양질의 친화성을 갖는 하나의 서열이 정률 증가 및 후속 tox/PK 분석을 위해 선택되었고, 그리고 이러한 서열은 또한, VG1에 재조합적으로 융합되어 PigFab-VG1이 생성되었다.

[0628] **A.3. 단백질 발현과 정제**

[0629] 단백질 발현이 DNA 작제물의 CHO 또는 293Expi 세포 내로의 양이온성 지질 형질감염에 의해 수행되었다. 배양 용적은 30 mL 내지 35 L의 범위 안에 있었다. 일부 작제물의 경우에, 배양 용적당 단백질 수율을 증가시키기 위해 빠른 안정된 세포주가 생성되었다.

[0630] 정제가 6x-히스티딘-태깅된 분자의 경우 Ni-NTA 수지, 또는 Fab 융합의 경우 Gamma bind Plus 수지 중 어느 한 가지를 이용한 친화성 크로마토그래피에 의해 수행되었다. 일부 경우에, 세파덱스 수지 상에서 최종 크기 배제 단계에 앞서 이차성 이온 교환 단계가 수행되었다.

[0631] **A.4. HA 결합**

[0632] VG1이 Fab-HABD로서 HA 결합 특성을 유지한다는 것을 확증하기 위해, SPR이 실시예 2.1에서 전술된 바와 같이 이용되었다. 실험이 단일 주기 동역학을 이용하여 수행되었고, 그리고 해리가 600 초까지 동안 모니터링되었다. 검사된 단백질 농도는 단백질 사이에서 서로 달랐지만, 500 nM 및 6.25 nM 사이의 범위 안에 있었다.

[0633] **A.5. 항원 결합**

[0634] 개별 항원을 Series S CM5 칩 (GE Healthcare) 위에 직접적으로 고정시키고 결합을 실시예 2.1에서 설명된 바와 같이 SPR에 의해 계측함으로써 항원 결합이 검사되었다. 상호작용의 공지된 친화성에 근거하여, 상이한 단백질 농도가 이용되었다.

[0635] **B. 결과**

[0636] **B.1. 히알루로난 (HA) 결합**

[0637] HA 결합에 대한 모든 데이터가 BIAevaluation 소프트웨어를 이용하여 1:1 랭뮤어 결합 모형에 적합되었다. 각 단백질에 대한 K_D는 표 17에서 도시된다.

표 17

표 17. VG1 Fab-HABD의 HA 결합.

서열 번호	단백질	K_D [μM]
63, 64	RabFab-VG1	0.13
65, 66	PigFab-VG1	0.12
67, 68	G6.31.Fab-VG1	0.15
69, 70	VPDF-VG1	0.12
118, 119	항-HtrA1-VG1	0.08
71	VG1-Fc (2x)	0.017
78	EETI-VG1	0.16
79	EETI-TEV-VG1	0.22
80	VG1-EETI	0.16
81	VG1-TEV-EETI	0.18
93	VCO72M.GS10X.VG1CTH	0.0082
94	VG1NTH.GS10X.VCO72M	0.033

[0638]

[0639] B.2. 항원 결합

[0640] 표 18은 계측된 K_D와 함께, 항원 결합에 대해 분석된 단백질을 보여준다. VG1의 다양한 Fab 중쇄와의 C 말단 융합은 항원 결합에 영향을 주지 않았다. EETI-VG1 융합의 경우에, 링커 및 부착 부위의 유연성이 항원 결합에 영향을 주었다. 더 유연한 링커 및 C 말단 융합이 바람직하였다.

표 18

표 18. 항원 결합.

서열 번호	단백질	항원	K_D [μM]
63, 64	RabFab-VG1	해당 없음	해당 없음
65, 66	PigFab-VG1	VEGF	결정되지 않음
67, 68	G6.31.Fab-VG1	VEGF	0.0001
69, 70	VPDF-VG1	VEGF	결정되지 않음
71	VG1-Fc (2x)	해당 없음	해당 없음
78	EETI-VG1	트립신	0.43
79	EETI-TEV-VG1	트립신	0.14
80	VG1-EETI	트립신	0.013
81	VG1-TEV-EETI	트립신	0.007
93	VCO72M.GS10X.VG1CTH	VEGF	0.00075
94	VG1NTH.GS10X.VCO72M	VEGF	0.00055

[0641]

[0642] 실시예 11. HABD의 시험관내 유리체 양립성

[0643] A. 재료와 방법

[0644] 본 실시예는 유리체액에서 VG1 도메인 용해도의 검사를 설명한다. Dounce 균질기를 이용하여 준비되고, 그 이후에 조직파편을 제거하기 위해 2 분 동안 10,000 x g로 원심분리된 유리체액이 이들 연구에 이용되었다.

[0645] 추가 실험은, 명시야 및 형광 현미경검사 둘 모두 탈체에서 유리체액에서 침전을 모니터링하는 데 이용될 수 있도록 Alexa488-표지화 단백질을 활용하였다. 동등한 용적의 검사 물품 및 유리체액이 3-in-1 삼중-통로 □-슬라이드 (ibidi, USA, Inc. Cat#80316)의 2개 통로 각각으로 연속적인 주입에 의해 혼합되었고, 그리고 혼합 인터페이스가 현미경검사에 의해 시각적으로 모니터링되었다.

[0646] **B. 결과**

[0647] TSG6 및 PBS pH 7.4로 1:4 미리 희석된 돼지 유리체액의 혼합 시에, 용액이 혼탁해졌고 (도 9a), 그리고 혼합물의 원심분리 시에 펠렛이 관찰되었다. 대조적으로, 상기 용액은 1:4 및 1:1 비율 둘 모두에서 VG1 및 돼지 유리체의 혼합 시에 투명한 상태로 남아있었고 (도 9b), 그리고 원심분리 시에 펠렛이 관찰되지 않았다.

[0648] 게다가, RabFab-TSG6의 경우에 탈체에서 돼지 유리체에서 침전이 관찰되었고 (도 10a), 반면 RabFab-VG1의 경우에 침전이 관찰되지 않았다 (도 10b). 유사하게, VG1 (도 11a), RabFab-VG1 (도 11b), 또는 동등한 농도 (질량 기초)의 RabFab-VG1 및 10 kDa HA을 내포하는 제제 (도 11c)를 비교할 때, 탈체에서 토끼 유리체에서 침전이 관찰되지 않았다.

[0649] TSG6과는 대조적으로, 10 kDa HA로 VG1의 예비 제제화는 탈체에서 유리체액에서 침전을 예방하는 데 항상 필요한 것은 아니다.

[0650] **실시예 12. 탈체에서 VG1의 유리체액과의 상호작용**

[0651] **A. 재료와 방법**

[0652] 형광 상관 분광법 (FCS)이 탈체에서, 단리된 VG1 및 Fab-VG1 Fab-HABD의 유리체액과의 상호작용을 조사하는 데 이용되었다. VG1 및 Fab-VG1이 PEG4-DY647-N-히드록시숙신이미드 에스테르를 이용하여 리신 잔기 상에 공유적으로 표지화되었다. DY647의 형광 방출이 594 또는 633 nm의 레이저에 의해 여기되고 더 긴 파장에서 검출될 수 있다. 표지화 수준이 분자당 1개의 형광 염료보다 크지 않도록, 반응 화학이 제어되었다. 돼지 유리체액이 새로 도축된 동물의 눈으로부터 수집되고 dounce 균질기를 이용하여 균질화되었다. 이러한 물질은 인산염 완충된 식염수 (PBS) pH 7.4로 1:3 연속 희석되었다. 표지화된 검사 물품이 20 nM의 최종 농도로 각 희석된 분취량에 첨가되었다. 검사 물품은 (1) 자유 VG1, (2) pigFab-VG1, (3) 1:1 동등한 중량 비율 10 kDa HA와 혼합된 pigFab-VG1, (4) RabFab-VG1, 그리고 (5) 1:1 동등한 중량 비율 10 kDa HA와 혼합된 RabFab-VG1이었다. 주위 온도에서 2-시간 인큐베이션 후, FCS가 수행되었다.

[0653] **B. 결과**

[0654] FCS 계측의 결과는 도 12에서 도시된다. 희석되지 않은 또는 약간 희석된 유리체와 함께 인큐베이션될 때, 모든 샘플은 완충액 (PBS) 단독에서 인큐베이션에 비하여 유의미하게 지연된 확산을 보여주었다. 자유 VG1, PigFab-VG1 및 RabFab-VG1의 경우에, 이러한 지연된 확산은 유리체가 6,000배를 초과하여 희석될 때까지 존속하였다 (도 12, 3번째, 4번째, 6번째 및 7번째 열; 희석되지 않음에서 희석 인자 6,561로). 10 kDa HA와 공동제제화된 샘플의 경우에 느린 확산이 또한 관찰되었지만, 유리체액의 배수 희석이 ≥729배일 때 효과가 사라졌다 (도 12, 5번째 열: PigFab-VG1+10 kDa HA (1:1), 그리고 8번째 열: RabFab-VG1+10 kDa HA (1:1); 희석 인자 729에서 PBS로). 이들 결과는 유리체 성분, 아마도 유리체액에 내인성인 고분자량 HA 및 VG1 내포 검사 물품 사이에 강한 상호작용이 있다는 것을 암시한다. 심지어 저분자량 HA의 존재에서, 그리고 유리체액의 더 작은 희석도에서 (도 12, 5번째 열: PigFab-VG1+10 kDa HA (1:1), 그리고 8번째 열: RabFab-VG1+10 kDa HA (1:1)), VG1은 내인성 HA와 상호작용할 수 있다. 이것은 VG1 및 Fab-VG1이 10 kDa HA로부터 분리되고 유리체액 내에 존재하는 HA에 결합할 수 있다는 것을 암시한다. 하지만, 일단 유리체액이 유의미하게 희석되면, VG1 결합에 대해 낮은 MW HA와 경쟁할 만큼 높은 농도의 높은 MW HA가 없다 (도 12, 5번째 열: PigFab-VG1+10 kDa HA (1:1), 그리고 8번째 열: RabFab-VG1+10 kDa HA (1:1); 희석 인자 729에서 PBS로). 낮은 MW HA에 결합된 VG1은 결합되지 않은 물질에 비하여 확산 속도가 작거나 무시할 수 있을 정도로 느려진다 (도 12, 5번째 열의 경우 PBS 대조: PigFab-VG1+10 kDa HA (1:1), 그리고 8번째 열: RabFab-VG1+10 kDa HA (1:1); 이들 샘플은 추가된 유리체 없이 10 kDa HA를 갖는다).

[0655] **실시예 13. Fab-VG1의 열응력 안정성에 대한 10 kDa HA와의 전복합화의 효과**

[0656] **A. 재료와 방법**

[0657] 열응력에 대한 안정성에 대한, Fab-VG1의 10 kDa HA와의 전복합화의 효과가 항-HtrA1-VG1 단백질을 이용하여 검사되었다. 이들 실험을 위해, 항-HtrA1-VG1이 인산염 완충된 식염수 (PBS) pH 7.4에서, 그리고 1.8 mg/mL에서 10 kDa HA의 첨가와 함께 또는 첨가 없이 3 mg/mL로 제제화되었다. 1.8 mg/mL (180 μM) 농도의 10 kDa HA는 항-HtrA1-VG1 농도 (35 μM)보다 5배 몰 과잉이다. 이들 제제는 4 주 동안 37℃의 온도에서 인큐베이션되고, 이후 Michels et al., 2007 (Anal. Chem. 79, 5963)에 의해 설명된 바와 같이 비환원 모세관 전기이동-나트륨 도데실 황산염 (NR CE-SDS)에 의해 분석되었다. 단량체성 종 및 단편에 더하여, SDS에 의한 변성에 대해 내성인 응집체가 NR CE-SDS에 의해 검출된다.

[0658] **B. 결과**

[0659] 도 13에서 도시되고 표 19에서 요약된 바와 같이, 10 kDa HA와의 전복합화는 항-HtrA1-VG1에서 SDS-안정된 응집체의 형성을 저해한다. 고분자량 형태 (HMWF)의 형성률이 주당1.2%에서 주당 0.1 %로 감소된다. 10 kDa HA의 존재 또한, 비록 응집에 대한 효과보다는 작지만 단편화에 영향을 주는 것으로 보이는데, HA에 복합화될 때 저분자량 형태 (LWMF)의 형성률이 약 2배 감소한다. 이들 결과는 제제에 10 kDa HA의 포함이 중성 pH에서 열응력 조건에 대해 항-HtrA1-VG1을 안정화시켰다는 것을 암시한다.

표 19

[0660]

표 19. NR CE-SDS에 의한 열응력 샘플의 분석의 요약.

샘플	% HMWF	% 주된 피크	% LWMF
항-HtrA1-VG1 - 인큐베이션 없음 대조	1.2	92.8	6.0
항-HtrA1-VG1 - 4-주 인큐베이션 후	6.0	80.3	13.8
항-HtrA1-VG1 + 10 kDa HA - 인큐베이션 없음 대조	1.1	93.0	5.8
항-HtrA1-VG1 + 10 kDa HA - 4-주 인큐베이션 후	1.5	88.8	9.7

[0661] **실시예 14. 괴팅겐 Minipig®에서 VG1 및 VG1 Fab-HABD의 안구 내약성**

[0662] **A. 재료와 방법**

[0663] **A.1. 유리체내 (IVT) 주사 및 종결점의 평가**

[0664] VG1 및 Fab-VG1 Fab-HABD의 IVT 주사의 내약성이 괴팅겐 Minipig®를 이용하여 평가되었다. 연구의 설계는 표 20에서 도시된다.

표 20

표 20. 미니 돼지에서 VG1 및 Fab-HABD의 안구 내약성 연구의 설계.

군 번호	검사 물품[a]	용량 수준 (mg/눈)	용량 용적 (μL/눈)	용량 농도 (mg/mL)	수컷 숫자	
					4일 자 부검	30일 자 부검
1	운반제 대조	0	50	0	3	-
2	WT VG1 (서열 번호: 29)	1.13	50	22.5	2	4
3	PigFab-VG1 (서열 번호: 65, 66)	1.8	50	36	2	4
4	PigFab-VG1 + 10 kDa HA	1.8	50	36	2	4

[a] 모든 검사 물품 및 운반제 대조는 1일 자에 1회 양측성 IVT 주사를 통해 투여되었다.

[0665]

[0666] 각 미니 돼지의 양쪽 눈에 IVT를 통해 50 μL의 단회 주사가 투여되었다. 과거 데이터에 근거하여, 이러한 용적은 미니 돼지에서 내약성이 양호하였다. IVT 주사 절차가 협회 인증된 수의학적 안과의사에 의해 수행되었다. 군 1 미니 돼지는 운반제 대조의 주사로 처리되었다. 군 2 미니 돼지는 단리된 WT VG1 (실시예 8에서 전술된 바와 같이 생성됨)로 처리되었다. 군 3 미니 돼지는 pigFab-VG1 (실시예 10에서 설명된 바와 같이 생성됨)로 처리되었다. 군 4 미니 돼지는 동등한 중량의 10 kDa HA로 예비 제제화된 pigFab-VG1로 처리되었다. 모든 검사 물품은 표시된 단백질 농도로, 20 mM 히스티딘 아세트산염, 150 mM NaCl, pH 5.5에서 제제화되었다. 군 3 및 4에서 pigFab-VG1의 용량은 총 내독소 수준을 한쪽 눈당 0.05 내독소 단위 (EU) 미만으로 유지하는 최대 실현가능 용량을 나타낸다. 이러한 수준의 내독소는 이전에 미니 돼지 안구 연구에서 내약성인 것으로 밝혀졌다. WT VG1 (~30 kDa) 및 pigFab-VG1 (~80 kDa) 사이에 분자량의 차이를 고려할 때, 군 2에서 용량 수준은 군 3 및 4와 비교하여 투약마다 1.6 HA 결합 몰 당량을 나타낸다.

[0667] 아래의 파라미터 및 종결점이 본 연구에서 평가되었다: 사망, 임상 징후, 체중, 안과학 (검사, 안압 계측, 광역 컬러 안저 영상화, OCT 영상화 및 망막전위도검사 [ERG]), 생물분석, 독성 역학 파라미터, 항약물 항체 평가, 육안적 부검 조사, 그리고 조직병리학적 검사.

[0668] 검안경 검사가 간접적인 검안경검사 및 세극등 생체현미경검사를 통해, 협회 인증된 수의학적 안과의사에 의해 모든 생존 동물의 양쪽 눈에서 수행되었다. 안과 검사가 처리 전, 그리고 1 (투약후), 3, 5, 8, 15, 17, 22 및 29일 자에 모든 동물에서 수행되었다.

[0669] 안압 (IOP)이 안과 검사와 동시에, 협회 인증된 안과의사에 의해 모든 생존 동물의 양쪽 눈에서 압평 안압측정에 의해 계측되었다. 안압이 처리 전, 그리고 1 (투약후), 3, 5, 8, 15, 17, 22 및 29일 자에 모든 동물에서 계측되었다.

[0670] Clarity RetCam Shuttle을 이용한 광역, 컬러 안저 영상화가 29일 자에 모든 생존 동물에서 수행되었다. 투여된 검사 물품이 만약 가시적이면, 촬영이 시도되었다.

[0671] 29일 자에, 시신경을 관통하여, Heidelberg Spectralis HRA/OCT 시스템; 단일, 수직, 고해상 라인 스캔을 이용한 광간섭 단층촬영술 영상화가 수행되었다.

[0672] ERG 사정이 29일 자에 모든 생존 동물에서 수행되었다. 이들 동물은 ERG에 앞서 최소한 1 시간 동안 암순응되었다. ISCEV 표준 파라미터에 따른 섬광 강도 및 5분의 명순응 시간 (Retiport Gamma, Roland Consult)과 함께, Ganzfeld 돔 자극이 있는 전체 필드 섬광 ERG; 진폭 및 지연 시간 값이 추적으로부터 계측되었다.

[0673] 검사 물품의 혈청 농도의 결정을 위해, 혈액 샘플 (대략 0.5 mL)이 흉곽 입구를 관통하여 전대정맥을 통해 모든 생존 동물로부터 수집되었다. 이들 동물은 다른 절차를 위한 금식과 일치하는 구간을 제외하고, 혈액 수집에 앞서 금식되지 않았다. 혈액 수집은 처리 전, 1일 자 (투약후 6 및 12 시간), 그리고 2, 3, 5, 8, 12, 15, 22 및

29일 자에 1회 진행되었다.

[0674] 혈액 샘플이 혈청 분리관에 수집되었고, 그리고 60 분의 수집 내에 10 분 동안 제어된 실온에서 1300 g로 원심분리될 때까지, 제어된 실온에서 응고되도록 허용되었다. 그 결과로 생긴 혈청이, 전표지화된 0.50 mL 2D 바코드화 매트릭스 튜브, Thermo Cat 3744에서 원심분리의 시작 후 30 분 이내에 1개의 분취량에 배치되었다. 모든 분취량은 드라이아이스 위에서 급속 동결되고 -60℃ 내지 -90℃에서 동결 보관되었다.

[0675] 혈청 샘플이 ELISA 검정에서 항약물 항체 (ADA)의 존재에 대해 검사되었다. 검사 물품이 검정 평판 상에 고정되고, 혈청과 함께 인큐베이션되며, 세척되었고, 이후 면역 복합체가, 효소적 검출을 위해 Fc 부분이 양고추냉이 과산화효소에 접합된 항-돼지 IgG 시약으로 검출되었다.

[0676] 방수 수집이 협회 인증된 수의학적 안과의사에 의해 모든 동물에 대해 15일 자에 수행되었다. 31 게이지 바늘의 끝이 윤부 바로 뒤에서 공막 내로 대략 90 도 각도로 사면으로 삽입되는 동안, 방수 수집이 안구 위치를 고정하기 위한 결막 집게를 이용하여 수행되었다. 바늘의 각도가 이후, 홍채 및 각막 사이의 전방으로 진행되기에 앞서 얕아졌다. 방수의 50 μL까지의 최대 획득가능 용적을 흡인하기 위해, 주입기 플런저가 느리게 빼내졌다. 바늘이 제거되었고, 그리고 공막외 조직이 삽입 부위에 근접되고 결막 집게로 움켜잡혔다. 대측성 눈에 대해 동일한 샘플 수집 절차가 수행되었다. 수집된 샘플이 1.0 mL 유리 매트릭스 trakmates 2D 바코드화 저장관에 저장되고, 이후 TPE 캡으로 커버되었다. 샘플이 액체 질소에서 동결되고 60℃ 내지 -90℃에서 동결 보관되었다. 방수 내에 검사 물품 수준이 mass-spec 기반 검정을 이용하여 결정되었다.

[0677] **A.2. 샘플 준비**

[0678] PigFab 표준 교정 곡선이 25 mM 중탄산암모늄으로 희석된 돼지 수성 매트릭스 내로 상이한 양의 PigFab를 스파이킹함으로써 수행되었다. 표준/샘플이 이후, 아래와 같이 처리되었다: 시스테이닐 잔기로부터 이황화 결합이 60 ℃에서 1 시간 동안 10 mM DTT로 환원되고, 이후 티올 기가 어둠하에 실온에서 45 분 동안 55 mM 요오드아세트아미드로 알킬화되었다. 표준/샘플이 이후, 36 μg/mL 트립신 (서열 분석 등급 트립신, V5111, Promega)에 의해 소화되고 37 ℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션되었다. 무거운 펩티드가 소화 후 표준 및 샘플 용액 둘 모두 내로 스파이킹되었다. 선형 교정 곡선이 0.5 - 12 μg/mL 농도 범위에 대해 획득되었다.

[0679] **A.3. 표지화된 펩티드**

[0680] R (LLIYSASFLYSGVPSR m/z: 891.98+2) 아미노산에서 무거운 동위원소 표지를 내포하는 펩티드 표준이 구입되었다 (New England Peptide, Gardner, MA, USA). 특징화 및 농도 데이터는 제조업체에 의해 제공되었다. 표지화된 펩티드는 -80℃에서 1 mL의 물에서 보관되었다.

[0681] **A.4. 질량 분광분석 (MS)에 의한 분석**

[0682] PigFab로부터 획득된 소화물이 ACQUITY UPLC 펩티드 CSH C18 칼럼 (130 Å, 1.7 μm, 1 mm X 100 mm)을 이용하여 구배 용리 하에 Acquity UPLC (Waters Corporation, Milford, MA)에서 분리되었다. 칼럼이 50℃에서 유지되었고, 그리고 자동샘플러 트레이가 8℃에서 유지되었다. 이동상은 0.04 mL/분의 유동률에서, 0.1% FA를 내포하는 물 (A) 및 0.1% FA를 내포하는 아세토니트릴 (B)이었다. 샘플이 2 분에 걸쳐 2% - 90% B, 그 이후에 칼럼을 재평형시키기 위해 2 분 동안 2% B로 감소하는 구배로 용리되었다. 주입 용적은 10 μL이었다.

[0683] Triple Quad 6500 질량분광계 (Ab Sciex, Framington, MA)가, OptiFlow® Turbo V Ion Source가 구비된 양이온 다중 반응 모니터링 (MRM) 방식으로 작동되었다. 모니터링된 PigFab 전구체 (Q1) 이온은 90 V에서 디클러스터링 전위를 갖는 LLIYSASFLYSGVPSR (m/z: 886.98+2)이었고, 그리고 모니터링된 생성 (Q3) 이온은 29 eV에서 충돌 에너지를 갖는 359.20 m/z이었다. 2개의 다른 생성 이온, 각각 37 eV 및 30 eV에서 충돌 에너지를 갖는 65.39 m/z 및 602.33 m/z 또한 검증자로서 모니터링되었다. MS/MS 설정 파라미터는 아래와 같았다: 이온 분무 전압, 4500 V; 커튼 가스, 30 psi; 분무기 가스 (GS1), 25 psi; 온도, 300℃; 그리고 체류 시간, 50 ms. PigFab에 대한 무거운 펩티드가 또한 생성되었고 (891.97 m/z), 그리고 충돌 에너지 29 eV를 갖는 전이 369.204 m/z를 이용하여 정량되었다.

[0684] Sciex Analyst 소프트웨어 버전 1.7.1 (TripleTOF)이 데이터 획득에 이용되었다. 미가공 데이터가 PeakView 2.2로 가시화되었다.

[0685] **B. 결과**

[0686] 모든 동물은 예정된 종료 일자 때까지 생존하였다. 따라서, 예정에 없던 안락사는 필요하지 않았다. 검사 물품

관련된 눈 검사 결과는 검사 물품 주사의 영역 내에 유리체 연무 및 최소 후포도막염을 포함하였다.

[0687] 안과 검사 시에 조사 결과는 아래와 같았다:

[0688] (1) 군 2 (WT VG1) - 측두 유리체 내에서 관찰된 최소 연무가 1일 자에 6마리 동물 중 2마리에서 존재하였다. 이것은 3일 자까지 해소되었고 연구 종료 때까지 부재하였다. 4마리 동물 중 1마리가 15일 자에 최소 후포도막염을 겪었는데, 이것은 17일 자까지 해소되었다. 최소 후포도막염은 임상적으로 유의미한 것으로 고려되지 않았다.

[0689] (2) 군 3 (pigFab-VG1) - 1일 자에, 6마리 동물 모두 검사 물품 주사의 영역에서 측두 유리체 내에 유리체 연무를 나타냈다. 이것은 6마리 동물 모두에서 3일 자에 존속하였고, 그리고 5일 자에 이들 동물은 4/4마리 동물에서 중심 유리체를 침범하는 확산의 징후를 보여주었다. 8일 자부터 22일 자까지, 우리는 영향을 받는 유리체의 영역에서 감소를 관찰하였고, 그리고 29일 자에, 이들 4마리 동물 중 단지 2마리만 측두 유리체 내에 약간의 연무를 나타냈다. 영역 유리체 연무는 성질에서 염증성인 것으로 보이진 않지만, 유리체 일관성에 대한 국부 효과를 갖는 것으로 나타났다.

[0690] (3) 군 4 (pigFab-VG1 + 10 kDa HA) - 연구의 지속 기간에 걸쳐 검사 물품 관련 눈 검사 결과가 없었다.

[0691] 안압 값은 연구 내내 모든 시점에서 모든 동물에서 정상 범위 내에 있었다.

[0692] 이들 동물 중 어느 것도 임의의 시점에서 검사 물품에 대한 항약물 항체 (ADA)를 보여주지 않았다.

[0693] 29일 자에서 촬영된 컬러 안저 사진 및 광간섭 단층촬영술 이미지는 군 2 및 4 동물 모두에서 정상적인 유리체 및 망막 형태를 예증하였다. 군 3 동물 모두 눈 검사 결과와 일치하는, 안저 사진에서 최소 영역 유리체 연무 및 OCT에서 최소 후방 유리체 과반사를 나타냈다.

[0694] 망막전기측정 분석이 29일 자에 모든 동물에서 수행되었다. 3006번 동물은 암순응 0.01 광 강도에서 양쪽 눈에서 중간 정도로 감소된 b-파 진폭을 나타냈다. 모든 다른 광 강도는 정상 범위 내에 있었는데, 이것은 이 동물이 미광 망막 기능에 영향을 주는 배경 비정상을 갖는다는 것을 암시하였다. 2005번 및 4003번 동물은 OS와 비교하여 진폭 OD에서 경미한 감소로, 눈 사이에 일부 비대칭을 나타냈다. 이것은 비-중심 눈 위치 OD를 비롯한, 상태를 기록하는 것에 관련되는 것으로 의심되었다. 어떤 동물에서도 검사 물품 효과를 암시하는 조사 결과가 없었다.

[0695] 눈 또는 시신경에서 검사 물품 관련 육안적 조사 결과가 없었다.

[0696] 검사 물품 처리된 동물에서 모든 육안적 관찰 결과는 이러한 종에서 배경 조사 결과이거나, 또는 부수적이고 검사 물품과 관련이 없는 것으로 고려되었다. 이들 관찰 결과는 발생률이 낮았고, 발생률 또는 중증도에서 명백한 용량 관계를 결여하였고, 및/또는 상관적 검사 물품 관련 현미경적 조사 결과가 없었다.

[0697] 눈 또는 시신경에서 검사 물품 관련 현미경적 조사 결과가 없었다.

[0698] 모든 현미경적 관찰 결과는 부수적이고 검사 물품과 관련이 없는 것으로 고려되었다. 이들 관찰 결과는 이러한 종에 대한 공지된 배경 조사 결과이고, 및/또는 대조 및 검사 물품 처리된 동물에 대한 발생률 및 중증도와 유사하였다.

[0699] 방수 샘플에서 PigFab-VG1의 수준이 질량 분광분석에 의해 결정되었다. 미니 돼지 눈에서 동등한 질량 양의 10 kDa HA와 전복합화된 1.8 mg/눈 PigFab-VG1 또는 PigFab-VG1의 IVT 주사 이후에, 높은 방수 수준이 획득되고 30 일 동안 유지되었다 (도 14). 이들 결과는 계측 가능한 수준의 검사 물품이 4-주 연구의 지속 기간 동안 미니 돼지 눈에 존재하였다는 것을 암시한다. 30 일째에 농도는 변형되지 않은 Fab에 대해 계측된 것보다 적어도 1 크기 자릿수 높았다 (도 4a).

[0700] 결론적으로, 단회 IVT 주사에 의한 WT VG1 (1.13 mg/눈), pigFab-VG1 (1.8 mg/눈) 또는 pigFab-VG1 + 10 kDa HA (1.8 mg/눈)의 투여는 개별 용량 수준 각각에서 괴팅겐 미니 돼지에서 내약성이 양호하였다. 모든 동물은 그들의 예정된 종료까지 생존하였고, 비정상적인 임상적 관찰 결과가 없었고, 그리고 체중이 영향을 받지 않았다. 연구 시간 동안 및 단회 주사로 검사 물품에 대한 검출 가능한 면역 반응의 결여로, 검사 물품의 직접적인 효과를 사정할 수 있었다. 검안경 검사 결과는 검사 물품 주사 부위에서 일시적인 최소 유리체 연무 (이것은 3일 자까지 해소되었다) (WT VG-1) 및 검사 물품 주사에 근접한 유리체 연무 (이것은 향상되지만 연구 종료까지 완전히 해소되지는 않았다) (pigFab-VG1)에 한정되었다. pigFab-VG1 + 10 kDa HA에 대한 검안경 조사 결과가 없었고, 그리고 모든 동물에 대해 IOP, OCT 및 ERG 결과가 정상적이었다. 눈 또는 시신경에서 검사 물품 관련 육안

적 또는 현미경적 효과가 없었다.

[0701] **실시예 15. 쥐 레이저 유발 맥락막 혈관신생 (쥐 레이저 CNV)에서 VPDF-VG1의 효능**

[0702] Fab-HABD가 아래의 가정을 검증하기 위해, 레이저 유발 맥락막 혈관신생 (쥐 레이저 CNV)의 생체내 쥐 모형에서 연구되었다: (1) Fab-HABD가 생체내에서 유효하다 (다시 말하면, Fab-HABD가 혈관신생을 저해할 수 있다); 그리고 (2) Fab-HABD가 변형되지 않은 Fab 단편과 동등하거나 또는 이보다 우수한 생체내 효능의 지속성을 갖는다.

[0703] **A. 재료와 방법**

[0704] 레이저 손상 (한쪽 눈당 6번의 레이저 화상) 1 주 또는 3 주 전에 단백질 제제의 IVT 주사가 쥐에게 제공되었다. 레이저 손상을 세팅하고 1 주 후에, 병변이 형광 혈관조영술 (FA) 영상화로 혈관 성장에 대해 분석되었다.

[0705] Fab-HABD가 개별 변형되지 않은 Fab 단편과 비교되었다. Fab-HABD의 길게 지속되는 효능의 검출을 위해, 쥐 모형의 동일한 용량 및 지속 기간에서 Fab-HABD에 대한 더 길게 지속되는 효능을 증명하기 위해 변형되지 않은 Fab의 용량이 "최소 효과 용량" (다시 말하면, 상기 모형의 지속 기간 내에 운반제와 비교하여 혈관신생의 단지 낮은 검출가능 저해)으로 적정되었다.

[0706] **B. 결과**

[0707] 도 15에서 도시된 바와 같이, 레이저 처리보다 7 또는 21 일 전에 투여된 VPDF-VG1은 CNV 병변의 저해에 대해 활성이었다. 본 연구에서, VPDF-VG1에 대한 효과의 지속성이 변형되지 않은 Fab와 비슷하였다.

[0708] **실시예 16. 뉴질랜드 백색 토끼에서 VG1 및 VG1 Fab-HABD의 안구 내약성**

[0709] **A. 재료와 방법**

[0710] 본 연구의 목표는 수컷 뉴질랜드 백색 토끼에게 단회 양측성 IVT 주사 이후에 30-일 관찰 기간에 걸쳐, 1:1 (w/w) 10 kDa HA로 예비 제제화된 검사 물품 WT VG1, RabFab-VG1 및 RabFab-VG1의 안구 내약성을 결정하는 것이었다. 연구 설계는 표 21에서 도시된 바와 같았다.

표 21

[0711] 표 21. 뉴질랜드 백색 토끼에서 VG1 및 Fab-HABD의 안구 내약성 연구의 설계.

군 번호	검사 물품[a]	용량 수준 (mg/눈)	용량 용적 (μL/눈)	용량 농도 (mg/mL)	동물 숫자	
					4일 자 부검	30일 자 부검
1	운반제 대조	0	50	0	3	-
2	WT VG1 (서열 번호: 29)	0.53	50	10.6	2	4
3	RabFab-VG1 (서열 번호: 63 및 64	0.85	50	17	2	4
4	RabFab-VG1 + 10 kDa HA	0.85	50	17	2	4

No. - 숫자
- 해당 없음
[a] 모든 검사 물품 및 운반제 대조는 1일 자에 1회 양측성 IVT 주사를 통해 투여되었다.

[0712] 아래의 파라미터 및 종결점이 본 연구에서 평가되었다: 사망, 임상 징후, 체중, 사료 소비, 안과학 (다시 말하면, 검사, 안압 계측, 광역 컬러 안저 영상화, OCT 및 ERG), 생물분석, 독성 역학 파라미터, 항약물 항체 평가, 육안적 부검 조사, 그리고 조직병리학적 검사.

[0713] **B. 결과**

[0714] 체중 및 사료 소비의 사정에 근거하여, 전신 검사 물품 관련 효과가 없었다. 또한, 육안적 사후 조사 결과가 없

었으며, 모든 조직이 정상 범위 내에 있는 것으로 고려되었다.

[0715] 토끼의 혈청이 투약에 앞서, 그리고 연구의 8, 15, 22 및 29일 자에 항약물 항체 (ADA)의 존재에 대해 검정되었다. 투약에 앞서, WT VG1로 투약이 지정된 6 동물 중 3마리가 계측 가능한 혈청 ADA를 나타냈다. 유사하게, 각각 RabFab-VG1 또는 RabFab-VG1 + 10 kDa HA로 처리가 지정된 1/6마리 및 0/6마리 동물이 검사 물품에 대한 이미 존재하는 혈청 ADA를 나타냈다. 8일 자에, WT VG1 및 RabFab-VG1 군 둘 모두에서 모든 동물이 혈청에서 검사 물품에 대한 ADA를 보여주고 연구의 지속 기간 동안 양성 상태로 남아있었으며, 반면 RabFab-VG1 + 10 kDa HA 군에서는 동물 중 2/3마리가 혈청 ADA를 나타냈다. 15일 자에, 모든 동물은 혈청 ADA에 대해 양성이었고, 이것은 연구의 종료 때까지 지속되었다.

[0716] 임상적 검안경 조사 결과는 비록 치료군 사이에 중증도가 상이하긴 하지만, WT VG1, RabFab-VG1뿐만 아니라 RabFab-VG1 + 10 kDa HA로 처리된 동물에서 전포도막염과 후포도막염의 발달과 일치하였다. 예를 들면, WT VG1은 일부 눈에서 후낭하 백내장을 비롯한, 중등도 전포도막염과 후포도막염을 22일 자까지 야기하였다. 대조적으로, RabFab-VG1로 처리된 대부분의 동물은 이러한 동일한 시점에서 경등도 포도막염을 나타냈다. 이에 더하여, RabFab-VG1 + 10 kDa HA로 처리된 동물은 단지 최소 내지 경등도 전포도막염과 후포도막염을 나타냈다. 각 치료군에서, WT VG1가 투약된 동물에 대한 국소 눈 치료를 또한 포함하는, 18일 자에 전신 항염증성 치료의 개시 이후에 29일 자에 포도막염의 징후가 향상되었다. 감소된 안구내 압력은 활성 포도막염과 일치하였고, 반면 유리체 연무의 변화 정도는 또한, 군별로 상이한 포도막염 중증도에 상응하였다. 이들 사례에서, RabFab-VG1 + 10 kDa HA 처리된 동물에서 유리체 연무는 단지 희미한 유리체 불투명에 한정되었고, 반면 WT VG1 동물은 중등도 연무 및 후백내장을 나타냈다. 치료 의존성 효과 중증도가 또한, WT VG1 처리된 눈에서 망막 기능에서 심각한 변화 및 변성을 암시하는 암순응 및 명순응 진폭 감소로, OCT 및 ERG에 의해 관찰되었다.

[0717] 안구 현미경적 효과가 또한, 다른 검사 물질과 비교하여 WT VG1로 처리된 눈에서 가장 실제적이었는데 (도 16a), 여기서 RabFab-VG1 효과 (도 16b)가 덜 심각하였고, 그리고 RabFab-VG1 + 10 kDa HA 효과 (도 16c)가 유리체에 한정되고 중증도에서 단지 최소 내지 경등도이었다. WT VG1 관련 유리체 염증은 시신경 유두에 근접한 부위, 박리되고 일정치 않게 괴사된 망막, 그리고 후방 수정체낭에 인접한 염증 세포 판을 포함하였다. 이에 더하여, 전방은 혈청 단백질과 일치하는 균질한 호산성 물질을 내포하였다. 망막에서, WT VG1 관련 염증은 혈관 및 혈관주위 염증과 함께 최소-내지-뚜렷한 괴사를 동반한, 망막 실질로 확장하는 혼합 세포 유형에 의해 특징화되었다. 반응성 뮐러 세포가 중심 망막에서 관찰되었다.

[0718] WT VG1과 유사하게, RabFab-VG1 처리된 눈은 반응성 뮐러 세포와 종종 연관되는 최소-내지-중등도 미만성 광수용기 변성을 나타냈다. 하지만, RabFab-VG1 광수용기 층 변성은 WT VG1과 연관된 망막 괴사와 구별되었는데, 그 이유는 변성은 단지 광수용기 층에 대해서만 선택적인 반면, 망막 괴사는 복수의 망막 층을 침범하였기 때문이다. 이에 더하여, 유리체에서 섬유혈관막이 WT VG1 및 RabFab-VG1 처리된 눈 둘 모두를 특징지었다. 이들 사례에서, 막은 섬유모세포, 다수의 새로운 혈관, 그리고 초기 콜라겐 침착으로 구성되었다. 트랙션 밴드 또한, 막으로부터 분리되어 관찰되었다. WT VG1 및 RabFab-VG1과는 대조적으로, RabFab-VG1 + 10 kDa HA 관련 효과는 유리체 및 내부 경계막에 국한되는 최소 내지 경등도 단핵 염증에 한정되었다.

[0719] 결론적으로, 뉴질랜드 백색 토끼에게 WT VG1, RabFab-VG1 또는 RabFab-VG1 + 10 kDa HA의 단회 IVT 투여가, WT VG1이 투여된 동물에서 가장 중증, RabFab-VG1이 투여된 동물에서 중등도, 그리고 RabFab-VG1 + 10 kDa HA가 투여된 동물에서 경등도 내지 중등도의 전포도막염과 후포도막염의 발달을 야기하였다. 현미경 검사에서, 염증 이외에, WT VG1 및 RabFab-VG1에서 각각 유의미한 망막 괴사 및 망막 변성이 있었는데, 이들은 ERG 진폭 감소와 상관되었다. 연구 결론으로, RabFab-VG1 +10 kDa HA 눈에서 활성 전포도막염의 어떤 징후도 없었고 단지 최소 만성 후포도막염만 관찰되었다. 비록 이들 결과의 해석이 15일 자까지 모든 검사 물품에 대한 ADA의 관찰 결과에 의해 혼란스러워지긴 하지만, RabFab-VG1의 10 kDa HA와의 전복합화 또는 결합이 토끼 눈에서 이러한 Fab-HABD의 내약성을 향상시키는 것으로 보인다.

[0720] **Fab-VG1의 뇌 체류**

[0721] 뇌에서 체류를 달성하는, VG1을 통한 HA 결합에 대한 능력이 생쥐에서 뇌실내 주사에 의해 검사되었다. 이들 목적을 위해, 비표적 결합 항체 항-단순 헤르페스 바이러스-1 당단백질 D (항-gD)가 Fab 단편 (항-gD Fab)으로서, 무손상 IgG (항-gD IgG)로서, 또는 VG1을 갖는 융합 단백질 (항-gD Fab-VG1; BRD)로서 이용되었다.

[0722] **A. 재료와 방법**

[0723] **A.1. 동물**

[0724] 이들 연구에 이용된 야생형 C57BL/6 생쥐가 University of Kansas 번식지로부터 획득되었다. 살아있는 동물을 이용하기 위한 프로토콜 (AUS 75-15; 허가 일자: 1/25/21)이 University of Kansas의 동물실험윤리위원회 (IACUC)에 의해 승인되었다. 모든 동물은 12-시간 명/암 주기 및 사료와 물에 무제한적 접근을 갖는 온도 제어 환경 하에 동물 치료 병동 (ACU) 인원 및 수의사의 보살핌을 받았다.

[0725] **A.2. 항체 및 IRDye800CW NHS 에스테르의 접합**

[0726] 항체가 제조업체의 사용설명서에 따라서 IRDye800와 접합되었다. 간단히 말하면, 10% 인산칼륨 완충액, pH 9 (v/v)를 포함하는 PBS에서 항체가 25 ℃에서 2 시간 동안 IRDye800와 반응되었다. 과잉 염료가 7 kDa 분자량 컷오프를 갖는 Zeba Spin 탈염 칼럼 (Fisher Scientific)을 이용하여 제거되었다. 접합된 항체의 순도가 SDS-PAGE를 이용하여 사정되었다. Odyssey CLx NIR 스캐너가 800 nm에서 SDS-PAGE 겔을 스캐닝하는 데 이용되었고, 모든 과잉 염료가 제거되었음을 확인하였다.

[0727] **A.3. 뇌실내 주사**

[0728] 5-10 주령의 건강한 C57BL/6 생쥐가 1.5-2% 이소플루란을 이용하여 마취되고 정위 장치 (Stoelting Co.) 내로 배치되었다. 생쥐의 두개골을 노출시키기 위해 중심선 시상 절개가 만들어졌고, 그리고 정수리점이 확인되었다. 오른쪽으로 편측으로 1.0 mm 및 정수리점 앞쪽으로 0.3 mm의 작은 천공 구멍이 두개골에서 만들어졌다. 33 게이지 탈착식 바늘이 달린 10-μL Hamilton 주사기 (no. 7762-06)가 스테레오텍스 (stereotax)에 장착되었고, 그리고 2.25 mm의 깊이에서 생쥐의 측 뇌실에 1 mg/mL의 농도로 5 μL의 항체 용액에 이용되었다. 항체가 1 μL/분의 속도로 주입되었다. 하악하 정맥으로부터 혈액 샘플 (~100 μL)이, 안락사 직전에 리튬 헤파린을 항응고제로서 내포하는 냉각된 혈장 수집관 내로 수집되었다. 샘플이 3 분 동안 10,000xg로 원심분리 때까지 얼음 위에 유지되었고, 그리고 혈장이 분석 때까지 -80 ℃에서 보관되었다. 생쥐가, 4-5% 이소플루란으로 깊게 마취되어 있는 동안 0.1% Tween-20을 포함하는 HBSS의 얼음같이 차가운 용액의 경심 관류를 통해 다양한 시점 후 희생되었다. 뇌, 심장, 폐, 간, 비장 및 신장이 수집되었고 분석 때까지 얼음 위에 유지되었다.

[0729] **A.4. 항체 장기 정량**

[0730] 분리된 장기가 계량되고 1 mL의 PBS에서 기계적으로 균질화되었다. 표준 근적외선 형광 (NIRF) 항체 용액이 원액을 다양한 양의 PBS로 희석함으로써 창출되었다. 교정 곡선이 이후, 10 μL의 표준 용액을 96 웰 평판 내에 100 μL의 균질화된 블랭크 장기 내로 스파이킹하고 상기 웰을 Odyssey Clx 스캐너를 이용하여 스캐닝함으로써, 각 장기에 대해 생성되었다. 선형 곡선을 획득하기 위해, 각 웰에 대한 형광 강도가 장기의 그램당 항체의 농도와 대비하여 플로팅되었다. 항체 침적을 결정하기 위해, 뇌실내 주사된 생쥐로부터 획득된 장기가 교정 곡선과 비교되었다. 혈장 분석이, 먼저 5배 희석된 블랭크 혈장으로 유사하게 수행되었다. 이후, 희석된 혈장의 100 μL 분취량이 10 μL의 항체 표준으로 스파이킹되어, 뇌실내 주사된 생쥐 혈장 샘플이 비교되는 표준 곡선이 생성되었다.

[0731] **B. 결과**

[0732] 도 17에서 도시된 바와 같이, 항-gD Fab-VG1 (BRD; 서열 번호: 121 및 124)이 뇌에서, 등가 용량의 항-gD Fab (서열 번호: 120 및 121) 또는 항-gD IgG (서열 번호: 121 및 122)보다 더 길게 존속하고, 그리고 곡선 아래 면적 (AUC)으로서 표현된 더 큰 노출 수준을 제공하였다. 노출 수준에서 이들 차이는 항-gD Fab-VG1 및 항-gD Fab의 비교의 경우 0.01 미만의 p-값, 그리고 항-gD Fab-VG1 및 항-gD IgG의 비교의 경우 0.001 미만의 p-값으로 통계학적으로 유의하였다.

[0733] **실시예 18. VG1 친화성 변이체의 생성**

[0734] **A. 재료와 방법**

[0735] **A.1. WT VG1의 결정화 및 HA 결합 잔기의 확인**

[0736] 상업적인 결정화 스크린 (Hampton Research 및 Qiagen)이 HA와 접합된 WT VG1에 대한 결정화 조건을 확인하는 데 이용되었다. HA 결합된 VCAN의 구조가 결정을 HA6-mer로 적심으로써 획득되었다. 결정이 수확되고 냉동보호제 없이 액체 질소에서 급속 동결되었다. 회절 데이터가 Pilatus 6M 또는 Eiger 16M 검출기 (Dectris) 상에서 각각 Stanford Synchrotron Radiation Lightsource (SSRL) 빔라인 12-2 또는 14-1에서 수집되었다. 구조가 COOT에서 모형 구축, 그 이후에 REFMAC5, BUSTER 또는 Phenix-Refine로 정밀화에 의해 반복적으로 정밀화되었다. Adams, P.D. et al., Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr., 66(Pt 2):213-221 (2010); Blanc, E. et al., Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr., 60:2210-2221 (2004); Emsley, P. et al., Acta

Crystallogr. D Biol. Crystallogr., 66:486-501 (2010); Emsley and Cowtan, Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr., 66:2126-2132 (2004); Murshudov, G.N. et al., Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr., 67:355-367, (2011).

[0737] WT VG1-HA 접합체 구조 (도 18)가 PyMol 및/또는 Chimera 중 어느 하나를 이용하여 분석되었고, 그리고 HA와 상호작용하는 잔기가 수소 결합, 정전 및 소수성 상호작용 포텐셜에 근거하여 확인되었다.

[0738] **A.2. 시차 주사 형광 (DSF)**

[0739] WT VG1 및 단일 아미노산 변이체의 열 안정성이 시차 주사 형광 (DSF)을 이용하여 계측되었다. 간단히 말하면, 0.1 mg/mL의 정제된 단백질이 PBS에서 Sypro Orange 염료와 혼합되었다. 각 샘플에 0.05 ° /s 증분으로 25℃에서 95℃로 온도 구배가 진행되었고, 그리고 형광의 증가가 585 nm에서 모니터링되었다. 원시 형광 단위가 맞춤 엑셀 매크로를 이용하여 음의 도함수로서 플로팅되었고, 그리고 Tm이 계산되었다.

[0740] **A.3. WT VG1-HA 접합체 결정 구조에 기초하여 설계된 VG1 변이체**

[0741] WT VG1-HA 접합체 결정 구조 (도 18)에 따라서, HA는 단지 링크 1 도메인에만 결합되는 것으로 밝혀졌다. 따라서, HA 결합에 관련될 수 있는 링크 2 잔기를 예측하기 위해 모형화가 이용되었다. 결정 구조를 검증하고 WT VG1의 HA 결합 친화성을 약화시키는 돌연변이체를 확인하기 위해, 결정 접촉을 만드는 잔기가 알라닌, 또는 일부 경우에, 대체 아미노산 중 어느 하나로 돌연변이되었다. 게다가, HA와 결정 접촉을 만들지는 않지만 TSG6에서 HA 결합에 중요한 (VG1 링크 도메인 및 TSG-6 링크 도메인 사이의 서열 정렬에 근거하여; 도 8b) 일부 WT VG1 잔기 또한, 알라닌으로 돌연변이되었다. 돌연변이의 조합 효과를 탐침하기 위해, 소수의 이중 부위 돌연변이체, 예를 들면 각각 Arg 및 Tyr로 변화된 Lys260 및 Phe261 (KF260RY)이 생성되고 HA 결합에 대해 검사되었다. 표 22는 실시예 10에서 설명된 바와 같이 생성된 VG1 변이체를 열거한다. 생성되고 검사된 VG1 변이체의 아미노산 서열 정렬은 도 19에서 도시된다.

표 22

표 22. VG1에 대해 생성된 합리적인 돌연변이체.

VG1 잔기*	돌연변이	이유
R160	A	결정 접촉
Y161	A	결정 접촉
E194	A	TGS6에서 중요한 상응하는 잔기
D197	A	결정 접촉
D197	S	결정 접촉
Y208	A	결정 접촉
Y208	F	결정 접촉
R214	A	결정 접촉
R214	K	결정 접촉
M222	A	TGS6에서 중요한 상응하는 잔기
Y230	A	결정 접촉
Y230	F	결정 접촉
R233	A	물 분자를 통한 결정 접촉
K260	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
F261	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
D295	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
Y296	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
H306	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
R312	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
R312	K	HA에 결합할 것으로 예측됨
L325	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
Y326	A	HA에 결합할 것으로 예측됨
R327	A	HA에 결합할 것으로 예측됨

*아미노산에 대한 1 문자 코드가 이용된다

[0742]

[0743] **A.4. 분자 특성**

[0744] HA 결합이 실시예 10에서 설명된 바와 같이 SPR에 의해 계측되었다. 돌연변이체가 120 초 동안 주입되었고, 그리고 해리가 180 초 동안 모니터링되었다.

[0745] **B. 결과**

[0746] **B.1. VG1 변이체는 감소된 HA 결합을 갖는다**

[0747] 돌연변이체 R160A, Y161A 및 D197A는 2 내지 7 μM의 범위에서 약화된 HA 결합을 나타냈다. 표 23은 SPR에 의해 계측될 때, 각 VG1 변이체에 대한 계측된 k_a ($M^{-1}s^{-1}$), k_d (s^{-1}) 및 K_D (M)를 보여준다.

표 23

표 23. VG1의 점 돌연변이체의 HA 결합.

서열 번호	돌연변이체	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
29	WT VG1	5.36E+4	0.0099	1.840E-7
33	R160A	5.92E+04	0.127	2.14E-06
34	Y161A	2.78E+04	0.056	2.02E-06
35	E194A	결합 없음	결합 없음	결합 없음
36	D197A	1.11E+04	0.082	7.41E-06
37	D197S	6.98E+04	0.046	6.59E-07
38	Y208A	3.85E+04	0.0095	2.47E-07
39	Y208F	2.00E+05	0.043	2.13E-07
40	R214A	결합 없음	결합 없음	결합 없음
41	R214K	5.25E+04	0.0253	4.82E-07
42	M222A	2.14E+04	0.0091	4.25E-07
43	Y230A	4.02E+04	0.0080	2.00E-07
44	Y230F	1.07E+05	0.0386	3.60E-07
45	R233A	6.30E+04	0.0488	7.75E-07
46	K260A	2.26E+04	0.0096	4.23E-07
47	F261A	결합 없음	결합 없음	결합 없음
48	D295A	3.22E+05	0.2825	8.77E-07
49	Y296A	1.24E+05	0.0389	3.13E-07
50	H306A	3.50E+04	0.0114	3.25E-07
51	R312A	3.00E+04	0.0122	4.06E-07
52	R312K	3.63E+04	0.0073	2.01E-07
53	L325A	4.02E+04	0.0083	2.07E-07
54	Y326A	3.43E+04	0.0084	2.46E-07
55	R327A	3.76E+04	0.0172	4.57E-07
56	RY160KF	결합 없음	결합 없음	결합 없음
57	LYR325LPK	2.95E+04	0.0090	3.05E-07
58	KP260RY	5.31E+04	0.0086	1.62E-07
59	DY295SF	6.53E+04	0.0402	6.15E-07

[0748]

[0749] **B.2. VG1 변이체의 안정성**

[0750] 표 24는 생성된 VG1 돌연변이체 및 각 돌연변이체에 대한 계측된 Tm (용융 온도; ℃)을 보여준다. 대부분의 돌연변이는 WT VG1과 비교하여 열 안정성이 약간 감소하거나 또는 열 안정성에 영향을 주지 않지만, Y208A 및 H306A는 Tm에서 각각 2.16℃ 및 2.81℃ 향상을 나타냈다.

표 24

표 24. 결합 부위 돌연변이체의 열 안정성 치수.

서열 번호	돌연변이체	Tm (℃)
29	WT VG1	54.7±0.1
32	VG△Ig	55.8±0.8
33	R160A	55.2
34	Y161A	54.9
35	E194A	54.2
36	D197A	56.0
37	D197S	54.8
38	Y208A	57.0
39	Y208F	55.2
40	R214A	55.5
41	R214K	55.1
42	M222A	55.5
43	Y230A	54.6
44	Y230F	55.6
45	R233A	54.6
46	K260A	52.7
47	F261A	51.3
48	D295A	55.6
49	Y296A	54.8
50	H306A	57.6
51	R312A	54.8
52	R312K	54.0
53	L325A	52.1
54	Y326A	53.8
55	R327A	55.2
56	RY160KF	54.2
57	LYR325LFK	51.9
58	KF260RY	54.0
59	DY296SF	55.3

[0751]

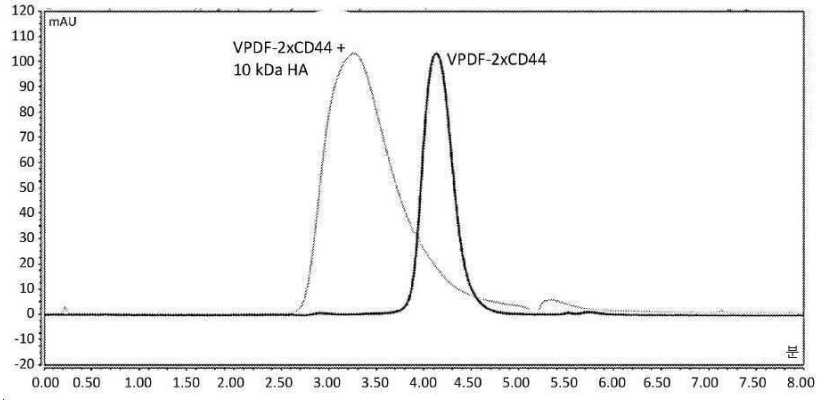
[0752] **등가물**

[0753] 앞서 기술된 명세서는 당업자가 구체예를 실시할 수 있게 하는 데 충분한 것으로 고려된다. 전술한 설명과 실시예는 일정한 구체예를 상술하고 본 발명자들에 의해 예기되는 최적 방식을 설명한다. 하지만, 앞서 말한 내용이 본문에서 얼마나 상세하게 나타나 있는지에 상관없이, 구체예는 많은 방식으로 실시될 수 있고 첨부된 청구범위 및 이들의 임의의 등가물에 따라서 해석되어야 하는 것으로 인지될 것이다.

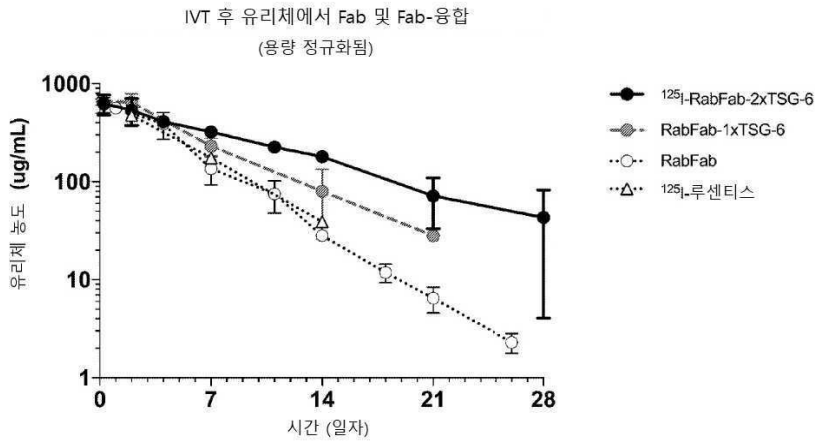
[0754] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 약은 명시적으로 표시되는지 아닌지에 상관없이, 예를 들면, 전체 숫자, 분율 및 백분율을 비롯한 수치 값을 지칭한다. 용어 약은 일반적으로, 당업자가 언급된 값과 동등한 (예를 들면, 동일한 기능 또는 결과를 갖는) 것으로 고려할 수치 값의 범위 (예를 들면, 언급된 범위의 +/-5-10%)를 지칭한다. 적어도 및 약과 같은 용어가 수치 값 또는 범위의 목록에 선행할 때, 이들 용어는 목록에서 제시된 모든 값 또는 범위를 수식한다. 일부 경우에, 용어 약은 가장 가까운 유효 숫자로 반올림되는 수치 값을 포함할 수 있다.

도면

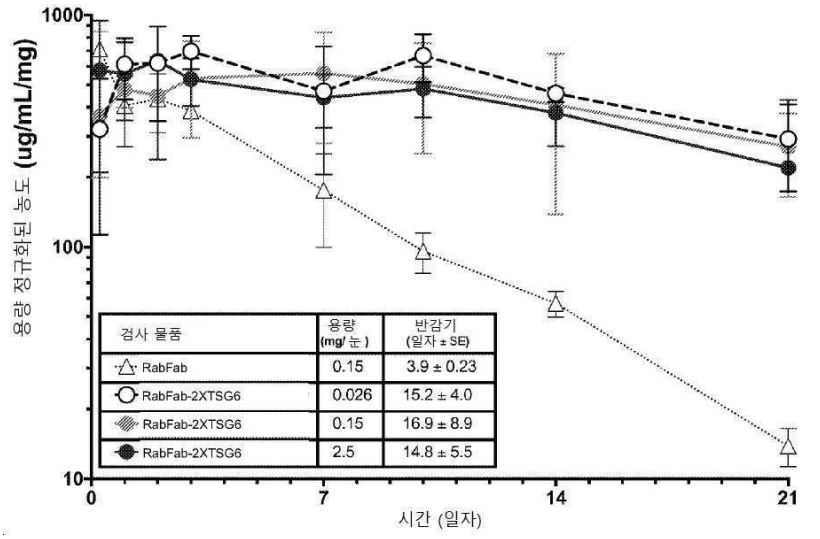
도면1



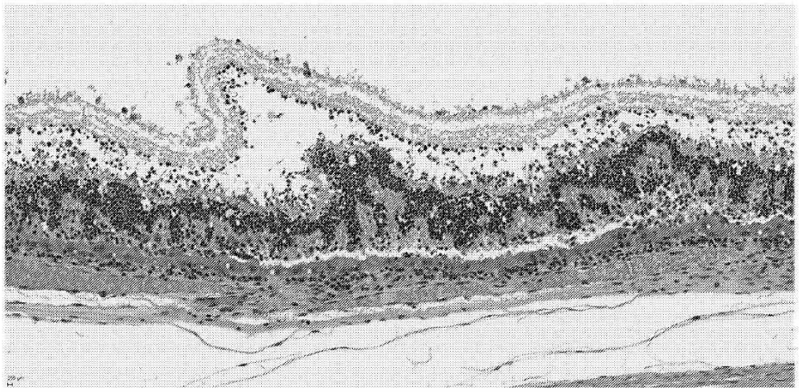
도면2a



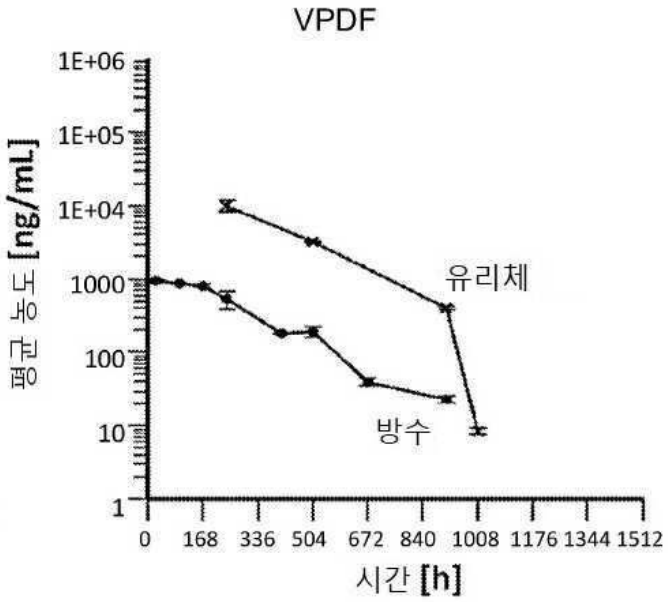
도면2b



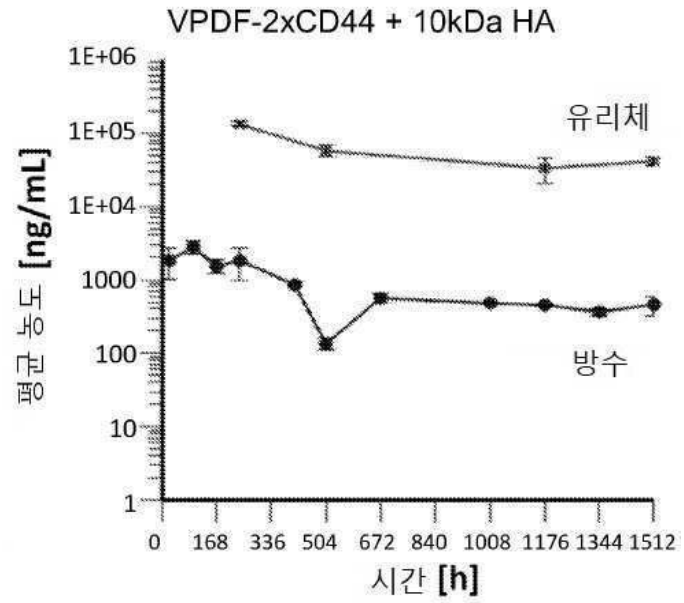
도면3



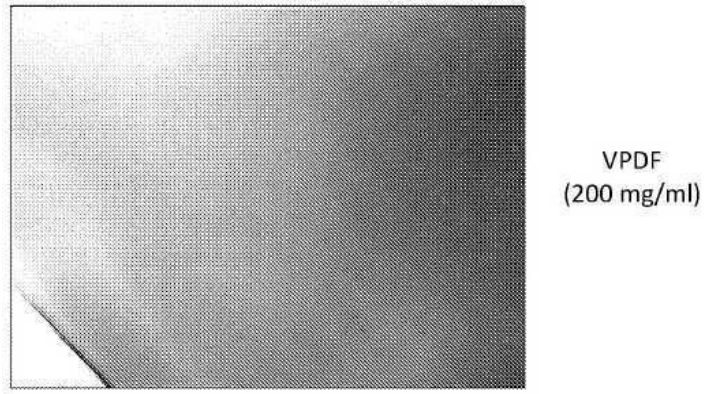
도면4a


VPDF
1E+06
1E+05
1E+04
1000
100
10
1
평균 농도 [ng/mL]
유리체
방수
0
168
336
504
672
840
1008
1176
1344
1512
시간 [h]

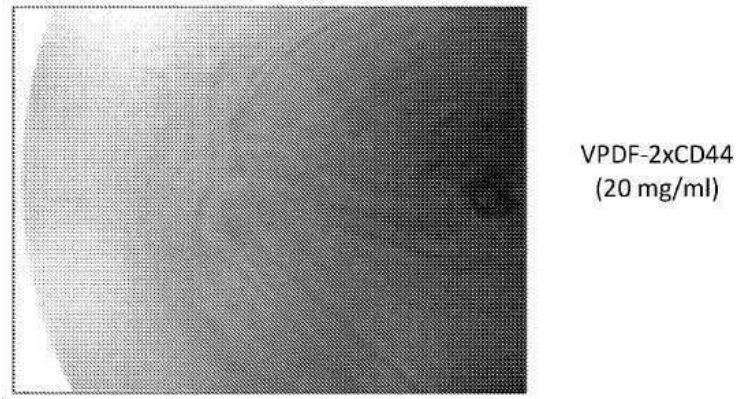
도면4b



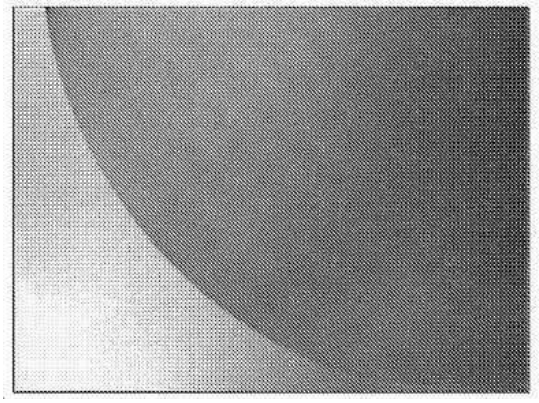
도면5a



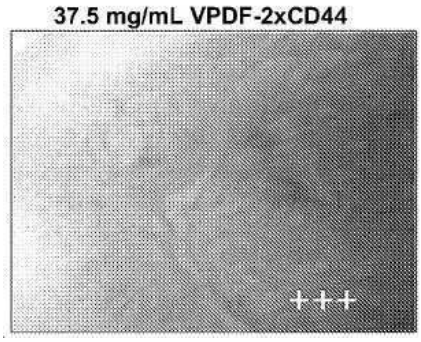
도면5b



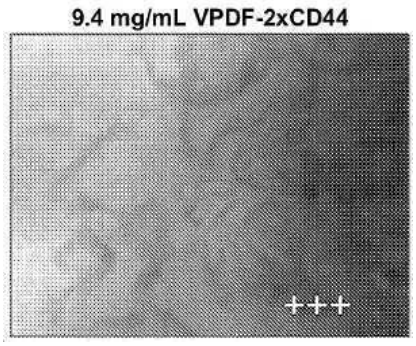
도면5c



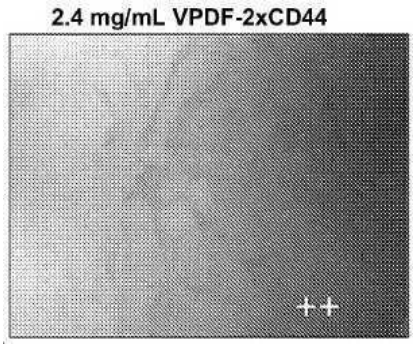
도면6a



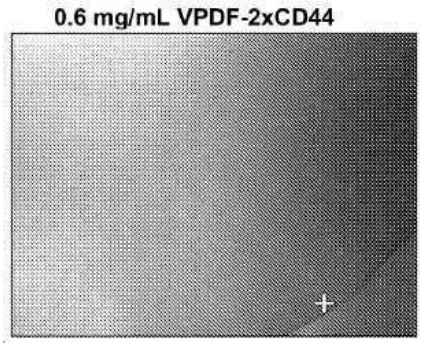
도면6b



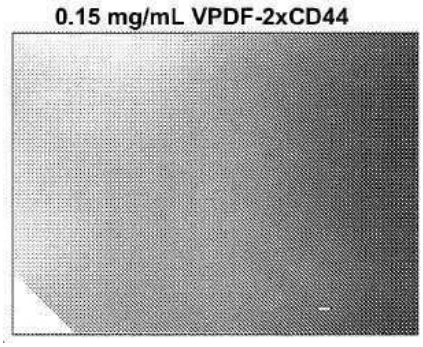
도면6c



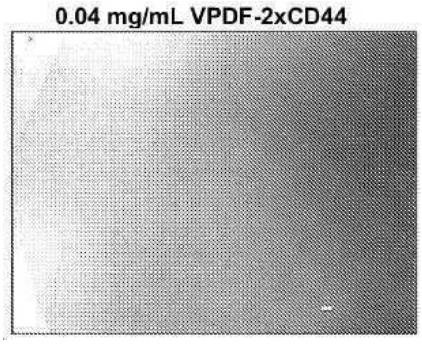
도면6d



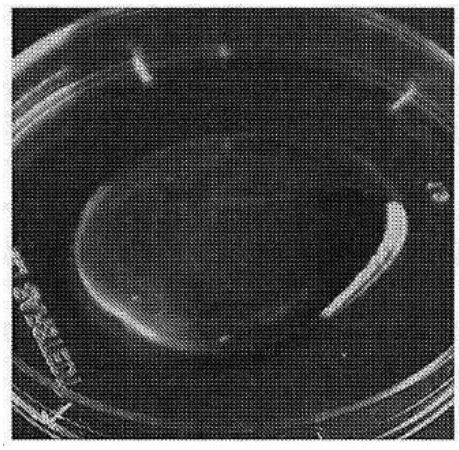
도면6e



도면6f



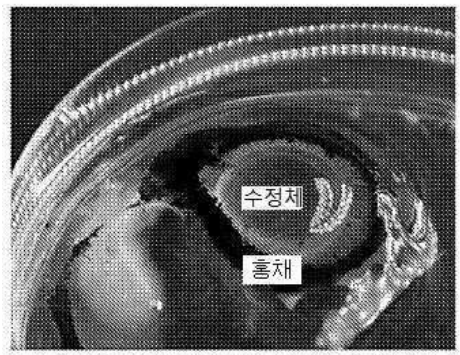
도면7a



완충액
(주사후 4 시간)

투명한 유리체

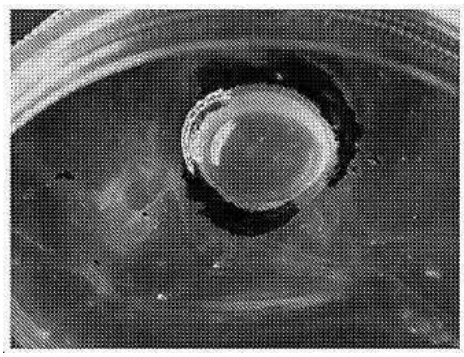
도면7b



VPDF-2xCD44
(주사후 4 시간)

주사 주변에
농축된 현장
밀집 백색
침전물

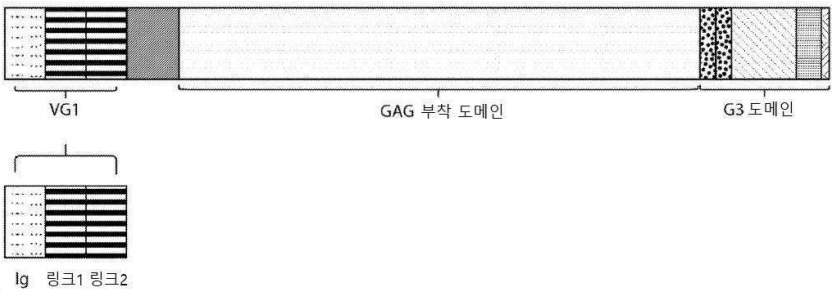
도면7c



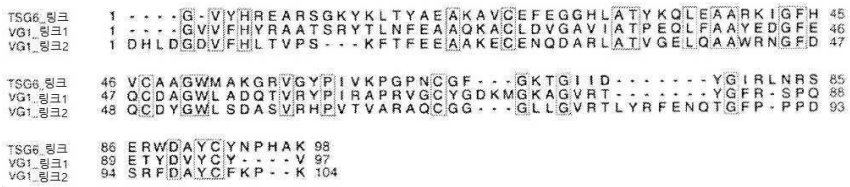
VPDF-2xCD44 +
1% 10kDa HA
(주사후)

유리체의 확대된
부위에서 얇은
백색 침전물

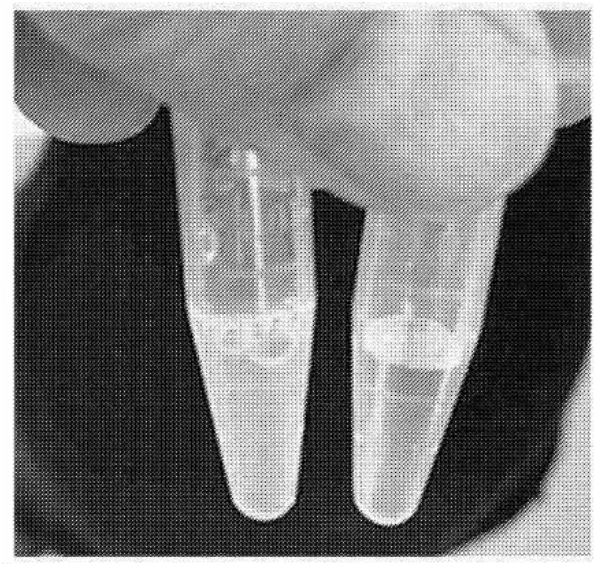
도면8a



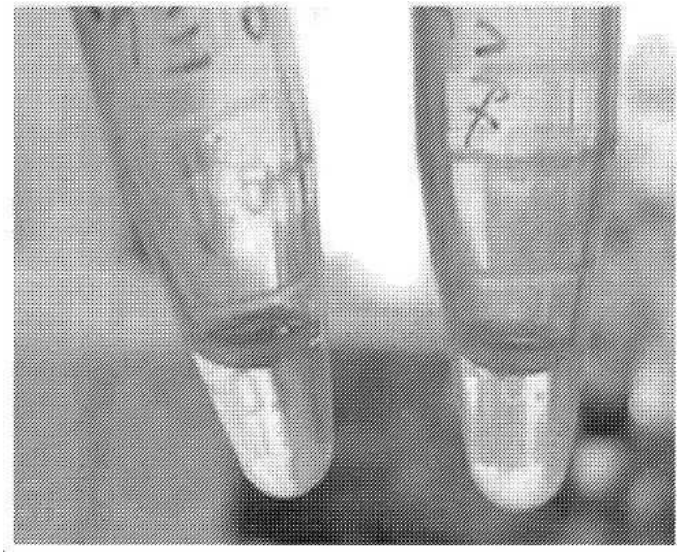
도면8b



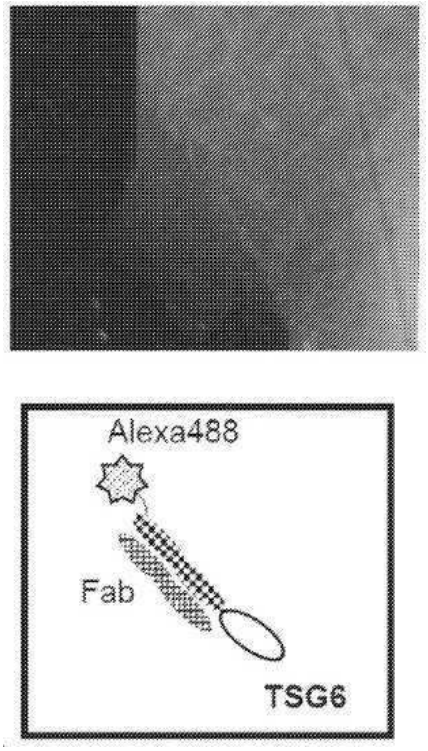
도면9a



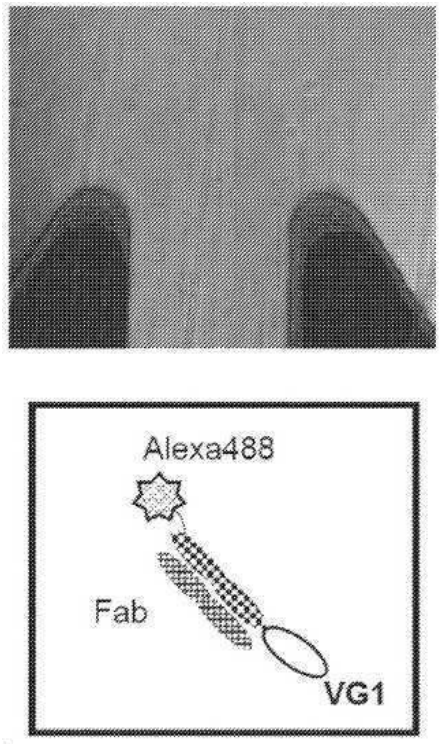
도면9b



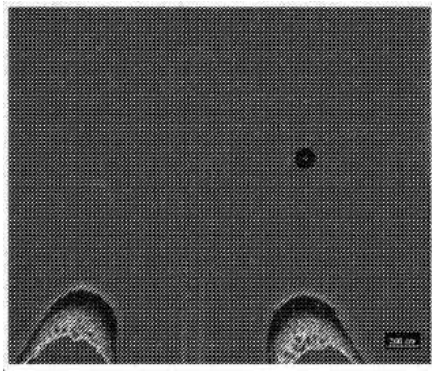
도면10a



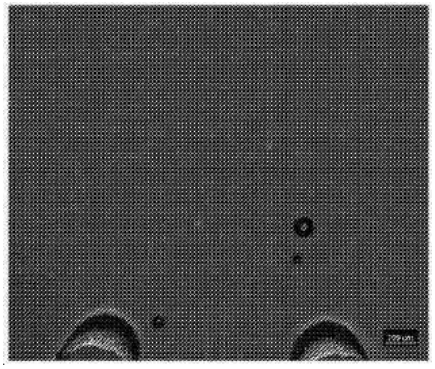
도면10b



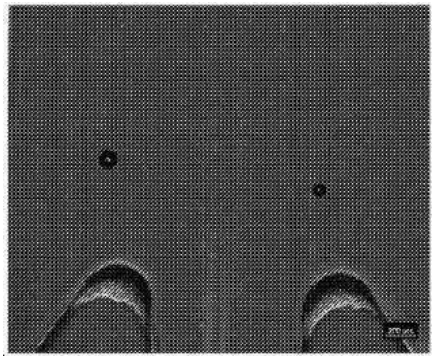
도면11a



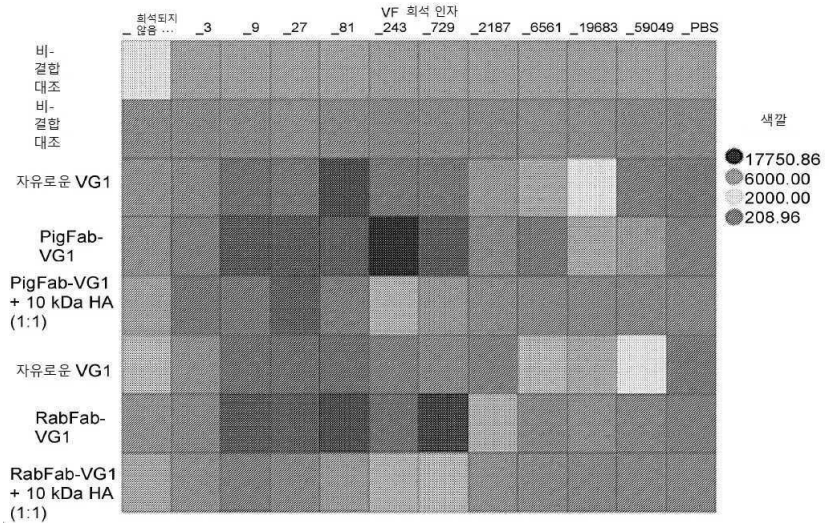
도면11b



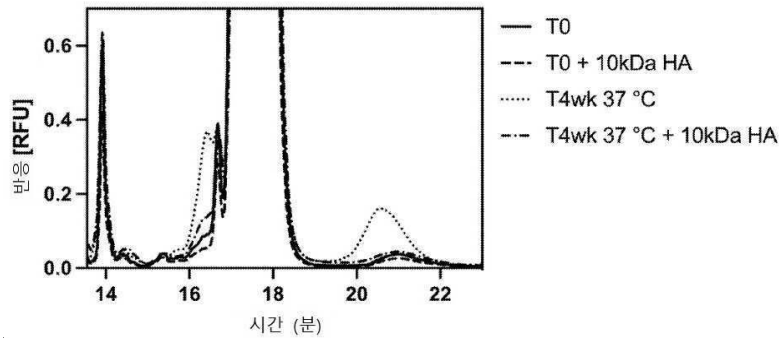
도면11c



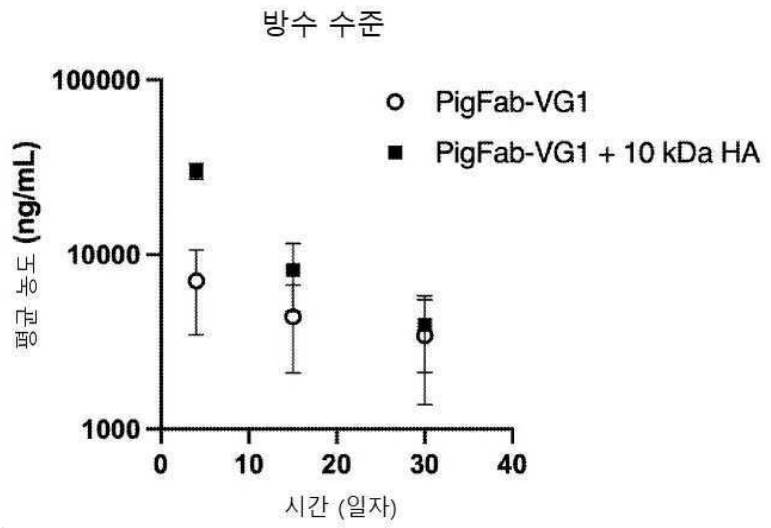
도면12



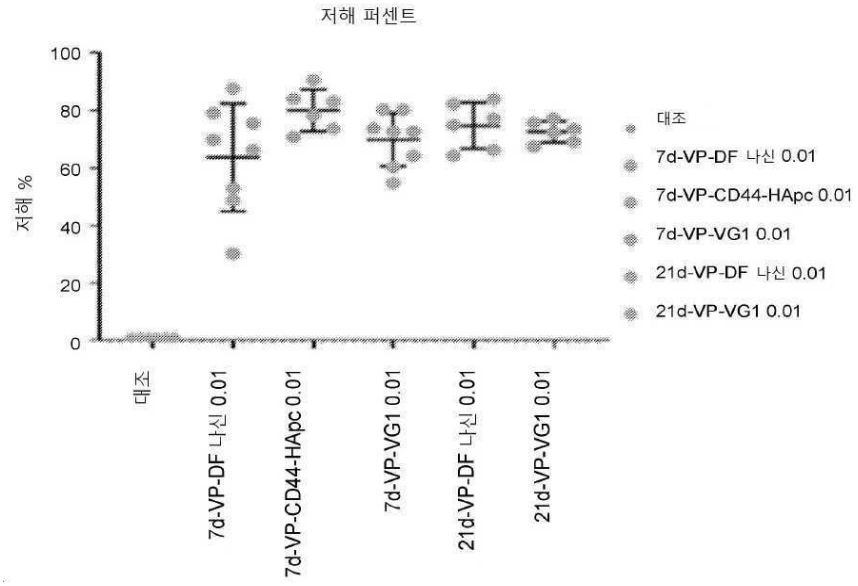
도면13



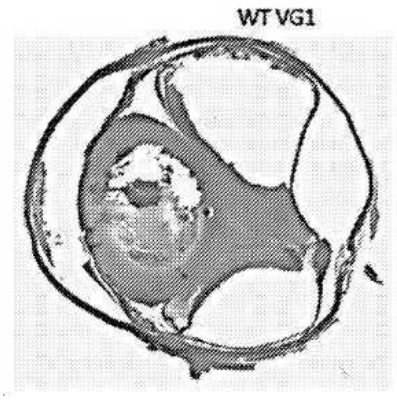
도면14



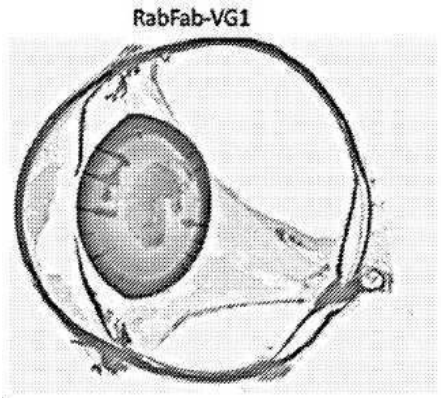
도면15



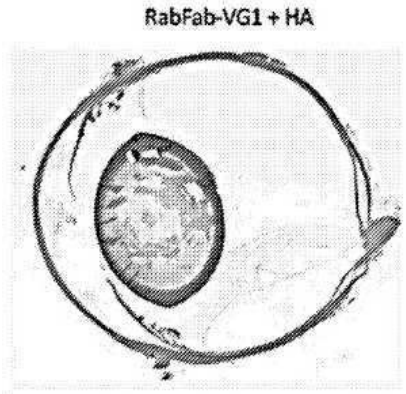
도면16a



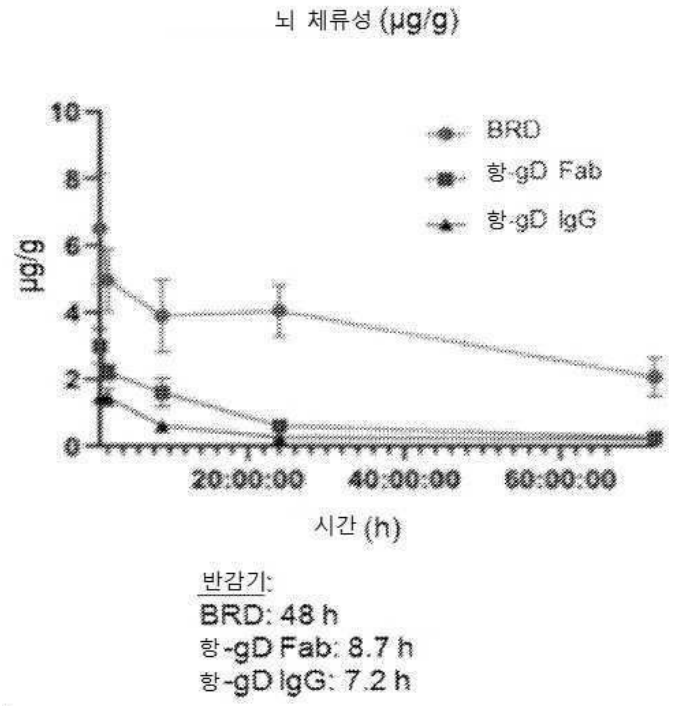
도면16b



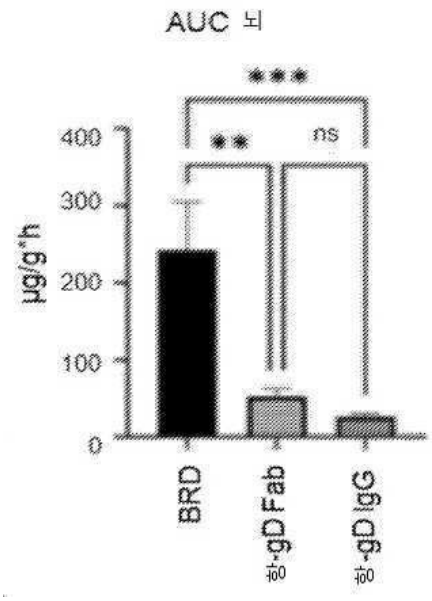
도면16c


RabFab-VG1 + HA

도면17a


뇌 체류성 (μg/g)
BRD
항-gD Fab
항-gD IgG
μg/g
10
8
6
4
2
0
20:00:00
40:00:00
60:00:00
시간 (h)
반감기:
BRD: 48 h
항-gD Fab: 8.7 h
항-gD IgG: 7.2 h

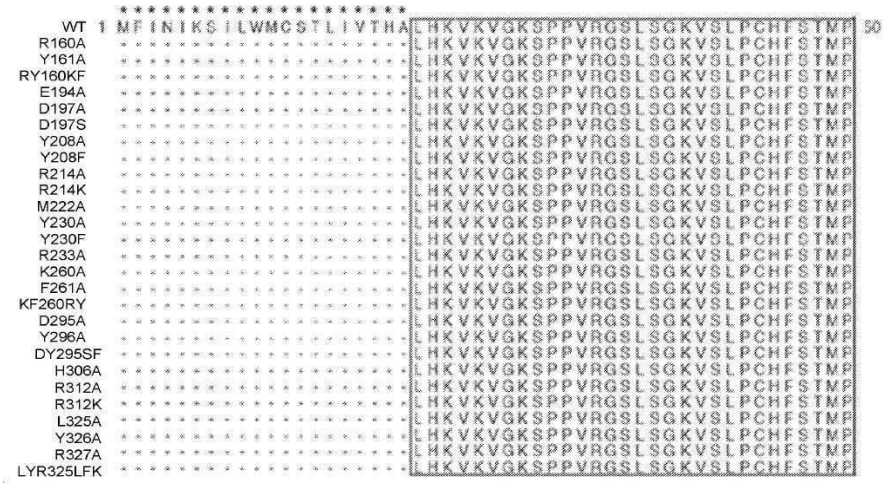
도면17b



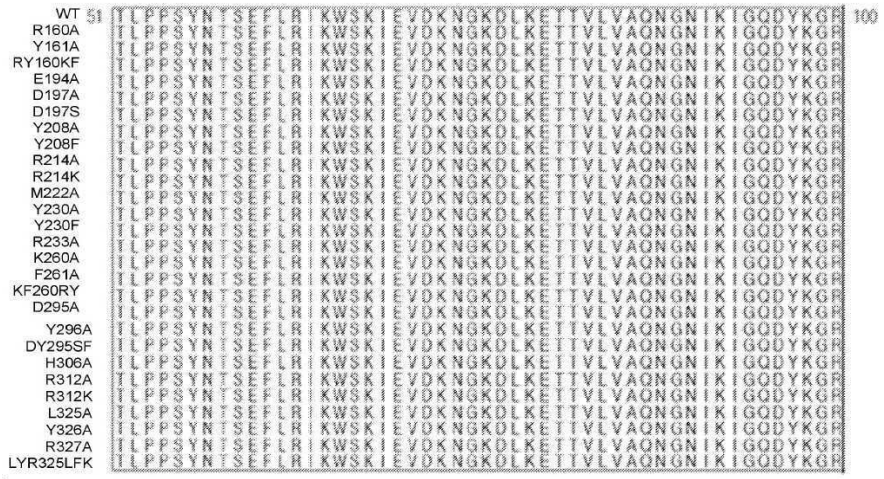
도면18



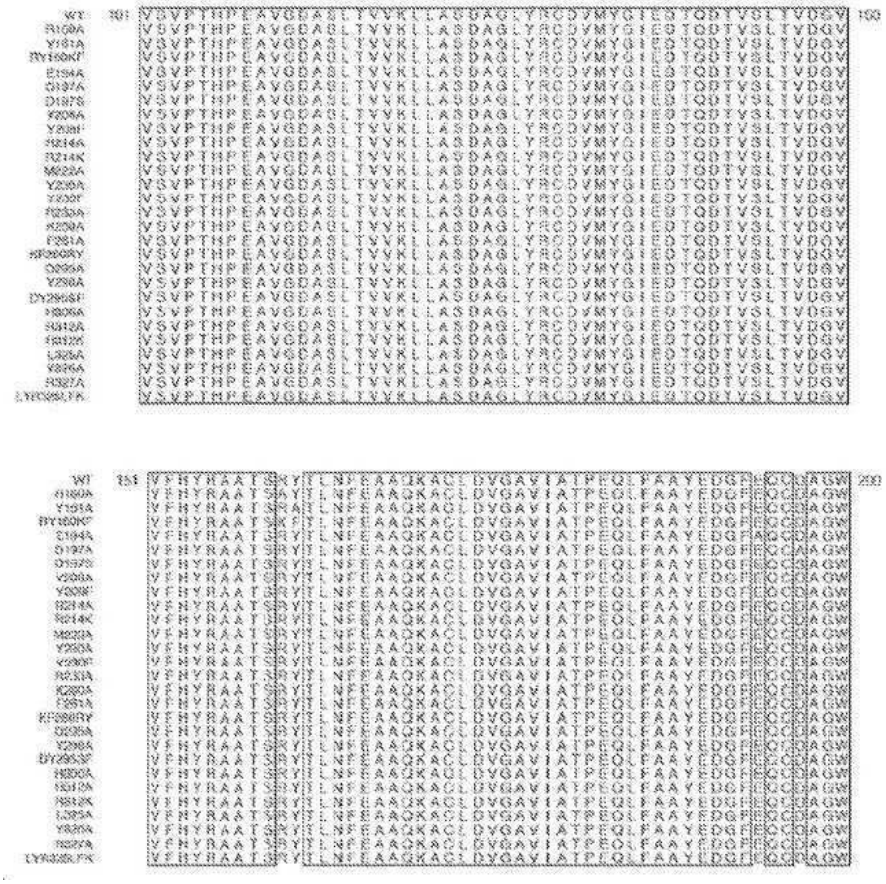
도면19a


WT 1 MFINIKSILWMCSTLIVTHA LHKVKVGKSPPVRGSLSGKVSLPCHFSTMP 50
R160A
Y161A
RY160KF
E194A
D197A
D197S
Y208A
Y208F
R214A
R214K
M222A
Y230A
Y230F
R233A
K260A
F261A
KF260RY
D295A
Y296A
DY295SF
H306A
R312A
R312K
L325A
Y326A
R327A
LYR325LFK

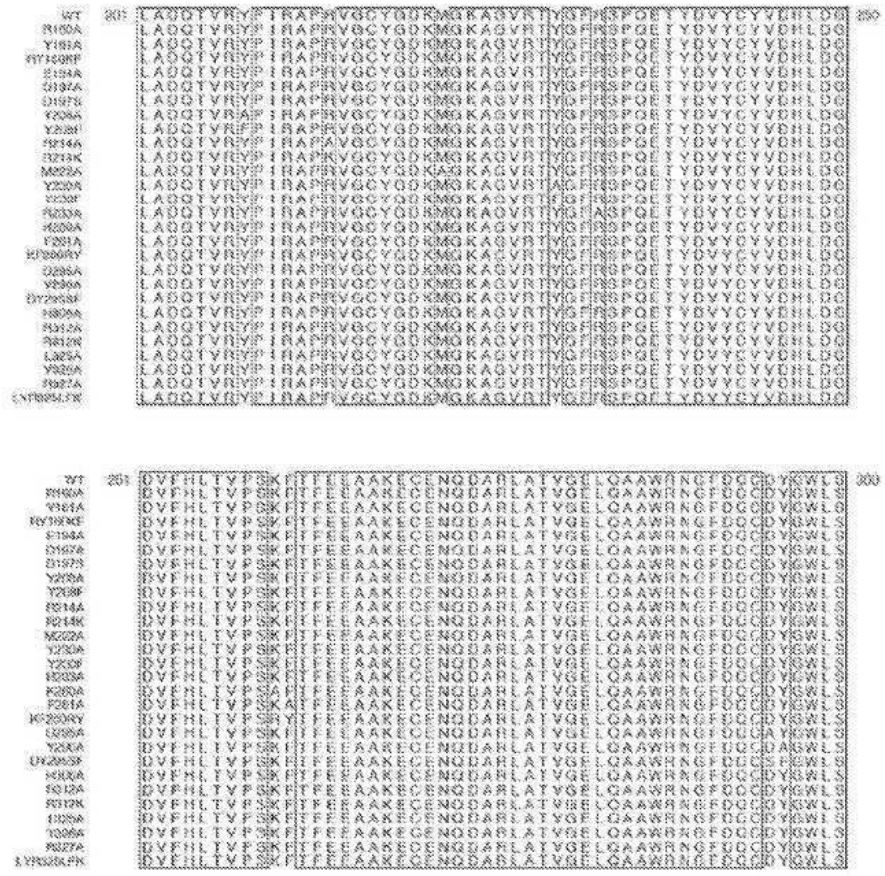
도면19b


WT 51 TLPPSYNTSEFLRIKWSKIEVDKNGKDLKETTVLVAQNGNIKIGQDYKGR 100
R160A
Y161A
RY160KF
E194A
D197A
D197S
Y208A
Y208F
R214A
R214K
M222A
Y230A
Y230F
R233A
K260A
F261A
KF260RY
D295A
Y296A
DY295SF
H306A
R312A
R312K
L325A
Y326A
R327A
LYR325LFK

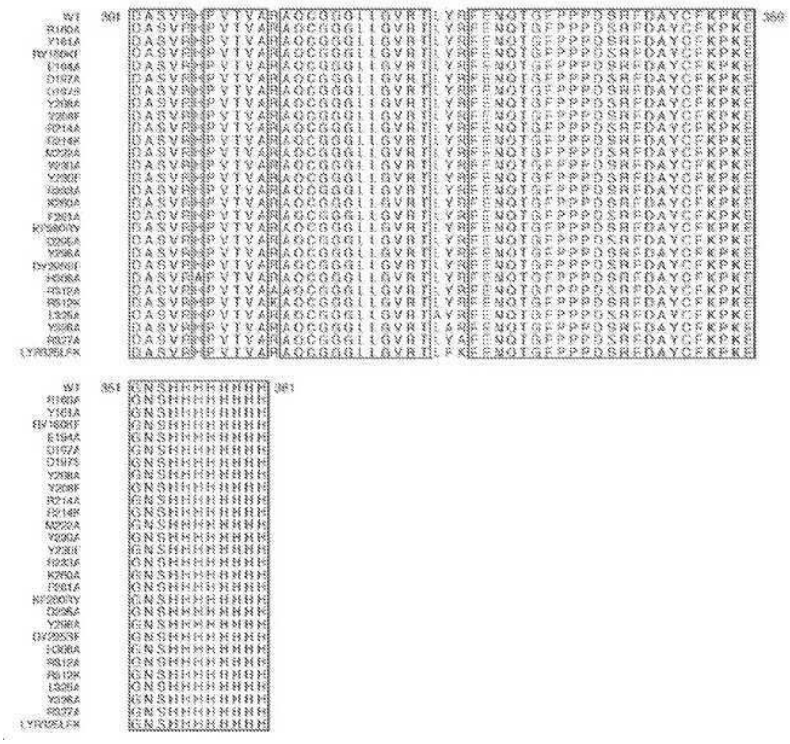
도면19c



도면19d



도면19e



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann La-Roche AG

Hoffmann-La Roche Inc.

Kelley, Robert Franklin Jr.

Mehta, Shrenik Chetan

Tesar, Devin Brent

Hannoush, Rami

Hansen, Simon Thedor

Dengl, Stefan

Kettenberger, Hubert

Huelsmann, Peter Michael

<120> HYALURONIC ACID BINDING DERIVATIVES OF VERSICAN (VG1) FOR LONG ACTING DELIVERY OF THERAPEUTICS

<130> 048893-560001WO

<140> PCT/US2021/054965

<141> 2021-10-14

<150> US 63/092,251

<151> 2020-10-15

<150> US 63/250,782

<151> 2021-09-30

<160> 124

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 742

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Lys Phe Trp Trp His Ala Ala Trp Gly Leu Cys Leu Val Pro
1 5 10 15

Leu Ser Leu Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly
20 25 30

Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu

35 40 45

Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr Met Ala

50 55 60

Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly

65 70 75 80

Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn Ser Ile

85 90 95

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

100 105 110

Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp

115 120 125

Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr

130 135 140

Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu

145 150 155 160

Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr Pro Ser Asn Pro Thr Asp Asp

165 170 175

Asp Val Ser Ser Gly Ser Ser Ser Glu Arg Ser Ser Thr Ser Gly Gly

180 185 190

Tyr Ile Phe Tyr Thr Phe Ser Thr Val His Pro Ile Pro Asp Glu Asp

195 200 205

Ser Pro Trp Ile Thr Asp Ser Thr Asp Arg Ile Pro Ala Thr Thr Leu

210 215 220

Met Ser Thr Ser Ala Thr Ala Thr Glu Thr Ala Thr Lys Arg Gln Glu

225 230 235 240

Thr Trp Asp Trp Phe Ser Trp Leu Phe Leu Pro Ser Glu Ser Lys Asn

245 250 255

His Leu His Thr Thr Thr Gln Met Ala Gly Thr Ser Ser Asn Thr Ile

260 265 270

Ser Ala Gly Trp Glu Pro Asn Glu Glu Asn Glu Asp Glu Arg Asp Arg

275 280 285

His Leu Ser Phe Ser Gly Ser Gly Ile Asp Asp Asp Glu Asp Phe Ile

290 295 300

Ser Ser Thr Ile Ser Thr Thr Pro Arg Ala Phe Asp His Thr Lys Gln

305 310 315 320

Asn Gln Asp Trp Thr Gln Trp Asn Pro Ser His Ser Asn Pro Glu Val

325 330 335

Leu Leu Gln Thr Thr Thr Arg Met Thr Asp Val Asp Arg Asn Gly Thr

340 345 350

Thr Ala Tyr Glu Gly Asn Trp Asn Pro Glu Ala His Pro Pro Leu Ile

355 360 365

His His Glu His His Glu Glu Glu Glu Thr Pro His Ser Thr Ser Thr

370 375 380

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

385 390 395 400

Glu Gln Trp Phe Gly Asn Arg Trp His Glu Gly Tyr Arg Gln Thr Pro

405 410 415

Lys Glu Asp Ser His Ser Thr Thr Gly Thr Ala Ala Ala Ser Ala His

420 425 430

Thr Ser His Pro Met Gln Gly Arg Thr Thr Pro Ser Pro Glu Asp Ser

435 440 445

Ser Trp Thr Asp Phe Phe Asn Pro Ile Ser His Pro Met Gly Arg Gly

450 455 460

His Gln Ala Gly Arg Arg Met Asp Met Asp Ser Ser His Ser Ile Thr

465 470 475 480

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

485 490 495

Arg Thr Gly Pro Leu Ser Met Thr Thr Gln Gln Ser Asn Ser Gln Ser

500 505 510

Phe Ser Thr Ser His Glu Gly Leu Glu Glu Asp Lys Asp His Pro Thr

515 520 525

Thr Ser Thr Leu Thr Ser Ser Asn Arg Asn Asp Val Thr Gly Gly Arg

530 535 540

Arg Asp Pro Asn His Ser Glu Gly Ser Thr Thr Leu Leu Glu Gly Tyr

545 550 555 560

Thr Ser His Tyr Pro His Thr Lys Glu Ser Arg Thr Phe Ile Pro Val

565 570 575

Thr Ser Ala Lys Thr Gly Ser Phe Gly Val Thr Ala Val Thr Val Gly

580 585 590

Asp Ser Asn Ser Asn Val Asn Arg Ser Leu Ser Gly Asp Gln Asp Thr

595 600 605

Phe His Pro Ser Gly Gly Ser His Thr Thr His Gly Ser Glu Ser Asp

610 615 620

Gly His Ser His Gly Ser Gln Glu Gly Gly Ala Asn Thr Thr Ser Gly

625 630 635 640

Pro Ile Arg Thr Pro Gln Ile Pro Glu Trp Leu Ile Ile Leu Ala Ser

645 650 655

Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile Leu Ala Val Cys Ile Ala Val Asn Ser

660 665 670

Arg Arg Arg Cys Gly Gln Lys Lys Lys Leu Val Ile Asn Ser Gly Asn

675 680 685

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

690 695 700

Lys Ser Gln Glu Met Val His Leu Val Asn Lys Glu Ser Ser Glu Thr

705 710 715 720

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

725 730 735

Asp Met Lys Ile Gly Val

740

<210> 2

<211> 150

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 2

Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly Val Phe His
1 5 10 15

Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu Ala Ala Asp
20 25 30

Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr Met Ala Gln Met Glu
35 40 45

Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly Phe Ile Glu

50 55 60

Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn Ser Ile Cys Ala Ala
65 70 75 80

Asn Asn Thr Gly Val Tyr Ile Leu Thr Tyr Asn Thr Ser Gln Tyr Asp
85 90 95

Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp Cys Thr Ser
100 105 110

Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr Ile Thr Ile

115 120 125

Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu Tyr Arg Thr
130 135 140

Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
145 150

<210> 3

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 3

Met Ile Ile Leu Ile Tyr Leu Phe Leu Leu Leu Trp Glu Asp Thr Gln
1 5 10 15

Gly Trp Gly Phe Lys Asp Gly Ile Phe His Asn Ser Ile Trp Leu Glu

20 25 30

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

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

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

210 215 220
Met Thr Leu Lys Phe Leu Ser Asp Ala Ser Val Thr Ala Gly Gly Phe
225 230 235 240
Gln Ile Lys Tyr Val Ala Met Asp Pro Val Ser Lys Ser Ser Gln Gly
245 250 255
Lys Asn Thr Ser Thr Thr Ser Thr Gly Asn Lys Asn Phe Leu Ala Gly
260 265 270
Arg Phe Ser His Leu
275

<210

> 4

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 4

Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Leu Thr Tyr
1 5 10 15

Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala Thr
20 25 30

Tyr Lys Gln Leu Glu Ala Ala Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala
35 40 45

Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro

50 55 60

Gly Pro Asn Cys Gly Phe Gly Lys Thr Gly Ile Ile Asp Tyr Gly Ile
65 70 75 80

Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His
85 90 95

Ala Lys His His His His His His
100

<210> 5

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 5

Asp Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Asp Gly Trp Trp Phe Gly Tyr Thr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Ser Ile Ser Tyr Lys Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Thr Lys Phe
50 55 60

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

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

Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn
260 265 270
Ser Thr Leu Pro Thr Met Ala Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly
275 280 285
Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro

290 295 300

Arg Ile His Pro Asn Ser Ile Cys Ala Ala Asn Asn Thr Gly Val Tyr
305 310 315 320

Ile Leu Thr Tyr Asn Thr Ser Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala
325 330 335

Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn
340 345 350

Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr
355 360 365

Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
370 375 380

<210> 6

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 6

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Gly Lys Glu Arg Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser His Glu Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Tyr His Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu

210

<210> 7

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 7

Asp Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Asp Gly Trp Trp Phe Gly Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Tyr Lys Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Thr Lys Phe

50 55 60

Ile Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Asp Thr Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ile Asp Leu Asn

225 230 235 240

Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro

290 295 300

Arg Ile His Pro Asn Ser Ile Cys Ala Ala Asn Asn Thr Gly Val Tyr

305 310 315 320

Ile Leu Thr Tyr Asn Thr Ser Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala

325 330 335

Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn

340 345 350

Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr

355 360 365

Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr

370 375 380

<210> 8

<211> 379

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 8

Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Gly Lys Glu Arg Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser His Glu Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Tyr His Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe

225 230 235 240

Ala Gly Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Glu Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr

260 265 270

Met Ala Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg

275 280 285

Tyr Gly Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn

290 295 300

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

305 310 315 320

Thr Ser Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu

325 330 335

Glu Asp Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro

340 345 350

Ile Thr Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys

355 360 365

Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr

370 375

<210> 9

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 9

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser

130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu

145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu

210 215 220

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

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

325 330 335
Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp
340 345 350
Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr
355 360 365
Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu
370 375 380
Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
385 390

<210> 10
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Lys Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ser Ser Thr Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 11
<211> 393
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 11
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

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

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

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

Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu
260 265 270

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

Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp
340 345 350
Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr
355 360 365
Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu
370 375 380
Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
385 390
<210> 12
<211> 379
<212> PRT

<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 12
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Lys Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ser Ser Thr Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile Thr Leu Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe

225 230 235 240

Ala Gly Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Glu Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr

260 265 270

Met Ala Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg

275 280 285

Tyr Gly Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn

290 295 300

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

305 310 315 320

Thr Ser Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu

325 330 335

Glu Asp Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro

340 345 350

Ile Thr Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys

355 360 365

Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr

370 375

<210> 13

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 13

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr His

20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Ile Met Arg Asn Thr Ala Asn Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Pro Thr Thr Val Asp Leu Lys Met

65 70 75 80

Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln

180 185 190

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Gly Gly Gly Gly

210 215 220

Ser Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Leu Thr

225 230 235 240

Tyr Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala

245 250 255

Thr Tyr Lys Gln Leu Glu Ala Ala Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys

260 265 270

Ala Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys

275 280 285

Pro Gly Pro Asn Cys Gly Phe Gly Lys Thr Gly Ile Ile Asp Tyr Gly

290 295 300

Ile Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro

305 310 315 320

His Ala Lys His His His His His His

325

<210> 14

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 14

Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val
1 5 10 15
Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr

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

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

145 150 155 160
Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr
165 170 175
Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Gly His
180 185 190
Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
210 215

<210> 15

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 15

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr His
20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Ile Met Arg Asn Thr Ala Asn Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Pro Thr Thr Val Asp Leu Lys Met
65 70 75 80

Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly
85 90 95

Arg Pro Gly Asp Gly Ala Leu Ser Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln
180 185 190

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Leu Thr
225 230 235 240

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

Ile Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro
305 310 315 320
His Ala Lys His His His His His His
325

<210> 16
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 16
Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val
1 5 10 15
Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln

115 120 125

Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe

130 135 140

Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr

145 150 155 160

Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr

165 170 175

Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Gly His

180 185 190

Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Tyr His

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Glu Ala Ala Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met

260 265 270

Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro Gly Ser Asn Cys

275 280 285

Gly Phe Gly Lys Thr Gly Ile Ile Asp Tyr Gly Ile Arg Leu Asn Arg

290 295 300

Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His Ala Lys Asp Tyr

305 310 315 320

Lys Asp Asp Asp Asp Lys

325

<210> 17

<211> 337

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Gly Ile Thr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

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

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

325 330 335
His

<210> 18
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 18
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 19
<211> 337
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

Ala Gly Ile Thr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Tyr His Arg Glu Ala

225 230 235 240

Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Leu Thr Tyr Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys

245 250 255

Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala Thr Tyr Lys Gln Leu Glu Ala Ala

260 265 270

Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly

275 280 285

Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro Gly Pro Asn Cys Gly Phe Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His Ala Lys His His His His His

325 330 335

His

<210> 20

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Gly Asn Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Tyr His Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala Thr Tyr Lys Gln Leu Glu

245 250 255

Ala Ala Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met Ala

260 265 270

Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro Gly Pro Asn Cys Gly

275 280 285

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

290 295 300

Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His Ala Lys Asp Tyr Lys

305 310 315 320

Asp Asp Asp Asp Lys

325

<210> 21

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Gln Asn Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Gly Asn His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly

210 215 220

Ser Gly Gly Gly Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Ile Ser Gly Lys Tyr

225 230 235 240

Tyr Leu Thr Tyr Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly

245 250 255

His Leu Ala Thr Tyr Lys Gln Leu Leu Ala Ala Gln Lys Ile Gly Phe

260 265 270

His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro

275 280 285

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

290 295 300

Asp Tyr Gly Ile Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys

305 310 315 320

Tyr Asn Pro His Ala

325

<210> 22

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 22

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Lys Ile His Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Tyr Leu Ala Ser Thr

85 90 95

Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 23

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 23

Asp Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Asp Gly Trp Trp Phe Gly Tyr Thr
20 25 30

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

35 40 45

Gly Ser Ile Ser Tyr Lys Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Thr Lys Phe

50 55 60

Ile Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Asp Thr Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Ile Ser Gly Lys

225 230 235 240

Tyr Tyr Leu Thr Tyr Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly

245 250 255

Gly His Leu Ala Thr Tyr Lys Gln Leu Leu Ala Ala Gln Lys Ile Gly

260 265 270

Phe His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr

275 280 285

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

290 295 300

Ile Asp Tyr Gly Ile Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr

305 310 315 320

Cys Tyr Asn Pro His Ala Lys

325

<210> 24

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 24

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Gly Lys Glu Arg Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser His Glu Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Tyr His Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 25

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 25

Asp Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Asp Gly Trp Trp Phe Gly Tyr Thr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Ser Ile Ser Tyr Lys Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Thr Lys Phe
50 55 60

Ile Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Asp Thr Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser
210 215 220
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ile Asp Leu Asn
225 230 235 240

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

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

Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
370 375 380
<210> 26
<211> 379
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 26
Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr

20 25 30

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

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

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

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

Met Ala Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg
275 280 285

Tyr Gly Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn
290 295 300
Ser Ile Cys Ala Ala Asn Asn Thr Gly Val Tyr Ile Leu Thr Tyr Asn
305 310 315 320
Thr Ser Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu
325 330 335
Glu Asp Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro
340 345 350

Ile Thr Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys
355 360 365
Gly Glu Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
370 375

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 27
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 28
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 29
<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 29

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu Thr Thr Val Leu
50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp
115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys
165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala
180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg
195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr
210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240

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

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg
305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210> 30
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 30
Gly Ser Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Asn Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val
20 25 30
Ile Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu
35 40 45
Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile
50 55 60
Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly

65 70 75 80

Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr
85 90 95

Cys Tyr Val Asp His His His His His His His His
100 105

<210> 31

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 31

Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu
1 5 10 15

Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val Gly
20 25 30

Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly
35 40 45

Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala
50 55 60

Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu
65 70 75 80

Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys
85 90 95

Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His His His His His His
100 105 110

<210> 32

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 32

Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn Phe

1 5 10 15

Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala Thr

20 25 30

Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Asp

35 40 45

Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala Pro

50 55 60

Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr

65 70 75 80

Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val

85 90 95

Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe

100 105 110

Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu

115 120 125

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

130 135 140

Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu

165 170 175

Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe

180 185 190

Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His His

195 200 205

His His His His

210

<210> 33

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 33

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Ala Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys
165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg
195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr
210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 34

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 34

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 35

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 35

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Ala Gln Cys
165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

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

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

305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210> 36
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 36
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30
Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

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

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

210 215 220
Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240
Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg
245 250 255
Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270
Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 37

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 37

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Ser Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 38

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 38

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Ala Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270
Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300
Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg
305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210
> 39
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 39
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30
Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45
Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu Thr Thr Val Leu

50 55 60
Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80
Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95
Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Phe Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 40

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 40

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

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

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

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

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg
245 250 255

Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg
305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335

His His His His His
340

<210

> 41

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 41

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Lys Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 42

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Ala Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 43

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 43

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Ala Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270
Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val
275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300
Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210> 44
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 44
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

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

85 90 95
Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp
115 120 125
Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140
Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

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

210 215 220
Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240
Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg
245 250 255
Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270
Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300
Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg
305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210

> 45

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 45

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys
165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg
195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Ala Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 46

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 46

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210
> 47
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 47
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30
Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45
Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu Thr Thr Val Leu

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

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

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Ala Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 48

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 48

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Ala Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 49

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 49

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 50

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 50

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

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

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

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

210 215 220

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

275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300
Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg
305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210
> 51
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 51
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30
Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45
Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu Thr Thr Val Leu

50 55 60
Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

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

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

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

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

305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 52

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 52

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Lys Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 53

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 53

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr
290 295 300
Ala Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210> 54
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 54
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

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

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

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Ala Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 55

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 55

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

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

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

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

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

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

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 56

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Lys Phe Thr Leu Asn

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 57

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 57

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys
165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

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

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

305 310 315 320
Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His
325 330 335
His His His His His
340

<210> 58
<211> 341
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 58
Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15
Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30
Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

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

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

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

210 215 220
Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Arg
225 230 235 240
Tyr Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg
245 250 255
Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp
260 265 270
Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285
Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210

> 59

<211> 341

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 59

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

1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu

20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val

100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp

115 120 125

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

130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala

145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys

165 170 175

Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala

180 185 190

Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg

195 200 205

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr

210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys

225 230 235 240

Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Ser Phe Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His

325 330 335

His His His His His

340

<210> 60

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (177)..(177)

<223> X is Asp or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (188)..(188)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (194)..(194)

<223> X is Arg or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (202)..(202)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (210)..(210)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (240)..(240)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (241)..(241)

<223> X is F or Y

<220><221> misc_feature

<222> (275)..(275)

<223> X is Asp or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (276)..(276)

<223> X is any amino acid

<220><221>

misc_feature

<222> (286)..(286)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (292)..(292)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (305)..(307)

<223> X is any amino acid

<400> 60

Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu
1 5 10 15

Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu
20 25 30

Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys
35 40 45

Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu Thr Thr Val Leu
50 55 60

Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg
65 70 75 80

Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp Ala Ser Leu Thr
85 90 95

Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp Val
100 105 110

Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp
115 120 125

Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn
130 135 140

Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala
145 150 155 160

Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys
165 170 175

Xaa Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Xaa Pro Ile Arg Ala
180 185 190

Pro Xaa Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Xaa Gly Lys Ala Gly Val Arg
195 200 205

Thr Xaa Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr
210 215 220

Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Xaa

225 230 235 240

Xaa Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg

245 250 255

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

260 265 270

Gln Cys Xaa Xaa Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg Xaa Pro Val

275 280 285

Thr Val Ala Xaa Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr

290 295 300

Xaa Xaa Xaa Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg

305 310 315 320

Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu

325 330

<210> 61

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 61

Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val

1 5 10 15

Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr

20 25 30

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu

65 70 75 80

Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Tyr Val Ser Gly

85 90 95

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

100 105 110

Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln

115 120 125

Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe

130 135 140

Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr

145 150 155 160

Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr

165 170 175

Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Gly His

180 185 190

Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

210 215

<210> 62

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 62

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr His

20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Ile Met Arg Asn Thr Ala Asn Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Pro Thr Thr Val Asp Leu Lys Met

65 70 75 80

Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln

180 185 190

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr

210 215 220

<210> 63

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 63

Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val

1 5 10 15

Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr

20 25 30

Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu

65 70 75 80

Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Tyr Val Ser Gly

85 90 95

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

100 105 110

Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln

115 120 125

Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe

130 135 140

Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr

145 150 155 160

Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr

165 170 175

Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Gly His

180 185 190

Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys

210 215

<210> 64

<211> 566

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 64

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr His

20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

35 40 45

Ile Met Arg Asn Thr Ala Asn Ile Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Pro Thr Thr Val Asp Leu Lys Met

65 70 75 80

Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln

180 185 190

Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp

195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Gly Gly Gly Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr

245 250 255

Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Thr Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr Arg Cys Asp

325 330 335

Val Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val

340 345 350

Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu

355 360 365

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

370 375 380

Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln

385 390 395 400

Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg

405 410 415

Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val

420 425 430

Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys

435 440 445

Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser

450 455 460

Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala

465 470 475 480

Arg Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe

485 490 495

Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro

500 505 510

Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg

515 520 525

Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser

530 535 540

Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His

545 550 555 560

His His His His His His

565

<210> 65

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 65

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

1 5 10 15

Asp Thr Val Ser Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Gln Ala Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Gly Asn Pro Phe

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Lys Glu Gln Leu Glu Thr Gln

115 120 125

Thr Val Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Ser Phe Phe Pro Arg Glu Val

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Val Asp Gly Val Val Gln Ser Ser Gly Ile Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Ser Leu Pro Thr Ser Gln Tyr Leu Ser His Asn Leu Tyr

180 185 190

Ser Cys Glu Val Thr His Lys Thr Leu Ala Ser Pro Leu Val Lys Ser

195 200 205

Phe Ser Arg Asn Glu Cys Glu Ala

210 215

<210> 66

<211> 558

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 66

Glu Glu Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gly Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Ala Gly Ile Thr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Gln Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Phe Val Phe Phe Leu Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Pro

100 105 110

Gly Val Glu Val Val Val Ser Ser Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val

115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val
165 170 175

Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro
180 185 190

Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly Thr Lys Thr Lys Gly
210 215 220

Gly Gly Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val
225 230 235 240

Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr
245 250 255

Met Pro Thr Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile
260 265 270

Lys Trp Ser Lys Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys Asp Leu Lys Glu
275 280 285

Thr Thr Val Leu Val Ala Gln Asn Gly Asn Ile Lys Ile Gly Gln Asp
290 295 300

Tyr Lys Gly Arg Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ser Leu Thr Val Val Lys Leu Leu Ala Ser Asp Ala Gly Leu Tyr
325 330 335

Arg Cys Asp Val Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser
340 345 350

Leu Thr Val Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg
355 360 365

Tyr Thr Leu Asn Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly
370 375 380

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

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

Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu
515 520 525
Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro
530 535 540
Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu
545 550 555

<210> 67
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 67

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

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

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 68
<211> 563
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 68
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly

225 230 235 240

Lys Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro

245 250 255

Cys His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser

260 265 270

Glu Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly

275 280 285

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

290 295 300

Lys Ile Gly Gln Asp Tyr Lys Gly Arg Val Ser Val Pro Thr His Pro

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Gln Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg

355 360 365

Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala

370 375 380

Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala

385 390 395 400

Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp

405 410 415

Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly

420 425 430

Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro

435 440 445

Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp

450 455 460

Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala

465 470 475 480

Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu

485 490 495

Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu

500 505 510

Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys
515 520 525
Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln
530 535 540
Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys

545 550 555 560
Pro Lys Glu

<210> 69
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 69
Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

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

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

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

<210> 70
<211> 559
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 70
Asp Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

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

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro

225 230 235 240

Val Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser

245 250 255

Thr Met Pro Thr Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Asp Tyr Lys Gly Arg Val Ser Val Pro Thr His Pro Glu Ala Val Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

Tyr Arg Cys Asp Val Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val

340 345 350

Ser Leu Thr Val Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser

355 360 365

Arg Tyr Thr Leu Asn Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val

370 375 380

Gly Ala Val Ile Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp

385 390 395 400

Gly Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg

405 410 415

Tyr Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly

420 425 430

Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr

435 440 445

Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu

450 455 460

Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu

465 470 475 480

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

485 490 495

Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser

500 505 510

Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu

515 520 525

Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro

530 535 540

Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu

545 550 555

<210> 71

<211> 566

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 71

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

1 5 10 15

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

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

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

Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr
210 215 220
Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys
225 230 235 240
Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg
245 250 255
Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp

260 265 270

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

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

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

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

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
515 520 525

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
530 535 540
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
545 550 555 560
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
565

<210> 72
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 72
Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 73
<211> 431
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 73

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

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

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

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

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

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

355 360 365

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

<210> 74
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 74
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asp
20 25 30
Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu Ile
35 40 45

Arg Ser Ala Ser Ser Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 75
<211> 558
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 75
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

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

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Gly
210 215 220
Gly Gly Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro Pro Val
225 230 235 240
Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His Phe Ser Thr
245 250 255
Met Pro Thr Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu Phe Leu Arg Ile
260 265 270

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

Arg Cys Asp Val Met Tyr Gly Ile Glu Asp Thr Gln Asp Thr Val Ser
340 345 350
Leu Thr Val Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg

355 360 365

Tyr Thr Leu Asn Phe Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly

370 375 380

Ala Val Ile Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly

385 390 395 400

Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr

405 410 415

Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys

420 425 430

Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp

435 440 445

Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val

500 505 510

Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu

515 520 525

Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro

530 535 540

Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu

545 550 555

<210> 76

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 76

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 77

<211> 565

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 77

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
210 215 220

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

225 230 235 240

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

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

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

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

Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val Gly
485 490 495

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

Phe Lys Pro Lys Glu
565

<210> 78
<211> 379
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 78
Gly Cys Pro Arg Ile Leu Met Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly Gly Ser Gly Ser
20 25 30
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser Pro
35 40 45

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

100 105 110

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

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

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

Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala
305 310 315 320
Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly
325 330 335
Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe
340 345 350

Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu
355 360 365

Gly Asn Ser His His His His His His His His
370 375

<210> 79
<211> 385
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 79
Gly Cys Pro Arg Ile Leu Met Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly Glu Asn Leu Tyr
20 25 30
Phe Gln Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Leu His Lys Val

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

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

165 170 175

His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn Phe Glu Ala Ala

180 185 190

Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala Thr Pro Glu Gln

195 200 205

Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp

210 215 220

Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly

225 230 235 240

Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe

245 250 255

Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu

260 265 270

Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu

275 280 285

Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val

290 295 300

Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr

305 310 315 320

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

325 330 335

Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe

340 345 350

Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr

355 360 365

Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His His His His His His His

370 375 380

His

385

<210> 80

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 80

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

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

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

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

405 410

<210> 81
<211> 419
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 81
Met Gly Gly Thr Ala Ala Arg Leu Gly Ala Val Ile Leu Phe Val Val
1 5 10 15

Ile Val Gly Leu His Gly Val Arg His His His His His His His His
20 25 30
Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Ser Leu His Lys Val Lys Val Gly
35 40 45

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

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

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

Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro
245 250 255
Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp

260 265 270

Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala

275 280 285

Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val Gly Glu Leu

290 295 300

Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu

305 310 315 320

Ser Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys

325 330 335

Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln

340 345 350

Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys

355 360 365

Pro Lys Glu Gly Asn Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

370 375 380

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Cys Pro Arg Ile Leu Met Arg Cys

385 390 395 400

Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly

405 410 415

Phe Cys Gly

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 82

Arg Lys Cys Leu Ile Pro Phe Gly Asn Ser Val Thr

1 5 10

<210> 83

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 83

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 84

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 85

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

1 5 10 15

<210> 86

<211> 201

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (48)..(48)

<223> X is Asp or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (59)..(59)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (65)..(65)

<223> X is Arg or Ser

<220><221

> misc_feature

<222> (73)..(73)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (81)..(81)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (111)..(111)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (112)..(112)

<223> X is F or Y

<220><221> misc_feature

<222> (146)..(146)

<223> X is Asp or Ser

<220><221> misc_feature

<222> (147)..(147)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (157)..(157)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (163)..(163)

<223> X is any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (176)..(178)

<223> X is any amino acid

<400> 86

Val Val Phe His Tyr Arg Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Thr Leu Asn Phe
1 5 10 15

Glu Ala Ala Gln Lys Ala Cys Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala Thr
20 25 30

Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Xaa
35 40 45

Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Xaa Pro Ile Arg Ala Pro
50 55 60
Xaa Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Xaa Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr
65 70 75 80
Xaa Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val
85 90 95
Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Xaa Xaa
100 105 110

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

Xaa Xaa Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe
180 185 190
Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu
195 200

<210> 87
<211> 24
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<220><221> misc_feature
<222> (13)..(24)
<223> Residues may be present or absent.
<400> 87
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20

<210> 88

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(25)

<223> residues may be absent

<400> 88

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

20 25

<210> 89

<211> 27

<212> PRT

<213

> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (13)..(27)

<223> residues may be absent

<400> 89

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

20 25

<210> 90

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(28)

<223> residues may be absent

<400> 90

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
20 25

<210> 91

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 91

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 92

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 92

Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15

Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 93

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 93

Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Ser

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

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

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

210 215 220
Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile
225 230 235 240
Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly

245 250 255

Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr

260 265 270

Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp Ala Ser Val Arg His

325 330 335

Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val

340 345 350

Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp

355 360 365

Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys Glu Gly Asn Ser His

370 375 380

His His His His His His His

385 390

<210> 94

<211> 391

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 94

His His His His His His His His Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys

20 25 30

His Phe Ser Thr Met Pro Thr Leu Pro Pro Ser Tyr Asn Thr Ser Glu

35 40 45

Phe Leu Arg Ile Lys Trp Ser Lys Ile Glu Val Asp Lys Asn Gly Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Asp Thr Val Ser Leu Thr Val Asp Gly Val Val Phe His Tyr Arg Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Asp Val Gly Ala Val Ile Ala Thr Pro Glu Gln Leu Phe Ala Ala

165 170 175

Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp Leu Ala Asp Gln

180 185 190

Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly Cys Tyr Gly Asp

195 200 205

Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe Arg Ser Pro Gln

210 215 220

Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val

225 230 235 240

Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys

245 250 255

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

260 265 270

Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser

275 280 285

Asp Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly

290 295 300

Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr
305 310 315 320
Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro

325 330 335
Lys Glu Gly Asn Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
340 345 350
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro
355 360 365
Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys
370 375 380
Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
385 390

<210> 95
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 95
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15
Gly Ser Gly Ser
20
<210> 96
<211> 150
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 96
Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly Val Phe His
1 5 10 15

Val Glu Lys Asn Gly Arg Ser Ser Ile Ser Arg Thr Glu Ala Ala Asp
20 25 30

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

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

Asn Pro Glu Asp Ile Tyr
145 150
<210> 97
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 97
Glu Glu Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gly Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ala Gly Ile Thr Pro Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Gln Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Phe Val Phe Phe Leu Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Pro
100 105 110

Gly Val Glu Val Val Val Ser Ser
115 120

<210> 98
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 98

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

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

<210> 99
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 99

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 100
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 100
Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Gly Lys Glu Arg Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser His Glu Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Tyr His Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 101
<211> 224

<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 101

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

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

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

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

<210> 102

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 102

Ala Ile Tyr Met His Gln Glu Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Gly Ser Tyr Trp Leu Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Gly Lys Glu Arg Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser His Glu Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Tyr His Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly His Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 103

<211> 228

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 103

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr

225

<210> 104

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 104

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Gly Ala Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 105

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 105

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr

20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Arg Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 106

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Gly Ala Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 107

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 107

Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Tyr His

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

85 90 95
Arg Pro Gly Asp Gly Ala Leu Ser Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 108
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 108

Ala Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Ala Ala Val
1 5 10 15
Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr

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

Cys Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Tyr Val Ser Gly

85 90 95

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

100 105 110

<210> 109

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 109

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Val Gly Phe Ile Asp Pro Gln Asn Asp Pro Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Gly Asn His Asn Ser Gly Trp Gly Leu Asn Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 110

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 110

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ile Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Lys Ile His Ser Trp

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

85 90 95
Asn Gly Ala Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
<210> 111
<211> 115
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 111
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 112
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 112

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asp
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 113
<211> 97
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic polypeptide
<400> 113

Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Ile Ser Gly Lys Tyr Tyr Leu Thr Tyr

1 5 10 15

Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala Thr

20 25 30

Tyr Lys Gln Leu Leu Ala Ala Gln Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala

35 40 45

Ala Gly Trp Met Ala Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro

50 55 60

Gly Pro Asn Cys Gly Phe Gly Lys Thr Gly Ile Ile Asp Tyr Gly Ile

65 70 75 80

Arg Leu Asn Arg Ser Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His

85 90 95

Ala

<210> 114

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr His Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 115

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 115

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 116

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 116

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Asp Ser

20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Gly Val Asp Pro Glu Thr Glu Gly Ala Ala Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Gly Tyr Asp Tyr Asp Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 117

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 117

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Glu Phe Ile

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Ser

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Ala Pro Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 118

<211> 561

<212

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 118

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

50 55 60
Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Gly Tyr Asp Tyr Asp Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Leu His Lys Val Lys Val Gly Lys Ser
225 230 235 240
Pro Pro Val Arg Gly Ser Leu Ser Gly Lys Val Ser Leu Pro Cys His

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

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

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

435 440 445

Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu Asp Gly Asp Val Phe

450 455 460

His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu Glu Ala Ala Lys Glu

465 470 475 480

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

485 490 495

Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr Gly Trp Leu Ser Asp

500 505 510

Ala Ser Val Arg His Pro Val Thr Val Ala Arg Ala Gln Cys Gly Gly

515 520 525

Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe Glu Asn Gln Thr Gly

530 535 540

Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr Cys Phe Lys Pro Lys

545 550 555 560

Glu

<210> 119

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 119

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Glu Phe Ile

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Leu Ile Ser

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Ala Pro Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr

115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 120

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 120

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Phe Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Asn Tyr Tyr Gly Arg Ser His Val Gly Tyr Phe Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys

210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

225 230

<210> 121

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 121

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ala Ser Val Asp Ser Tyr

20 25 30

Gly Asn Ser Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asp Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Tyr

85 90 95

Ala Asp Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 122

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 122

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

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

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160
Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

245 250 255

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 123
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 123

Met Phe Ile Asn Ile Lys Ser Ile Leu Trp Met Cys Ser Thr Leu Ile
1 5 10 15

Val Thr His Ala
20

<210> 124

<211> 566

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Phe Ala Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Val Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Thr Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Phe Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asn Tyr Tyr Gly Arg Ser His Val Gly Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

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

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

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

385 390 395 400
Leu Phe Ala Ala Tyr Glu Asp Gly Phe Glu Gln Cys Asp Ala Gly Trp

405 410 415

Leu Ala Asp Gln Thr Val Arg Tyr Pro Ile Arg Ala Pro Arg Val Gly

420 425 430

Cys Tyr Gly Asp Lys Met Gly Lys Ala Gly Val Arg Thr Tyr Gly Phe

435 440 445

Arg Ser Pro Gln Glu Thr Tyr Asp Val Tyr Cys Tyr Val Asp His Leu

450 455 460

Asp Gly Asp Val Phe His Leu Thr Val Pro Ser Lys Phe Thr Phe Glu

465 470 475 480

Glu Ala Ala Lys Glu Cys Glu Asn Gln Asp Ala Arg Leu Ala Thr Val

485 490 495

Gly Glu Leu Gln Ala Ala Trp Arg Asn Gly Phe Asp Gln Cys Asp Tyr

500 505 510

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

515 520 525

Ala Gln Cys Gly Gly Gly Leu Leu Gly Val Arg Thr Leu Tyr Arg Phe

530 535 540

Glu Asn Gln Thr Gly Phe Pro Pro Pro Asp Ser Arg Phe Asp Ala Tyr

545 550 555 560

Cys Phe Lys Pro Lys Glu

565