



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0097061
(43) 공개일자 2023년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/47 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) C12N 15/62 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/4711 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7016378
(22) 출원일자(국제) 2021년11월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년05월15일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/072168
(87) 국제공개번호 WO 2022/094630
국제공개일자 2022년05월05일
(30) 우선권주장
63/108,799 2020년11월02일 미국(US)
63/153,777 2021년02월25일 미국(US)

(71) 출원인
아트라리스, 인크.
미국 94133 캘리포니아 샌프란시스코 프란시스코
스트리트 50 스위트 450
유니버시티 오브 테네시 리서치 파운데이션
미국 37902 테네시주 녹스빌 유틸리티 타워 961에이
웨스트 서밋 힐 드라이브 400
(72) 발명자
폰즈, 자우메
미국 94133 캘리포니아 샌프란시스코 프란시스코
스트리트 50 스위트 450 아트라리스, 인크. 내
월, 조나단 에스.
미국 37902 테네시 녹스빌 더블유 서밋 힐 드라이브
400 유틸리티 타워 961에이 유니버시티 오브 테네
시 리서치 파운데이션 내
(74) 대리인
양영준, 이상남

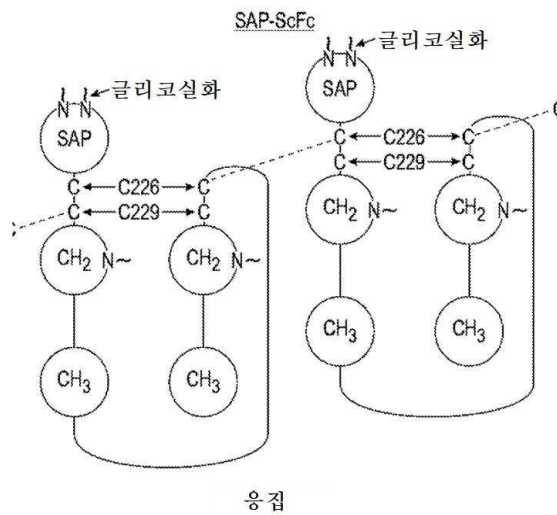
전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 발명의 명칭 SAP FC 융합 단백질 및 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 SAP-Fc 융합 단백질 및 아밀로이드 관련 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 25/28 (2018.01)

C12N 15/62 (2013.01)

C12N 15/85 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

N-말단에서 C-말단으로 SAP-Fc1-L1-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, Fc1은 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이며, Fc2는 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제2 Fc 도메인 서열이고, SAP는 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질이며, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및/또는 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및 C229에 아미노산 치환을 포함하고, 선택적으로 C226S 및 C229S를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 융합 단백질은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 23, 또는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 융합 단백질은 C-말단 라이신이 없는 서열번호 1, C-말단 라이신이 없는 서열번호 2, C-말단 라이신이 없는 서열번호 3, C-말단 라이신이 없는 서열번호 4, C-말단 라이신이 없는 서열번호 23, 또는 C-말단 라이신이 없는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 융합 단백질은 TNT146, TNT151, TNT155, TNT156, TNT170, 또는 TNT171의 폴리펩타이드 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 6

제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질로서, 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인(Fc1)의 N-말단에 연결된 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인(Fc2)을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 낚(knob) 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 홈(hole) 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 낚 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 홈 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 8, 또는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6 또는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 융합 단백질은 표 2에 따른 TNT148, TNT152, TNT157, TNT158, TNT147, TNT159, TNT160, 또는 TNT161의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 12

제6항에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 홀 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 낚 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 13

제6항에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 14, 또는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12 또는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 16

제1항 또는 제6항에 있어서, 상기 인간 SAP는, 선택적으로 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 야생형 SAP인, 융합 단백질.

청구항 17

제1항 또는 제6항에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 19

제6항, 또는 제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및/또는 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 20

제19항에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 21

제1항, 제2항, 제6항, 또는 제16항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및/또는 C229S를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 22

제21항에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및 C229S를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 23

제1항, 제2항, 제6항, 또는 제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.

청구항 24

제23항에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 26

제1항, 제2항, 제6항, 또는 제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.

청구항 27

N-말단에서 C-말단으로 Fc1-L1-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, Fc1은 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이고, Fc2는 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제2 Fc 도메인 서열이며, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및/또는 C229S를 포함하고/하거나, Fc1 및 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에서 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 융합 단백질은 상기 융합 단백질의 N-말단에 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 더 포함하는, 융합 단백질.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 인간 SAP는 야생형 SAP이고, 선택적으로 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열인, 융합 단백질.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 단백질은 오량체 또는 십량체를 형성하는, 융합 단백질.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fc1 및 Fc2는 인간 Fc 도메인인, 융합 단백질.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Fc1 및 Fc2는 인간 IgG1 Fc 도메인인, 융합 단백질.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 융합 단백질은 하나 이상의 아미노산 치환이 결여된 융합 단백질과 비교하여 감소된 응집을 갖는, 융합 단백질.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 융합 단백질, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 융합 단백질의 적어도 50%는 오량체 및/또는 십량체인, 약제학적 조성물.

청구항 38

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산.

청구항 39

제38항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 40

제38항의 핵산 또는 제39항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포인, 숙주 세포.

청구항 42

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 생산하는 방법으로서, 상기 융합 단백질을 발현하는 조건 하에서 상기 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포인, 방법.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 상기 숙주 세포는 SAP 성분 단백질을 글리코실화하지 않는, 방법.

청구항 45

개체에서 아밀로이드 질환을 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제35항 중 어느 한 항의 융합 단백질을 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 46

개체에서 아밀로이드 질환을 치료하는 방법으로서, 제42항 내지 제44항 중 어느 한 항의 방법에 의해 생산된 융합 단백질을 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서, 상기 아밀로이드 질환은 II형 당뇨병, 및 알츠하이머병의 AA 아밀로이드증, AL 아밀로이드증, AH 아밀로이드증, A β 아밀로이드증, ATTR 아밀로이드증, ALect2 아밀로이드증, IAPP 아밀로이드증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 48

제42항 내지 제45항 중 어느 한 항의 방법에 의해 생산된 SAP-Fc 융합 단백질.

청구항 49

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 인간인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 11월 2일자로 출원된 미국 가출원 제63/108,799호, 및 2021년 2월 25일자로 출원된 미국 가출원 제63/153,777호에 대한 우선권을 주장하며, 이의 각각의 내용은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된다.

[0003] ASCII 텍스트 파일 상의 서열 목록의 제출

[0004] ASCII 텍스트 파일 상의 다음 제출물의 내용은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 원용된다: 서열목록의 컴퓨터로 판독 가능한 형태(CRF)(파일명: 165992000200SEQLIST.TXT, 기록 날짜: 2021년 10월 28일, 크기: 91,399

바이트).

[0005] 분야

[0006] 본 발명은 SAP-Fc 융합 단백질 및 SAP-Fc 융합 단백질을 투여함으로써 아밀로이드-관련 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 아밀로이드증은 알츠하이머병, 전염성 해면상 뇌병증, 헌팅턴병, 또는 진성당뇨병 제2형과 같은 다른 질환을 포함하는 형태이상 단백질 질환(conformational protein disease)의 그룹에 속하는 광범위한 질환 그룹이다.

[0008] 아밀로이드증은 조직에서 비정상적인 원섬유(fibrillar) 형태를 갖는 불용성 단백질 침착물의 존재를 특징으로 하는 희귀 질환이다. 대부분 원인은 혈청 전구체 단백질의 단편이다. 다수의 기관이 "아밀로이드 물질"이라고 하는 이러한 세포의 침착물에 의해 영향을 받을 수 있다. 아밀로이드 침착물에 의해 영향을 받는 주요 기관은 신장, 심장, 소화관, 간, 피부, 말초 신경 및 눈이다. 이러한 질환에 의해 영향을 받는 기관은 보통 상당한 부피를 가진다. 궁극적으로, 아밀로이드증은 중추 신경계뿐만 아니라, 모든 기관에 영향을 미칠 수 있으므로, 매우 다양한 증상이 있다.

[0009] 아밀로이드증을 치료하기 위한 다양한 접근법이 시도되었다. 예를 들어, 글루코코르티코이드(덱사메타손)의 투여 및 항유사분열제에 의한 화학요법 치료. 새로운 항염증제(항-TNF, 항-IL1)의 효능은 현재 임상적으로 평가되고 있다. 그러나, 지금은 침착물을 더 빨리 제거할 수 있는 특정 치료법이 없기 때문에, 이러한 아밀로이드증은 치료가 불가능하고 치명적이다. DMSO 및 콜키신뿐만 아니라, I-Dox 안트라사이클린도 또한 시도되었다.

[0010] 항-SAP 항체는 아밀로이드증에 대해 개발 중인 또 다른 치료제이다. EOD001은 아밀로이드 아밀로이드 AL 또는 AA를 특이적으로 표적화하는 단클론성 항체이다. W02015063728은 아밀로이드증을 치료하기 위한 SAP-Fc 항체 융합체를 개시한다.

[0011] 따라서, 아밀로이드증 및 아밀로이드-관련 질환에 대한 효과적인 치료제가 필요하다.

발명의 내용

[0012] 일 양태에서, 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 knob 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 hole 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 knob 돌연변이를 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 hole 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 8, 또는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6 또는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 hole 돌연변이를 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 knob 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 14, 또는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12 또는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 위치 C226 또는 C229에 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 또는 C229S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따른다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따른다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 또는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질은 이량체를 형성한다.

[0013] 또 다른 양태에서, N-말단에서 C-말단으로, SAP-힌지 1-Fc1-L1-힌지2-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 SAP는 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질이고, 힌지 1은 제1 힌지 서열이며, Fc1은 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이며, 힌지 2는 제2 힌지 서열이고, Fc2는 제2 Fc

도메인 서열이다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 또는 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 위치 C226 또는 C229에 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 또는 C229S를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따른다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따른다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 또는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 융합 단백질은 올량체를 형성한다.

[0014] 또 다른 양태에서, 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에서 제공된다.

[0015] 또 다른 양태에서, 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 인코딩하는 핵산이 본 명세서에서 제공된다.

[0016] 또 다른 양태에서, 본 명세서에 기재된 핵산을 포함하는 숙주 세포가 본 명세서에서 제공된다.

[0017] 또 다른 양태에서, 융합 단백질을 발현하는 조건 하에서 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 생산하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 SAP 성분 단백질을 글리코실화하지 않는다.

[0018] 또 다른 양태에서, 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 아밀로이드 질환을 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 질환은 전신성 아밀로이드증을 포함한다.

[0019] 또 다른 양태에서, N-말단에서 C-말단으로, 힌지 1-Fc1-L1-힌지2-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 힌지 1은 제1 힌지 서열이고, Fc1은 제1 Fc 도메인 서열이며, L1은 링커이고, 힌지 2는 제2 힌지 서열이며, Fc2는 제2 Fc 도메인 서열이고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 또는 C229S를 포함하고/하거나, 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따른다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 SAP-scFc 작제물을 나타낸다.

도 2A는 탈글리코실화된 SAP 돌연변이체를 나타낸다. 도 2B는 좁 및 홀 Fc 영역을 나타낸다. 도 2C는 FcRN 돌연변이가 있는 Fc를 나타낸다.

도 3A는 SAP-scFc 작제물 TNT 146을 나타낸다. 도 3B는 SAP-scFc 작제물 TNT 151을 나타낸다. 도 3C는 SAP-scFc 작제물 TNT 155을 나타낸다. 도 3D는 SAP-scFc 작제물 TNT156을 나타낸다.

도 4A는 SAP-Fc 작제물 TNT 148을 나타낸다. 도 4B는 SAP-Fc 작제물 TNT 152를 나타낸다. 도 4C는 SAP-Fc 작제물 TNT 157을 나타낸다. 도 4D는 SAP-Fc 작제물 TNT158을 나타낸다.

도 5A는 SAP-Fc 작제물 TNT147을 나타낸다. 도 5B는 SAP-Fc 작제물 TNT 159를 나타낸다. 도 5C는 SAP-Fc 작제물 TNT 160을 나타낸다. 도 5D는 SAP-Fc 작제물 TNT 161을 나타낸다.

도 6A 및 도 6B는 정제 단계 후 환원 및 비-환원 SAP-Fc의 SDA-PAGE 분석 결과를 나타낸다. "1"로 표시된 레인은 정제 생성물의 환원된 샘플을 나타내고, "2"로 표시된 레인은 정제 생성물의 비-환원 샘플을 나타내며, "M"으로 표시된 레인은 단백질 마커(ALL BLUE PRECISION PLUS, BIO-RAD®, Cat#161-0373)를 나타낸다. 화살표는 단량체("①"로 표시됨), 이량체("②"로 표시됨), 및 다른 올리고머를 나타낸다. 도 6A는 단백질 A 친화성 정제 단계 후 환원 및 비-환원 SAP-Fc의 SDA-PAGE 분석 결과를 나타낸다. 도 6B는 1700 ml 크기-배제 크로마토그래피(SEC) 정제 단계 후 환원 및 비-환원 SAP-Fc의 SDA-PAGE 분석 결과를 나타낸다.

도 7A는 SEC 크로마토그램의 주요 용출 피크를 나타낸다. 샘플 분획이 x-축에 표시되어 있다. 도 7B는 이러한 SEC 정제 단계로부터의 샘플 분획의 비-환원 SDS-PAGE 분석 결과를 나타낸다. 도 7C는 분획 "2B1"의 비-환원 미

세유체 전기영동 분석 결과를 나타낸다. 도 7D는 분획 "2B1"의 환원 미세유체 전기영동 분석 결과를 나타낸다. 도 7E는 분획 "2A9"의 크기 배제 크로마토그래피 다각도 광 산란(SEC-MALS) 분석 결과를 나타낸다. 도 7F는 분획 "2A9"의 SEC-HPLC 분석 결과를 나타낸다. 도 7G는 분획 "2A9"의 탈글리코실화 질량 분석 결과를 나타낸다.

도 8A는 합성 rV λ 6Wi1 피브릴에 결합하는 hIgG(대조군), c11-1F4, TNT146(293), 및 TNT147(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 도 8B는 합성 rV λ 6Wi1 피브릴에 결합하는 hIgG(대조군), TNT146(CHO), TNT148(CHO), TNT151(293) 및 TNT152(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다.

도 9A 및 도 9B는 SHI AL λ 및 Per125 wtATTR에 결합하는 hIgG(대조군), TNT146(293), 및 TNT147(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다.

도 10A는 rV λ 6Wi1 피브릴, Per125 wtATTR 추출물, Ken ATTR 추출물, SHI AL λ 간 추출물 및 TAL AL κ 간 추출물에 결합하는 IgG1의 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 도 10B는 rV λ 6Wi1 피브릴, Per125 wtATTR 추출물, Ken ATTR 추출물, SHI AL λ 간 추출물 및 TAL AL κ 간 추출물에 결합하는 TNT146(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 도 10C는 rV λ 6Wi1 피브릴, Per125 wtATTR 추출물, Ken ATTR 추출물, SHI AL λ 간 추출물 및 TAL AL κ 간 추출물에 결합하는 TNT148(CHO)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 도 10D는 rV λ 6Wi1 피브릴, Per125 wtATTR 추출물, Ken ATTR 추출물, SHI AL λ 간 추출물 및 TAL AL κ 간 추출물에 결합하는 TNT151(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 도 10E는 rV λ 6Wi1 피브릴, Per125 wtATTR 추출물, Ken ATTR 추출물, SHI AL λ 간 추출물 및 TAL AL κ 간 추출물에 결합하는 TNT152(293)의 ELISA 검정 결과를 나타낸다.

도 11A는 10 μ g SAP-Fc 146을 주사한 AA 마우스에서 콩고 레드(Congo red)로 염색된 아밀로이드 침착물(좌측 칼럼) 및 ¹²⁵I 표지 TNT146(293)의 자기방사법에 의해 표시된 아밀로이드 침착물(우측 칼럼)을 나타낸다. 도 11B는 10 μ g SAP-Fc 147을 주사한 AA 마우스에서 콩고 레드로 염색된 아밀로이드 침착물(좌측 칼럼) 및 ¹²⁵I 표지 TNT147(293)의 자기방사법에 의해 표시된 아밀로이드 침착물(우측 칼럼)을 나타낸다. 도 11C는 500 μ g SAP-Fc 147을 주사한 AA 마우스의 콩고 레드로 염색된 아밀로이드 침착물(제1 및 제3 칼럼) 및 항-인간 Fc 면역염색으로 염색된 아밀로이드 침착물(제2 및 제4 칼럼)을 나타낸다.

도 12A 및 도 12B는 AA 마우스 대 야생형(WT) 마우스에서 SAP-Fc 생체분포의 비교를 나타낸다. 도 12A는 AA 마우스 대 야생형(WT) 마우스에서 SAP-Fc 146 생체분포의 비교를 나타낸다. 도 12B는 AA 마우스 대 야생형(WT) 마우스에서 SAP-Fc 147 생체분포의 비교를 나타낸다.

도 13은 TNT146(293), TNT147(293), TNT146(CHO), TNT148(HEK), TNT148(CHO), TNT151(293), TNT151(CHO), TNT152(293), 및 TNT152(CHO)이 SEC 크로마토그램을 나타낸다. 하단의 화살표는 150 kDa, 200 kDa, 443 kDa 및 669 kDa 분자량 표준물에 대한 용출 시간을 나타낸다.

도 14A는 AA 마우스에서 TNT151(293)의 생체분포를 나타낸다. 도 14B는 AA 마우스에서 TNT152(293)의 생체분포를 나타낸다. 도 14C는 AA 마우스에서 TNT148(293)의 생체분포를 나타낸다.

도 15는 처리하지 않은(THP1 대조군), hIgG1(hIgG1 대조군), mlgp5(뮤린 항체-펩타이드 융합체), SAP-Fc TNT146(CHO), TNT147(293)(TNT147로 표지됨), TNT148(CHO), TNT151(CHO) 및 TNT152(CHO)로 처리한 THP1 세포에 의한 rV λ 6Wi1 피브릴의 식세포작용을 나타낸다.

도 16A 및 도 16B는 정제된 SAP-Fc 구성의 SDS PAGE 겔을 나타낸다. 도 16A에서 레인 1은 비-환원 조건 하의 TNT146이고, 레인 2는 비-환원 조건 하의 TNT151이며, 레인 3은 비-환원 조건 하의 TNT155이고, 레인 4는 환원 조건 하의 TNT 146이며, 레인 5는 환원 조건 하의 TNT151이고, 레인 6은 환원 조건 하의 TNT 155이다. 도 16B에서 레인 a는 비-환원 조건 하의 TNT147이고, 레인 2b는 비-환원 조건 하의 TNT148이며, 레인 c는 비-환원 조건 하의 TNT160이고, 레인 d는 환원 조건 하의 TNT147이며, 레인 e는 환원 조건 하의 TNT148이고, 레인 f는 환원 조건 하의 TNT160이다.

도 17A 및 도 17B는 피하 인간 AL λ 아밀로이드를 갖는 마우스의 광학 영상으로부터 pHrodo 적색 형광 방출의 정량화 결과를 나타낸다. 도 17A는 TNT146 아밀로이드를 갖는 마우스 및 대조군 마우스에서 pHrodo 적색 형광의 변화(평균 $\pm$ SD)를 나타낸다. 도 17B는 TNT146 처리 아밀로이드에서 1일째 pHrodo 적색 방출의 증가를 나타내는 플롯이다.

도 18A 및 도 18B는 주사 후 14일째에 pHrodo 적색-표지 인간 AL λ 피하 아밀로이드를 갖는 마우스의 광학 영상화를 나타낸다. 화살표는 표지된 아밀로이드의 위치를 표시한다. 도 18A는 대조군 마우스에 대한 결과를 나타낸다.

다. 도 18B는 SAP-Fc 융합 단백질로 처리한 마우스에 대한 결과를 나타낸다.

도 19는 기니피그 보체("C"로 표시됨)의 존재 하에 rVΛW1 AL 아밀로이드 피브릴의 식세포작용의 정량화 결과를 나타낸다.

도 20A 내지 도 20D는 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 인간 SAP와 함께 사전 인큐베이션한 후 아밀로이드 추출물 및 합성 피브릴에 대한 SAP-Fc 융합체의 결합을 비교한 것을 나타낸다.

도 21은 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 인간 SAP의 존재 하에 아밀로이드 추출물에 대한 SAP-Fc 융합체의 결합을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 높은 친화도로 아밀로이드에 결합하고 식세포작용을 유도할 수 있는 SAP-Fc 융합 단백질이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 Fc 영역에서 이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 변형을 가진다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 SAP-Fc 융합체와 비교하여 증가된 안정성을 가진다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 안정적인 비-공유 오량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 안정적인 비-공유 십량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 SAP-Fc 융합 단백질은 감소된 응집을 가진다.

[0022] SAP-Fc 융합 단백질

표 1

SAP-Fc 융합체 성분의 서열		
설명	서열	서열번호
IgG1 Fc (홀)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	6
IgG1 Fc (홀, FcRn KO)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNAITQKSLSLSPGK	9

[0023]

IgG1 Fc (중)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	12
IgG1 Fc (중; FcRn KO)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK	15
SAP	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTITPLEKPLQNFTLC FRAYSDLSRAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVEIKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWV	17
한지 M IgG1 Fc	EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	18
GS 링커	GGGGSGGGSGGGGS	19
SAP (탈글리코실화 N32S, N110S)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTITPLEKPLQSFTLC FRAYSDLSRAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVEIKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWV	20
한지 M IgG1 Fc (FcRn KO)	EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK	21

[0024]

표 2

SAP-Fc 융합체 서열.		
설명	서열	서열번호
TNT146 SAP-힌지 M IgG1 Fc-GS 링커-힌지 M IgG1 Fc	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQNFTLC FRAYSDSLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQP KIVLGQE QDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVHKPLVWVEPKSSDKT HTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGGSEPK SSDKTHTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	1
TNT151 SAP (탈글리 코실화 N32S, N110S)- 힌지 M IgG1 Fc- GS 링커-힌지 M IgG1 Fc	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQSFTLC FRAYSDSLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQP KIVLGQE QDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVHKPLVWVEPKSSDKT HTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGSGGGGSEPK SSDKTHTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	2
TNT155 (TNT146- FcRn KO) SAP-힌지 M IgG1 Fc (FcRn)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQNFTLC FRAYSDSLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQP KIVLGQE QDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVHKPLVWVEPKSSDKT	3

[0025]

KO)-GS 링커- 힌지 M IgG1 Fc (FcRn KO)	HTSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNAYTQKSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSE KSSDKTHTSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMA SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FCFSVMHEALHNAYTQKSLSPGK	
TNT156 (TNT151- FcRn KO) SAP (탈글리 코실화 N32S, N110S)- 힌지 M IgG1 Fc (FcRn KO)-GS 링커-힌지 M IgG1 Fc (FcRn KO)	HTDLSGKVFVPRESVTDHVNLTITPLEKPLQSFTLC FRAYSDLSRAYSLSFYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPQIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNIEIRGYVVKPLVWVEPKSSDKT HTSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNAYTQKSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSE KSSDKTHTSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMA SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FCFSVMHEALHNAYTQKSLSPGK	4
TNT148 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (놈)	HTDLSGKVFVPRESVTDHVNLTITPLEKPLQNFTLC FRAYSDLSRAYSLSFYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPQIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNIEIRGYVVKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNHYTQKSLSPGK	5
TNT148	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH	6

[0026]

폴리펩타이드 2: 스텀 피 (Stumpy) IgG1 Fc (홀)	NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
TNT152 폴리펩타이드 1: SAP (탈글리 코실화 N32S, N110S)- IgG1 Fc (늑)	HTDLSGKVFVPRESVTDHVNLIPTLEKPLQSFTLC FRAYSDLSRAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNIEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK	7
TNT152 폴리펩타이드 2: 스텀 피 IgG1 Fc (홀)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	6
TNT157 (TNT148- FcRn KO) 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (늑; FcRn KO)	HTDLSGKVFVPRESVTDHVNLIPTLEKPLQNFTLC FRAYSDLSRAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNIEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNAYTQKSLSLSPGK	8
TNT157 (TNT148- FcRn KO) 폴리펩타이드 2: 스텀 피 IgG1 Fc	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK	9

[0027]

(폴; FcRn KO)		
TNT158 (TNT152 - FcRn KO) 폴리펩타이드 1: SAP (탈글리 코실화 N32S, N110S)-IgG1 Fc (폴; FcRn KO)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQSFTLC FRAYSDDLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNYEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNAYTQKSLSPGK	10
TNT158 (TNT152 - FcRn KO) 폴리펩타이드 2: 스템 피-IgG1 Fc (폴; FcRn KO)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNAYTQKSLSPGK	9
TNT147 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (폴)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQNFTLC FRAYSDDLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILSAYQGT PLPANILDWQALNYEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV CVVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSPGK	11
TNT147 폴리펩타이드 2: 스템 피 IgG1 Fc (폴)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK	12
TNT159 (TNT147 탈글리 코실화)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLTIPLEKPLQSFTLC FRAYSDDLRAYSLSFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF	13

[0028]

폴리펩타이드 1: SAP (탈글리 코실화 N32S 및 N110S)-IgG1 Fc (홀)	WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LSDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	
TNT159 (TNT147 탈글리 코실화) 폴리펩타이드 2: 스텝 피 IgG1 Fc (홀)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	12
TNT160 (TNT147- FcRn KO) 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (홀; FcRn KO)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLIPTLEKPLQNFTLC FRAYSDLRSAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVEIKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNAYTQKSLSLSPGK	14
TNT160 (TNT147- FcRn KO) 폴리펩타이드 2: 스텝 피 IgG1 Fc (홀; FcRn KO)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNAYTQKSLSLSPGK	15
TNT161 (TNT147 탈글리 코실화- FcRn KO) 폴리펩타이드 1: SAP (탈글리 코실화)	HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLIPTLEKPLQSFTLC FRAYSDLRSAYSLFSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVEIKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WISGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR	16

[0029]

N32S 및 N110S)-IgG1 Fc (폴; FcRn KO)	EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHE ALHNAYTQKSLSLSPGK	
TNT161 (TNT147 탈글리코실화- FcRn KO) 폴리펩타이드 2: 스텝 1 IgG1 Fc (폴; FcRn KO)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MASRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMSHEALHNAYTQKSLSLSPGK	15
SAP-scFc	H TDLSGKVVFPPRESVTDHVN LITPLEKPLQ NFTLCFRAYSDSLRLSFLSYNTQGRDNEL LVYKERVGEY SLYIGRHKVT SKVIEKFPAP VHICVSWESSGIAEFWING TPLVKKGLRQ GYFVEAQPFI VLGQEQDSYG GKFDQSQSFV GEIGDLYMWDSVLPENILS AYQGTPLPAN ILDWQALNIE IRGYVVIKPLVWVEPKSSDK THTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPETVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMSHEAL HNHYTQKSLS LSPGKGGGGS GGGGSGGGGS EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTPP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSV SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK	22
TNT170 (TNT146 Fc1 FCRN KO) SAP-(IgG1-Fc- 힌지 M) FcRn	HTDLSGKVVFPPRESVTDHVN LITPLEKPLQNFTLC FRAYSDSLRLSFLSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPFI VLGQEQDSYG GKFDQSQSFVGEIGDLYMWDSVLPENILS AYQGT PLPANILDWQALNIEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT	23

[0030]

돌연변이체 -GS 링커 -(IgG1-Fc- 힌지 M)	HTSPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMASRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNAITQKSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSEP KSSDKTHTSPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSPGK	
TNT171 (TNT146 Fc2 FCRN KO) SAP-(IgG1-Fc- 힌지 M)-GS 링커 -(IgG1-Fc- 힌지 M) FcRn 돌연변이체	HTDLSGKVFVPRESVTDHVNITPLEKPLQNFTLC FRAYSDSLRAYSLSYNTQGRDNELLVYKERVGE YSLYIGRHKVTSKVEIKFPAPVHICVSWESSSGIAEF WINGTPLVKKGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYG GKFDRSQSFVGEIGDLYMWDVSLPPENILSAYQGT PLPANILDWQALNVEIRGYVVIKPLVWVEPKSSDKT HTSPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSEP SSDKTHTSPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMAS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNAITQKSLSPGK	24
TNT146A 리더 서열이 포함된 TNT146	MPLLLLLPLLWAGALAHTDLSGKVFVPRESVTD HVNITPLEKPLQNFTLCFRAYSDSLRAYSLSYNT QGRDNELLVYKERVGEYSYIGRHKVTSKVEIKFP APVHICVSWESSSGIAEFWINGTPLVKKGLRQGYF VEAQPKIVLGQEQDSYGGKFDRSQSFVGEIGDLYM WDSVLPENILSAYQGTPLPANILDWQALNVEIRG YVVIKPLVWVEPKSSDKTHTSPSPAPELLGGPSV LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSPGK GGGGSGGGSGGGSGGGSEPSSDKTHTSPSPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK**	25

[0031]

표 3

SAP-Fc 융합 작제물 설명.			
작제물	설명	서열 번호	도면
TNT146	힌지 시스테인 돌연변이가 있는 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP-힌지 (C226S/C229S) - IgG1 Fc - 링커 - 힌지 (C226S/C229S) - IgG1 Fc	1	도 3A
TNT151	힌지 시스테인 돌연변이 및 탈글리코실화 SAP 가 있는 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP (N32S/N110S) - 힌지 (C226S/C229S) - IgG1 Fc - 링커 - 힌지 (C226S/C229S) - IgG1 Fc	2	도 3B
TNT155	힌지 시스테인 돌연변이 및 감소된 FcRn 결합을	3	도 3C

[0032]

	같은 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A) - 링커 - 힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A)		
TNT156	힌지 시스테인 돌연변이, 감소된 FcRn 결합 및 탈글리코실화된 SAP 를 같은 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP (N32S/N110S)-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A) - 링커 - 힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A)	4	도 3D
TNT148	폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (놈) 폴리펩타이드 2: IgG1Fc (홀) 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (T366W) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (T366S/L368A/Y407V)	5, 6	도 4A
TNT152	폴리펩타이드 1: 탈글리코실화 SAP-IgG1Fc (놈) 폴리펩타이드 2: IgG1Fc (홀) 폴리펩타이드 1: SAP (N32S/N110S)-IgG1 Fc (T366W) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (T366S/L368A/Y407V)	7, 6	도 4B
TNT157	폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (놈, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 2: IgG1Fc (홀, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 1: SAP - IgG1 Fc (I253A/H310A/T366W/H435A) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (I253A/H310A/T366S/L368A/Y407V/H435A)	8, 9	도 4C
TNT158	폴리펩타이드 1: 탈글리코실화 SAP-IgG1Fc (놈, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 2: IgG1Fc (홀, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 1: SAP (N32S/N110S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/T366W/H435A) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (I253A/H310A/T366S/L368A/Y407V/H435A)	10, 9	도 4D
TNT147	폴리펩타이드 1: SAP- IgG1Fc (홀) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (놈) 폴리펩타이드 1: SAP - IgG1 Fc (T366S/L368A/Y407V) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (T366W)	11, 12	도 5A

[0033]

TNT159	폴리펩타이드 1: SAP (탈글리코실화)-IgG1Fc (폴) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (놈) 폴리펩타이드 1: SAP (N32S/N110S)-IgG1 Fc (T55S/L368A/Y407V) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (T366W)	13, 12	도 5B
TNT160	폴리펩타이드 1: SAP-IgG1Fc (폴, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (놈, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 1: SAP-IgG1 Fc (I253A/H310A/T366S/L368A/Y407V/H435A) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (I253A/H310A/T366W/H435A)	14, 15	도 5C
TNT161	폴리펩타이드 1: SAP (탈글리코실화)-IgG1Fc (폴, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (놈, 감소된 FcRn 결합) 폴리펩타이드 1: SAP (N32S/N110S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/T366S/L368A/Y407V/H435A) 폴리펩타이드 2: IgG1 Fc (I253A/H310A/T366W/H435A)	16, 15	도 5D
TNT170	제 1 Fc 에 힌지 시스테인 돌연변이 및 감소된 FcRn 결합을 갖는 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A)-링커-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc	23	
TNT171	제 2 Fc 에 힌지 시스테인 돌연변이 및 감소된 FcRn 결합을 갖는 단일 사슬 SAP-Fc 융합 단백질. SAP-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc-링커-힌지 (C226S/C229S)-IgG1 Fc (I253A/H310A/H435A)	24	

[0034]

[0035]

N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함하는 SAP-Fc 융합 단백질이 본 명세서에서 제공된다.

[0036]

일부 실시형태에서, 힌지 서열은 항체 힌지 서열이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 인간 항체 힌지 서열이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 IgG1, IgG2, 또는 IgG4 항체 힌지 서열이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 인간 IgG1 항체 힌지 서열이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 하나 이상의 아미노산 치환이 있는 인간 IgG1 항체 힌지 서열이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 인간 IgG1 항체 힌지 서열이며, 여기서 하나 이상의 시스테인 잔기가 치환되어 있다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열은 인간 IgG1 항체 힌지 서열이며, 여기서 하나 이상의 시스테인 잔기가 세린으로 치환되어 있다.

[0037]

일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 인간 SAP 단백질이다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 단백질은 SAP 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형은 N32S 및 N110S 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 SAP 단백질의 N-말단으로부터 시작한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 단백질은 아미노산 치환 N32S 및 N110S를 포함하며, 넘버링은 SAP 단백질의 N-말단으로부터 시작한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다.

[0038]

일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인은 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인은 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 변형은 이중이량체 SAP-Fc 융합 단백질의 안정성을 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 변형은 고차 공유 다량체화를 방지한다.

[0039]

예를 들어, Fc 도메인의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기는 상이한 Fc 영역 상의 시스테인 잔기 사이의 분자간 이황화 결합의 형성으로 인해 단백질 응집을 유발할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 SAP-Fc 융합 단백질은 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 하나 이상의 변형을 포함하는 Fc 도메인을 포함하여, 시스테인 잔기의 분자간 쌍형성에 의해 유발되는 SAP-Fc 융합 단백질의 응집을 방지하거나 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 하나 이상의 변형은 EU 넘버링에 따른 위치 C226 또는 C229에서 일어난다. 일부 실시형태에서, 치환은 C226S 및 C229S 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 C226S 및 C229S 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제1 및

제2 Fc 도메인은 둘 다 위치 C226 또는 위치 C229의 힌지 영역에서 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치환은 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 11의 세린 잔기 및 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 14의 세린 잔기로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 11에 세린 잔기 및 아미노산 위치 14에 세린 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 둘 다 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 11에 세린 잔기 및 아미노산 위치 14에 세린 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0040] 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 위치 I253, H310, 또는 H435에서 일어나며, 넘버링은 EU 시스템에 따른다. 일부 실시형태에서, 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환 중 하나 이상을 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95, 또는 220에서 일어난다. 일부 실시형태에서, 변형은 서열번호 9에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220 중 하나 이상에 알라닌 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알라닌 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 Fc 도메인은 각각 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95, 또는 220에 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 9, 15, 또는 21의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서 제1 및 제2 Fc 도메인은 각각 위치 I253, H310, 또는 H435에 치환을 포함하며, 넘버링인 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다.

[0041] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 링커를 더 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 제1 Fc 영역의 C-말단을 제2 Fc 영역의 N-말단에 연결한다. 일부 실시형태에서, 링커는 제1 Fc 영역의 C-말단을 제2 Fc의 힌지 영역에 연결한다. 일부 실시형태에서, 링커 펩타이드는 글리신-세린 링커 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 펩타이드는 $(G_4S)_n$ 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, n은 1 내지 10이다. 일부 실시형태에서, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함한다.

[0042] 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 힌지 영역에서 시스테인을 제거하는 하나 이상의 변형 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 하나 이상의 변형은 C226S 및 C229S 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하는 하나 이상의 변형은 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 11의 세린 잔기 및 서열번호 18의 넘버링에 따른 아미노산 위치 14의 세린 잔기로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 9의 넘버링에 따른 38, 95 및 220으로부터 선택되는 아미노산 위치의 알라닌 잔기이다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알라닌 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 힌지 서열을 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함한다.

[0043] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 단일 사슬 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합체는 단일 사슬 Fc를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다.

[0044] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드,

및 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하며, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다.

[0045] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 힌지 서열을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 23의 아미노산 서열을 포함한다.

[0046] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 힌지 서열을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하며, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함한다.

[0047] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0048] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은, N-말단에서 C-말단으로, SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인, 링커 펩타이드, 및 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하며, 링커 펩타이드는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 힌지 서열 및 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 Fc 도메인은 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함한다.

[0049] 또한, 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 SAP-Fc 융합 단백질이 본 명세서에서 제공되며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 인간 SAP 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 하나 이상의 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다.

[0050] 일부 실시형태에서, 인간 SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 성분 단백질은 SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형은 N32S 및 N110S 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 SAP 성분 단백질의 N-말단으로부터 시작한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 성분 단백질은 아미노산 치환 N32S 및 N110S를 포함하며, 넘버링은 SAP 성분 단백질의 N-말단으로부터 시작한다. 일부 실시형태에서, 인간 SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함한다.

[0051] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 Fc 도메인의 이중이량체화를 촉진시키는 하나 이상의 변형을 포함한다

다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하고, 다른 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하며, 여기서 좁 및 홀 돌연변이는, 예를 들어, 이량체에서, 제1 및 제2 Fc 도메인의 회합을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 T366W 아미노산 치환을 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 T366W 및 Y349C 아미노산 치환을 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 S354C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 T366W 및 Y349C 아미노산 치환을 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 E356C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 R409D 및 K370E 아미노산 치환을 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 D399K 및 E357K를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 T366W, R409D, 및 K370E를 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 치환 T366S, L368A, Y407V, D399K 및 E357K를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 아미노산 치환 Y349C 및 T366W를 포함하고, 다른 Fc 도메인은 아미노산 치환 S354C, T366S, L368A, Y407V를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 T366W 아미노산 치환을 포함하고, 다른 Fc 도메인은 아미노산 치환 T366S, L368A 및 Y407V를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 아미노산 치환 Y349C, T366W, R409D, 및 K370E를 포함하고, 다른 Fc 도메인은 아미노산 치환 S354C, T366S, L368A, Y407V, D399K 및 E357K를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 예를 들어, EP1870459A1에 기재된 바와 같이, 당업계에 알려진 추가적인 또는 대안적인 "좁-인-홀(knobs-in-holes)" 기술이 본 개시내용의 SAP-Fc 융합 단백질에 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 좁 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 서열번호 12의 넘버링에 따른 아미노산 위치 151에 트립토판 잔기를 포함하고, 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인은 아미노산 위치 151에 세린 잔기, 아미노산 위치 153에 알리닌 잔기, 및 아미노산 위치 192에 발린 잔기를 포함하며, 여기서 넘버링은 서열번호 6에 따른다.

[0052]

일부 실시형태에서, SAP-fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 좁 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 좁 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 좁 돌연변이는 T366W 아미노산 치환이며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 좁 돌연변이는 서열번호 12의 넘버링에 따른 아미노산 위치 151에 트립토판 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 15의 넘버링에 따른 38, 95 및 220으로부터 선택되는 아미노산 위치의 알라닌 잔기이다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 15의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알라닌 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.

[0053]

일부 실시형태에서, 제1 Fc 도메인이 좁 돌연변이를 포함하는 경우, 제2 인간 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 홀 돌연변이는 T366S, L368A 및 Y407V 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 홀 돌연변이는 아미노산 위치 151에 세린 잔기, 아미노산 위치 153에 알리닌 잔기, 및 아미노산 위치 192에 발린 잔기를 포함하며, 여기서 넘버링은 서열번호 6에 따른다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 9의 넘버링에 따른 38, 95 및 220으로부터 선택되는 아미노산

위치의 알려진 잔기이다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알려진 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다.

[0054] 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 홀 돌연변이는 T366S, L368A 및 Y407V 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 홀 돌연변이는 아미노산 위치 151에 세린 잔기, 아미노산 위치 153에 알리닌 잔기, 및 아미노산 위치 192에 발린 잔기를 포함하며, 여기서 넘버링은 서열번호 6에 따른다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 9의 넘버링에 따른 38, 95 및 220으로부터 선택되는 아미노산 위치의 알려진 잔기이다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 9의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알려진 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다.

[0055] 일부 실시형태에서, 제1 Fc 도메인이 홀 돌연변이를 포함하는 경우, 제2 인간 Fc도메인은 홑 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 홑 돌연변이는 T366W 아미노산 치환이며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 홑 돌연변이는 서열번호 12의 넘버링에 따른 아미노산 위치 151에 트립토판 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 더 포함한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 I253A, H310A 및 H435A 아미노산 치환으로부터 선택되며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 아미노산 치환 I253A, H310A 및 H435A를 포함하며, 넘버링은 EU 넘버링 시스템을 기반으로 한다. 일부 실시형태에서, FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형은 서열번호 15의 넘버링에 따른 38, 95 및 220으로부터 선택되는 아미노산 위치의 알려진 잔기이다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 15의 넘버링에 따른 아미노산 위치 38, 95 및 220에 알려진 잔기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.

[0056] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 SAP 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홑 돌연변이를 포함하며, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다.

[0057] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질을 포함하고, SAP 성분 단백질은 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결되며, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하며, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홑 돌연변이를 포함하고, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다.

[0058] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 SAP 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홑 돌연변이를 포함하며, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시

형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다.

[0059] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질을 포함하고, SAP 성분 단백질은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결되며, 제2 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하며, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 높 돌연변이를 포함하고, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 글리코실화 부위를 제거하는 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 인간 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 인간 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함한다.

[0060] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 SAP 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하며, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 높 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다.

[0061] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질을 포함하고, SAP 성분 단백질은 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결되며, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하며, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하고, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 높 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함한다.

[0062] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 SAP 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하며, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 높 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.

[0063] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하며, 여기서 제1 폴리펩타이드는 SAP 성분 단백질의 글리코실화를 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 SAP 성분 단백질을 포함하고, SAP 성분 단백질은 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결되며, 제2 폴리펩타이드는 FcRn 결합을 감소시키는 하나 이상의 변형을 포함하는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하며, 제1 Fc 도메인은 하나 이상의 홀 돌연변이를 포함하고, 제2 Fc 돌연변이는 하나 이상의 높 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP 성분 단백질은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 Fc 도메인은 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하며, 제2 Fc 도메인은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 폴리펩타이드는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0064] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 결합한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성(amyloidogenic) 펩타이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ W11) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), $A\beta$ (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 $A\beta$ 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린($A\beta_2M$), 트랜스티레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(prior protein)(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL $\kappa 4$, AI $\lambda 1$, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다.
- [0065] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시킨다.
- [0066] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질은 비글리코실화(aglycosylated)되고 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 결합한다. 일부 실시형태에서, 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성 펩타이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ W11) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), $A\beta$ (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 $A\beta$ 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린($A\beta_2M$), 트랜스티레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL $\kappa 4$, AI $\lambda 1$, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다. 일부 실시형태에서, 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 비글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시킨다.
- [0067] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질은 글리코실화되고 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 결합한다. 일부 실시형태에서, 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성 펩타이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ W11) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), $A\beta$ (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 $A\beta$ 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린($A\beta_2M$), 트랜스티레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL $\kappa 4$, AI $\lambda 1$, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다. 일부 실시형태에서, 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 글리코실화 SAP-Fc 융합 단백질은 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시킨다.

[0068]

글리코실화 패턴은 비인간 세포(예컨대, CHO 세포)에서 생산된 단백질과 인간 세포(예컨대, HEK293 세포)에서 생산된 단백질 사이에서 상이하다는 것이 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질은 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산되고, 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 결합한다. 일부 실시형태에서, 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성 펩타이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ Wi1) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), A β (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 A β 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린(A β_2 M), 트랜스타이레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL κ 4, AI λ 1, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다. 일부 실시형태에서, 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 인간 세포, 예컨대, HEK293 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질은 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산되고, 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 결합한다. 일부 실시형태에서, 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성 펩타이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ Wi1) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), A β (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 A β 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린(A β_2 M), 트랜스타이레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL κ 4, AI λ 1, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다. 일부 실시형태에서, 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시킨다. 일부 실시형태에서, 비-인간 세포, 예컨대, CHO 세포에서 생산된 SAP-Fc 융합 단백질은 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시킨다.

[0069]

일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 피브릴에 대한 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질의 결합은 SAP-Fc 융합 단백질의 글리코실화 상태에 의해 영향을 받지 않는다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 내의 하나 이상의 아밀로이드 생성 펩타이드에 대한 SAP-Fc 융합 단백질의 결합은 SAP-Fc 융합 단백질의 글리코실화 상태에 의해 영향을 받지 않는다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 아밀로이드 생성 $\lambda 6$ 가변 도메인 단백질(V $\lambda 6$ Wi1) 또는 아밀로이드 생성 면역글로불린 경쇄(AL), A β (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴 또는 아밀로이드 생성 A β 전구체 단백질, 또는 혈청 아밀로이드 단백질 A(AA)를 포함한다. 다른 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질에 의해 결합된 아밀로이드는 면역글로불린 중쇄(AH), β_2 -마이크로글로불린(A β_2 M), 트랜스타이레틴 변이체(ATTR), 아포지질단백질 AI(AApoAI), 아포지질단백질 AII(AApoAII), 겔룰린(AGel), 라이소자임(ALys), 백혈구 화학주성 인자(ALect2), 피브리노겐 a 변이체(AFib), 시스타틴 변이체(ACys), 칼시토닌(ACal), 락타드헤린(AMed), 섬 아밀로이드 폴리펩타이드(AIAPP), 프롤락틴(APro), 인슐린(AIns), 프라이온 단백질(APrP), α -시누클레인(A α Syn), 타우(ATau), 심방나트륨 이뇨 인자(AANF), IAAP, AL κ 4, AI λ 1, 또는 다른 아밀로이드 생성 펩타이드의 아밀로이드 생성 형태를 포함한다. SAP-Fc 융합 단백질에

의해 결합된 아밀로이드 생성 펩타이드는 단백질, 단백질 단편, 또는 단백질 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물 또는 아밀로이드 피브릴은 재조합 아밀로이드 생성 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드는 질환 병리의 일부이다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물의 식세포작용을 촉진시키는 데 있어서 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질의 활성화는 SAP-Fc 융합 단백질의 글리코실화 상태에 의해 영향을 받지 않는다. 일부 실시형태에서, 대식세포 매개 식세포작용을 촉진시키는 데 있어서 본 명세서에 기재된 SAP-Fc 융합 단백질의 활성화는 SAP-Fc 융합 단백질의 글리코실화 상태에 의해 영향을 받지 않는다.

[0070] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 SAP-Fc 융합 단백질은 2개의 Fc 폴리펩타이드 및 1개의 SAP 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 안정적인 비-공유 이종이량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 Fc 힌지 영역에 위치하는 하나 이상의 시스테인을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 감소된 응집을 가진다.

[0071] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 이량체 SAP-Fc 융합 단백질은 안정적인 비-공유 오량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, 오량체는 1, 2, 3, 4, 5, 24시간 또는 그 이상 동안 안정적이다. 일부 실시형태에서, 오량체는 크기 배제 크로마토그래피 칼럼에서 안정적이다. 일부 실시형태에서, 오량체는 분자량이 약 375 kDa이다.

[0072] 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 이량체 SAP-Fc 융합 단백질은 안정적인 비-공유 삼량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, 삼량체는 1, 2, 3, 4, 5, 24시간 또는 그 이상 동안 안정적이다. 일부 실시형태에서, 삼량체는 크기 배제 크로마토그래피 칼럼에서 안정적이다. 일부 실시형태에서, 삼량체는 SAP-Fc 삼량체의 경우 분자량이 약 750 kDa이다.

[0073] 또한 SAP-Fc 융합 단백질 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물에는 본질적으로 임의의 방부제 및 다른 담체, 부형제, 또는 안정화제가 없을 수 있다. 대안적으로, SAP-Fc 융합체의 물리화학적 안정성에 악영향을 미치지 않는 한, 약제학적 조성물은 선택적으로 하나 이상의 방부제, 예를 들어, 항균제, 본 명세서의 다른 곳에 기재된 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제를, 포함할 수 있다. 허용 가능한 담체, 부형제, 및 안정화제의 예는 추가적인 완충제, 공용매, 계면활성제, 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제, EDTA와 같은 킬레이트제, 금속 착물(예를 들어, Zn-단백질 착물), 및 폴리에스터와 같은 생분해성 중합체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 약제학적으로 허용 가능한 담체, 안정화제, 및 이소몰라이트(isomolyte)의 제형 및 선택에 대한 자세한 논의는 본 명세서에 참조에 의해 인용되는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed.; Mack Publishing Company, Eaton, Pa., 1990)]에서 확인될 수 있다.

[0074] 생체내 투여에 사용되는 제형은 멸균 상태이어야 한다. 이는 멸균 필터 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0075] 본 발명의 약제학적 조성물은 의도된 투여 경로에 적합하도록 제형화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 피내, 피하, 경구(예를 들어, 흡입), 경피(즉, 국소), 경점막, 및 직장 투여를 포함한다. 비경구, 피내, 또는 피하 적용에 사용되는 용액 또는 현탁액은 다음 성분을 포함할 수 있다: 멸균 희석제, 예컨대, 주사용수, 식염수, 고정유, 폴리에틸렌 글라이콜, 글리세린, 프로필렌 글라이콜 또는 다른 합성 용매; 항균제, 예컨대, 벤질 알코올 또는 메틸 파라벤; 항산화제, 예컨대, 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨; 킬레이트제, 예컨대, 에틸렌다이아민테트라아세트산(EDTA); 완충제, 예컨대, 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트, 및 긴장성 조절제, 예컨대, 염화나트륨 또는 텍스트로스. pH는 산 또는 염기, 예컨대, 염산 또는 수산화나트륨으로 조정될 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기 또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회용량 바이알에 동봉될 수 있다.

[0076] 주사용에 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수용액(수용성인 경우) 또는 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여의 경우, 적합한 담체는 생리 식염수, 정균수, Cremophor EL™(BASF, 미국 뉴저지주 파시패니 소재) 또는 인산염 완충 식염수(PBS)를 포함한다. 모든 경우에, 조성물은 멸균 상태이어야 하고 쉽게 주사할 수 있는 정도까지 유동적이어야 한다. 조성물은 제조 및 보관 조건 하에서 안정적이어야 하고, 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글라이콜, 및 액체 폴리에틸렌 글라이콜 등), 및 이의 적합한 혼합물을 포함하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅제의 사용에 의해, 분산액의 경우 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 방지는 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에, 등장화제, 예를 들어, 당, 폴리알코올, 예컨대, 만

니톨, 솔비톨, 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사용 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 야기될 수 있다.

[0077] 멸균 주사용 용액은 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 하나 또는 조합과 함께 적절한 용매에 필요한 양으로 활성 화합물을 혼입시킨 다음, 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것 중 필요한 다른 성분을 포함하는 멸균 비히클에 활성 화합물을 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사용 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 활성 성분에 이의 사전에 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 원하는 성분을 더한 것의 분말을 생성하는 진공 건조 및 동결 건조이다.

[0078] 치료 방법

[0079] 또한 본 명세서에 개시된 SAP-Fc 융합 단백질을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 아밀로이드 관련 장애를 치료하는 방법이 본 명세서에서 제공된다.

[0080] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드 침착물에 결합한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드 침착물은 질환 병리에 기여할 수 있다. 다른 실시형태에서, 아밀로이드 침착물은 개체에서 아밀로이드증 또는 아밀로이드-관련 질환을 나타낼 수 있다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 아밀로이드증이 있는 개체에서 아밀로이드에 결합한다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드증은 특정 조직 또는 기관계, 예컨대, 간, 심장, 또는 중추 신경계에 국한된다.

[0081] 다른 실시형태에서, 아밀로이드증은 전신성 아밀로이드증이다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드증은 가족성 아밀로이드증이다. 다른 실시형태에서, 아밀로이드증은 산발성 아밀로이드증이다. 일부 실시형태에서, 아밀로이드증 또는 아밀로이드-관련 질환은 II형 당뇨병, 알츠하이머병, 다운 증후군, 네덜란드형 아밀로이드증을 동반한 유전성 뇌출혈, 대뇌 베타-아밀로이드 맥관병증, 해면상 뇌병증, 갑상선 종양, 파킨슨병, 루이소체 치매, 타우병증, 헌팅턴병, 노인 전신성 아밀로이드증, 가족력 혈액투석, 노인 전신성 노화, 노화 뇌하수체 장애, 의인성 증후군, 해면상 뇌병증, 반응성 만성 염증, 갑상선 종양, 골수종 또는 다른 암 형태의 AA 아밀로이드증, AL 아밀로이드증, AH 아밀로이드증, A β 아밀로이드증, ATTR 아밀로이드증, ALect2 아밀로이드증 및 IAPP 아밀로이드증이다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 일반적인 노화와 연관된 아밀로이드에 결합한다. 다른 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 대상체에서 아밀로이드증 또는 아밀로이드-관련 질환의 진단, 치료, 또는 예방에 사용된다.

[0082] 일부 실시형태에서, 치료될 개체 또는 대상체는 동물, 예컨대, 포유동물이다. 일부 실시형태에서, 포유동물은 개, 고양이, 말, 소, 젖소, 돼지, 양, 어린 양, 염소, 영양류, 마우스, 래트 또는 인간이다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 대상체는 인간이다.

[0083] 숙주 세포, 벡터, 생산 방법

[0084] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질을 인코딩하는 핵산이 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 핵산은 벡터에 존재한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 원핵생물의 발현을 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 진핵생물의 발현을 위한 것이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 포유동물 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 SAP-Fc 융합 단백질의 전사를 구동시키는 프로모터를 포함한다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 구성적 또는 유도성 프로모터이다.

[0085] 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 폴리펩타이드 작제물의 발현을 유도하거나 유발하기에 적절한 조건 하에서 폴리펩타이드 작제물(예를 들어, Fc 변이체, 링커 및 융합 파트너)을 인코딩하는 핵산을 포함하는, 핵산, 바람직하게는 발현 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 배양함으로써 생산된다. 일부 실시형태에서, 발현에 적절한 조건은 선택된 발현 벡터 및 숙주 세포에 따라 다양하다. 일부 실시형태에서, 포유동물 세포, 박테리아, 곤충 세포, 및 효모를 포함하지만 이에 제한되지 않는 매우 다양한 적절한 숙주 세포가 사용된다. 예를 들어, 본 개시내용에서 사용되는 다양한 세포주는 미국형 배양물 보관소(American Type Culture Collection)로부터 입수 가능한, ATCC[®] 세포주 카탈로그에 기재되어 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 SAP-Fc 융합 단백질은, 세포주의 유전자 조작 또는 세포 배양 조건의 변형, 예컨대, 키푸넨신(kifunensine)의 첨가에 의해 또는 자연적으로 글리코실화하지 않는 숙주, 예컨대, 원핵생물(이. 콜라이(*E. coli*) 등)을 사용함으로써 이러한 세포에 의해 발현되는 단백질을 글리코실화하지 않도록 최적화된 세포에서 발현되고, 일부 경우에는 Fc에서 글리코실화

서열의 변형이 필요하지 않다.

- [0086] 일부 실시형태에서, 포유동물 세포는 본 개시내용의 폴리펩타이드를 생산하기 위한 숙주 세포로서 사용된다. 포유동물 세포 유형의 예는 인간 배아 신장(HEK)(예를 들어, HEK293, HEK 293F), 중국 햄스터 난소(CHO), HeLa, COS, PC3, Vero, MC3T3, NS0, Sp2/0, VERY, BHK, MDCK, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20, T47D, NS0(임의의 면역글로불린 사슬을 내생적으로 생산하지 않는 뮤린 골수종 세포주), CRL7030, 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 이. 콜라이 세포는 본 개시내용의 폴리펩타이드를 생산하기 위한 숙주 세포로서 사용된다. 이. 콜라이 세포 균주의 예는 이. 콜라이 294(ATCC® 31,446), 이. 콜라이 λ 1776(ATCC® 31,537), 이. 콜라이 BL21(DE3)(ATCC® BAA-1025), 및 이. 콜라이 RV308(ATCC® 31,608)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0087] 상이한 숙주 세포는 단백질 산물의 번역후 가공 및 변형(예를 들어, 글리코실화)을 위한 특징적이고 특정한 메커니즘을 가진다. 일부 실시형태에서, 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 발현된 폴리펩타이드의 올바른 변형 및 가공을 보장하도록 선택된다. 일부 실시형태에서, α 2,3-연결 시알산 SAP 모이어티를 생산하지 않는 숙주 세포가 선택된다. 일부 실시형태에서, 야생형 인간 SAP와 유사한 수준으로 α 2,6-연결 시알산 SAP 모이어티를 생산하는 숙주 세포가 선택된다.
- [0088] 벡터가 단백질 생산을 위해 숙주 세포에 도입되면, 숙주 세포는 프로모터의 유도, 형질전환체의 선택, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자의 증폭을 위해 적절하게 변형된 통상적인 영양 배지에서 배양된다.
- [0089] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드 작제물, 예를 들어, SAP-Fc 융합 단백질을 포함하는 폴리펩타이드 작제물은, 발현 작제물이 레트로바이러스 또는 아데노바이러스와 같은 바이러스를 사용하여 포유동물 세포 내로 도입되는 시스템을 포함하여, 포유동물 발현 시스템에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 인간, 마우스, 래트, 햄스터, 또는 영장류 세포가 이용된다. 적합한 세포는 또한, Jurkat T 세포, NIH3T3, CHO, COS 및 293 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는 공지된 연구 세포를 포함한다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 단백질은 박테리아 세포에서 발현된다. 박테리아 발현 시스템은 당업계에 잘 알려져 있으며, 에쉬리키아 콜라이(*Escherichia coli*; 이. 콜라이), 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*), 스트렙토코커스 크레모리스(*Streptococcus cremoris*) 및 스트렙토코커스 리비단스(*Streptococcus lividans*)를 포함한다. 일부 경우에, Fc 변이체를 포함하는 폴리펩타이드 작제물은, Sf9 및 Sf21 세포와 같은 그러나 이에 제한되지 않는 곤충 세포, 또는 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 피키아(*Pichia*), 클루이베로마이세스(*Kluyveromyces*), 한세놀라(*Hansenula*) 및 야로이와(*Yarrowia*) 속의 유기체와 같은 그러나 이에 제한되지 않는 효모 세포에서 생산된다. 일부 경우에, Fc 변이체를 포함하는 폴리펩타이드 작제물은 무세포 번역 시스템을 사용하여 시험관내에서 발현된다. 원핵생물(예를 들어, 이. 콜라이) 및 진핵생물(예를 들어, 밀배아, 토끼 망상적혈구) 세포 둘 다로부터 유래된 시험관내 번역 시스템이 이용 가능하며, 일부 실시형태에서는 관심이 있는 단백질의 발현 수준 및 기능적 특성을 기반으로 하여 선택된다. 예를 들어, 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 시험관내 번역은 일부 디스플레이 기술, 예를 들어, 리보솜 디스플레이에 필요하다. 추가적으로, 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질 변이체는, 액상 펩타이드 합성 및 고상 펩타이드 합성과 같은 그러나 이로 제한되지 않는 화학적 합성 방법에 의해 생산된다. 글리코실화하지 않는 시스템, 예컨대, 박테리아 추출물을 사용하는 시험관내 전사의 경우, Fc는 심지어 자연적인 글리코실화 부위의 존재 하에서도 글리코실화되지 않을 것이며, 따라서 Fc의 비활성화가 동등하게 얻어질 것이다.
- [0090] 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드 작제물은 천연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 비-천연 아미노산, 아미노산 유사체, 아미노산 모방체, 또는 이의 임의의 조합물을 포함한다. 자연적으로 인코딩되는 아미노산은 일반적으로 20가지의 공통 아미노산(알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 타이로신 및 발린) 및 피롤라이신 및 셀레노시스테인을 지칭한다. 아미노산 유사체는 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 예를 들어, 수소, 카복실기, 아미노기 및 R기에 결합된 탄소를 갖는 화합물, 예컨대, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭사이드, 메티오닌 메틸 설포늄을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 이러한 유사체는 변형된 R기(예컨대, 노르류신) 또는 변형된 펩타이드 백본을 가지지만, 일반적으로 천연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다.
- [0091] **단백질 생산, 회수, 및 정제**
- [0092] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드를 생산하는 데 사용되는 숙주 세포는 선택된 숙주 세포의 배양에 적합한 배지에서 성장된다. 포유동물 숙주 세포에 적합한 배지의 예는 최소 필수 배지(Minimal Essential Medium: MEM), 돌베코 변형 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle's Medium: DMEM), Expi293™ 발현 배지, 태

아 소 혈청(FBS)이 보충된 DMEM, 및 RPMI-1640을 포함한다. 박테리아 숙주 세포에 적합한 배지의 예는 선별제, 예를 들어, 암피실린 같은 필수 보충제가 있는 루리아 브로스(Luria broth: LB)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 적합한 온도, 예컨대, 약 20℃ 내지 약 39℃, 예를 들어, 약 25℃ 내지 약 37℃, 바람직하게는 37℃에서, 및 CO₂ 수준, 예컨대, 약 5% 내지 10%에서 배양된다. 일부 실시형태에서, 배지의 pH는 주로 숙주 유기체에 따라 약 pH 6.8 내지 pH 7.4, 예를 들어, pH 7.0이다. 유도성 프로모터가 발현 벡터에 사용되는 경우, 단백질 발현은 프로모터의 활성화에 적합한 조건 하에서 유도될 수 있다.

[0093] 일부 실시형태에서, 단백질 회수는, 예를 들어, 삼투압 충격, 초음파 처리, 또는 용해에 의해 숙주 세포를 파괴하는 것을 포함한다. 세포가 파괴되면, 세포 파편은 원심분리 또는 여과에 의해 제거된다. 그 다음 단백질이 추가로 정제될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드는 다양한 단백질 정제 방법에 의해, 예를 들어, 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 및 크기-배제 칼럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도에 의해, 또는 단백질의 정제를 위한 임의의 다른 표준 기법에 의해 정제된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 단백질은 친화성 칼럼, 예컨대, 단백질 A 칼럼(예를 들어, POROS 단백질 A 크로마토그래피)을 크로마토그래피 칼럼(예를 들어, POROS HS-50 양이온 교환 크로마토그래피)과 적절하게 선택 및 조합하고, 여과, 한외여과, 탈염 및 투석 절차에 의해 분리 및 정제된다. 일부 실시형태에서, 폴리펩타이드는 마커 서열, 예컨대, 정제를 용이하게 하는 펩타이드에 접합된다. 마커 아미노산 서열의 예는, 마이크로몰의 친화도로 니켈-작용화 아가로스 친화성 칼럼에 결합할 수 있는 헥사-히스티딘 펩타이드(His6-tag)이다. 대안으로서, 인플로엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 에피토프에 해당하는 헤마글루티닌 "HA" 태그가 사용될 수 있다.

[0094] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드, 예를 들어, SAP-Fc 융합 단백질을 포함하는 폴리펩타이드 작제물은, 예를 들어, 유전자 요법의 맥락에서, 본 개시내용의 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 바이러스 벡터(예를 들어, 레트로바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터, 폭스바이러스 벡터(예를 들어, 벡시니아 바이러스 벡터, 예컨대, 변형된 벡시니아 양카라(Modified Vaccinia Ankara: MVA)), 아데노-연관 바이러스 벡터 및 알파바이러스 벡터)와 같은 벡터를 투여함으로써, 대상체(예를 들어, 인간)의 세포에 의해 생산된다. 대상체의 세포 내부로 (예를 들어, 형질전환, 형질감염, 전기천공, 인산칼슘 침전, 직접 미세주입, 감염 등에 의해) 들어가면, 벡터는 본 명세서에 개시된 폴리펩타이드의 발현에 사용될 수 있다. 일부 경우에, 폴리펩타이드는 세포로부터 분리된다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 장애의 치료가 원하는 결과인 경우, 추가 조치가 필요하지 않다. 일부 실시형태에서, 단백질의 수집이 요구되는 경우, 대상체로부터 혈액을 수집하고, 다양한 방법에 의해 혈액으로부터 단백질이 정제된다.

[0095] 키트

[0096] 또한 SAP-Fc 융합 단백질 및 사용을 위한 지침을 포함하는 키트가 본 명세서에서 제공된다. 일부 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 따른 지침을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 아밀로이드 장애를 치료하기 위한 지침을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 전신성 아밀로이드 장애를 치료하기 위한 지침을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 II형 당뇨병, 알츠하이머병, 다운 증후군, 네덜란드형 아밀로이드증을 동반한 유전성 뇌출혈, 대뇌 베타-아밀로이드 맥관병증, 해면상 뇌병증, 갑상선 종양, 파킨슨병, 루이소체 치매, 타우병증, 헌팅턴병, 노인 전신성 아밀로이드증, 가족력 혈액투석, 노인 전신성 노화, 노화 뇌하수체 장애, 의인성 증후군, 해면상 뇌병증, 반응성 만성 염증, 갑상선 종양, 골수종 또는 다른 암 형태의 AA 아밀로이드증, AL 아밀로이드증, AH 아밀로이드증, Aβ 아밀로이드증, ATTR 아밀로이드증, ALect2 아밀로이드증 및 IAPP 아밀로이드증을 치료하기 위한 지침을 포함한다.

[0097] 키트는 또한 용기, 예컨대, 바이알, 벡, 펌프 또는 주사기에 SAP-Fc 융합 단백질을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, SAP-Fc 융합 단백질은 약제학적 조성물에 존재한다.

[0098] 실시형태

[0099] 1. 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질로서, 상기 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인의 N-말단에 연결된 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 뉴 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 홀 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.

[0100] 2. 실시형태 1에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 뉴 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 홀 돌연

변이를 포함하는, 융합 단백질.

- [0101] 3. 실시형태 2에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 8, 또는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6 또는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0102] 4. 실시형태 1에 있어서, 상기 융합 단백질은 표 2에 따른 TNT148, TNT152, TNT157, TNT158, TNT147, TNT159, TNT160, 또는 TNT161의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 융합 단백질.
- [0103] 5. 실시형태 1에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 홀 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 낚 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0104] 6. 실시형태 5에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 14, 또는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12 또는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0105] 7. N-말단에서 C-말단으로 SAP-힌지 1-Fc1-L1-힌지2-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, SAP는 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질이고, 힌지 1은 제1 힌지 서열이며, Fc1은 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이며, 힌지 2는 제2 힌지 서열이고, Fc2는 제2 Fc 도메인 서열인, 융합 단백질.
- [0106] 8. 실시형태 7에 있어서, 상기 융합 단백질은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 23, 또는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0107] 9. 실시형태 7에 있어서, 상기 융합 단백질은 TNT146, TNT151, TNT155, TNT156, TNT170, 또는 TNT171의 폴리펩타이드 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0108] 10. 실시형태 1 또는 실시형태 7에 있어서, 상기 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0109] 11. 실시형태 10에 있어서, 상기 인간 혈청 아밀로이드 P 성분 단백질은 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0110] 12. 실시형태 1 또는 실시형태 7에 있어서, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 위치 C226 또는 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0111] 13. 실시형태 12에 있어서, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 또는 C229S를 포함하는, 융합 단백질.
- [0112] 14. 실시형태 1 또는 실시형태 7에 있어서, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0113] 15. 실시형태 14에 있어서, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0114] 16. 실시형태 12 내지 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 또는 제2 Fc 도메인은 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0115] 17. 실시형태 1 또는 실시형태 7에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0116] 18. 실시형태 1 내지 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 융합 단백질은 오량체를 형성하는, 융합 단백질.
- [0117] 19. 실시형태 1 내지 18 중 어느 하나의 융합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물.
- [0118] 20. 실시형태 1 내지 18 중 어느 하나의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산.
- [0119] 21. 실시형태 20의 핵산을 포함하는 숙주 세포.
- [0120] 22. 융합 단백질을 발현하는 조건 하에서 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 실시형태 1 내지 18 중 어느 하나의 융합 단백질을 생산하는 방법.
- [0121] 23. 실시형태 22에 있어서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포인, 방법.

- [0122] 24. 실시형태 22 또는 실시형태 23에 있어서, 상기 숙주 세포는 SAP 성분 단백질을 글리코실화하지 않는, 방법.
- [0123] 25. 실시형태 1 내지 18 중 어느 하나의 융합 단백질을 이를 필요로 하는 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 아밀로이드 질환을 치료하는 방법.
- [0124] 26. 실시형태 25에 있어서, 상기 아밀로이드 질환은 전신성 아밀로이드증을 포함하는, 방법.
- [0125] 27. N-말단에서 C-말단으로 힌지 1-Fc1-L1-힌지2-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, 힌지 1은 제1 힌지 서열이고, Fc1은 제1 Fc 도메인 서열이며, L1은 링커이고, 힌지 2는 제2 힌지 서열이며, Fc2는 제2 Fc 도메인 서열이고, 제1 및 제2 Fc 도메인은 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 또는 C229S를 포함하고/하거나, 상기 제1 및 제2 Fc 도메인은 아미노산 위치 11 또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0126] 28. 실시형태 27에 있어서, 상기 융합 단백질은 상기 융합 단백질의 N-말단에 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 더 포함하는, 융합 단백질.
- [0127] 1A. N-말단에서 C-말단으로 SAP-Fc1-L1-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, Fc1은 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이며, Fc2는 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제2 Fc 도메인 서열이고, SAP는 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질이며, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및/또는 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0128] 2A. 실시형태 1A에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및 C229에 아미노산 치환을 포함한다.
- [0129] 3A. 실시형태 1A 또는 2A에 있어서, 상기 융합 단백질은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 23, 또는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0130] 4A. 실시형태 3A에 있어서, 상기 융합 단백질은 C-말단 라이신이 없는 서열번호 1, C-말단 라이신이 없는 서열번호 2, C-말단 라이신이 없는 서열번호 3, C-말단 라이신이 없는 서열번호 4, C-말단 라이신이 없는 서열번호 23, 또는 C-말단 라이신이 없는 서열번호 24에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0131] 5A. 실시형태 1A 또는 2A에 있어서, 상기 융합 단백질은 TNT146, TNT151, TNT155, TNT156, TNT170 또는 TNT171의 폴리펩타이드 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0132] 6A. 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질로서, 제1 폴리펩타이드는 제1 인간 Fc 도메인(Fc1)의 N-말단에 연결된 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 포함하고, 제2 폴리펩타이드는 제2 인간 Fc 도메인(Fc2)을 포함하지만 인간 SAP 성분 단백질을 포함하지 않으며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 이량체를 형성하고, 2개의 Fc 도메인 중 하나는 knob 돌연변이를 포함하고 다른 Fc 도메인은 hole 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0133] 7A. 실시형태 6A에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 knob 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 hole 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0134] 8A. 실시형태 7A에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5, 서열번호 7, 서열번호 8, 또는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6 또는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0135] 9A. 실시형태 8A에 있어서,
- [0136] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0137] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0138] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- [0139] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0140] 10A. 실시형태 8A에 있어서,

- [0141] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0142] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0143] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- [0144] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0145] 11A. 실시형태 6A에 있어서, 상기 융합 단백질은 표 2에 따른 TNT148, TNT152, TNT157, TNT158, TNT147, TNT159, TNT160 또는 TNT161의 제1 폴리펩타이드 및 제2 폴리펩타이드를 포함하는, 융합 단백질.
- [0146] 12A. 실시형태 6A에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 홀 돌연변이를 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드의 Fc 도메인은 낚 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0147] 13A. 실시형태 6A에 있어서, 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11, 서열번호 13, 서열번호 14, 또는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12 또는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0148] 14A. 실시형태 13A에 있어서,
- [0149] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0150] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0151] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- [0152] 상기 제1 폴리펩타이드는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0153] 15A. 실시형태 13A에 있어서,
- [0154] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0155] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0156] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- [0157] 상기 제1 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 16에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 제2 폴리펩타이드는 C-말단 라이신이 있거나 없는 서열번호 15에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0158] 16A. 실시형태 1A 또는 실시형태 6A에 있어서, 상기 인간 SAP는, 선택적으로 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 야생형 SAP인, 융합 단백질.
- [0159] 17A. 실시형태 1A 또는 실시형태 6A에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0160] 18A. 실시형태 17A에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0161] 19A. 실시형태 6A, 또는 16A 내지 18A 중 어느 하나에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및/또는 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.

- [0162] 20A. 실시형태 19A에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 위치 C226 및 C229에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0163] 21A. 실시형태 1A, 2A, 6A, 또는 16A 내지 20A 중 어느 하나에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및/또는 C229S를 포함하는, 융합 단백질.
- [0164] 22A. 실시형태 21A에 있어서, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및 C229S를 포함하는, 융합 단백질.
- [0165] 23A. 실시형태 1A, 2A, 6A, 또는 15A 내지 17A 중 어느 하나에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에 아미노산 치환을 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0166] 24A. 실시형태 23A에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0167] 25A. 실시형태 23A 또는 24A에 있어서, Fc1 및/또는 Fc2는 서열번호 18에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0168] 26A. 실시형태 1A, 2A, 6A, 또는 16A 내지 18A 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 Fc 도메인은 FcRn 결합을 감소시키는 돌연변이를 포함하는, 융합 단백질.
- [0169] 27A. N-말단에서 C-말단으로 Fc1-L1-Fc2의 식으로 표현되는 구조를 포함하는 융합 단백질로서, Fc1은 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제1 Fc 도메인 서열이고, L1은 링커이고, Fc2는 힌지-CH2-CH3을 포함하는 제2 Fc 도메인 서열이며, Fc1 및 Fc2는 EU 넘버링에 따른 아미노산 치환 C226S 및/또는 C229S를 포함하고/하거나, Fc1 및 Fc2는 아미노산 위치 11 및/또는 14에서 세린 잔기를 포함하며, 넘버링은 서열번호 18의 아미노산 서열에 따르는, 융합 단백질.
- [0170] 28A. 실시형태 27A에 있어서, 상기 융합 단백질은 상기 융합 단백질의 N-말단에 인간 혈청 아밀로이드 P(SAP) 성분 단백질을 더 포함하는, 융합 단백질.
- [0171] 29A. 실시형태 28A에 있어서, 상기 인간 SAP는 야생형 SAP이고, 선택적으로 서열번호 17에 제시된 아미노산 서열인, 융합 단백질.
- [0172] 30A. 실시형태 28A에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 17에 따른 위치 N32 또는 N110에 아미노산 치환을 포함하는, 융합 단백질.
- [0173] 31A. 실시형태 30A에 있어서, 상기 인간 SAP는 서열번호 20에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 융합 단백질.
- [0174] 32A. 실시형태 1A 내지 31A 중 어느 하나에 있어서, 상기 융합 단백질은 오량체 또는 십량체를 형성하는, 융합 단백질.
- [0175] 33A. 실시형태 1A 내지 32A 중 어느 하나에 있어서, 상기 융합 단백질은 인간 Fc 영역을 포함하는, 융합 단백질.
- [0176] 34A. 실시형태 1A 내지 33A 중 어느 하나에 있어서, 상기 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하는, 융합 단백질.
- [0177] 35A. 실시형태 1A 내지 34A 중 어느 하나에 있어서, 상기 융합 단백질은 하나 이상의 아미노산 치환이 결합된 융합 단백질과 비교하여 감소된 응집을 갖는, 융합 단백질.
- [0178] 36A. 실시형태 1A 내지 35A 중 어느 하나의 융합 단백질, 및 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0179] 37A. 실시형태 36A에 있어서, 상기 융합 단백질의 적어도 50%는 오량체 및/또는 십량체인, 약제학적 조성물.
- [0180] 38A. 실시형태 1A 내지 35A 중 어느 하나의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산.
- [0181] 39A. 실시형태 38A의 핵산을 포함하는 벡터.
- [0182] 40A. 청구항 38의 핵산 또는 실시형태 39A의 벡터를 포함하는 숙주 세포.
- [0183] 41A. 실시형태 40A에 있어서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포인, 숙주 세포.

- [0184] 42A. 실시형태 1A 내지 35A 중 어느 하나의 융합 단백질을 생산하는 방법으로서, 상기 융합 단백질을 발현하는 조건 하에서 상기 융합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0185] 43A. 실시형태 42A에 있어서, 상기 숙주 세포는 CHO 세포 또는 293 세포인, 방법.
- [0186] 44A. 실시형태 42 또는 실시형태 43에 있어서, 상기 숙주 세포는 SAP 성분 단백질을 글리코실화하지 않는, 방법.
- [0187] 45A. 개체에서 아밀로이드 질환을 치료하는 방법으로서, 실시형태 1A 내지 35A 중 어느 하나의 융합 단백질을 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0188] 46A. 개체에서 아밀로이드 질환을 치료하는 방법으로서, 실시형태 42A 내지 44A 중 어느 하나의 방법에 의해 생산된 융합 단백질을 상기 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0189] 47A. 실시형태 45A 또는 청구항 46A에 있어서, 상기 아밀로이드 질환은 II형 당뇨병, 및 알츠하이머병의 AA 아밀로이드증, AL 아밀로이드증, AH 아밀로이드증, A β 아밀로이드증, ATTR 아밀로이드증, ALect2 아밀로이드증, IAPP 아밀로이드증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.
- [0190] 48A. 실시형태 42A 내지 45A 중 어느 하나의 방법에 의해 생산된 SAP-Fc 융합 단백질.
- [0191] 49A. 실시형태 45A 내지 47A 중 어느 하나에 있어서, 상기 개체는 인간인, 방법.
- [0192] **실시예**
- [0193] **실시예 1. SAP-scFc 작제물의 생산**
- [0194] 단백질 A 친화성(MABSELECT SURETM LX, CYTIVA®) 정제 단계 및 1700ml 크기-배제 크로마토그래피(SEC) 정제 단계에 의해 SAP-scFc를 정제하였다. 그러나, 이들 정제 단계는 다른 올리고머로부터 단량체와 이량체를 분리할 수 없었다(도 6A 및 도 6B). 다른 올리고머로부터 단량체와 이량체를 더 잘 분리하기 위해, 1700ml SEC의 정제 생성물을 496ml SEC 정제 단계로 추가로 연마하였다(도 7A). SDS-PAGE 분석은 이 단계에서 수득한 분획이 여전히 단량체, 이량체, 및 다른 올리고머의 혼합물을 함유하고 있음을 나타낸다(도 7B). 환원 및 비-환원 미세유체 전기영동(LABCHIP® GXII, PERKINELMER®)에 의한 분석을 위해 496ml SEC로부터의 분획 "2B1"을 선택하였다. 분획 "2B1"의 비-환원 미세유체 전기영동은 다중 올리고머 피크로 나타난 반면, 환원 미세유체 전기영동은 주요 단량체 피크를 나타내었다(도 7C 내지 7D). 크기 배제 크로마토그래피 다각도 광 산란(SEC-MALS)에 의한 분석을 위해 496ml SEC로부터의 분획 "2A9"를 선택하였다. SEC-MALS 결과는 SAP-scFc 단백질이 고분자량 복합체로 존재함을 나타낸다(도 7E). 이들 분석은 496ml SEC 정제 단계가 다른 올리고머로부터 단량체와 이량체의 분리를 개선시키지 않았음을 나타낸다. 496ml SEC 정제 단계 후 "2A9" 분획의 SEC-HPLC 분석은 단일 피크를 나타낸 반면(도 7F), 변성된 탈글리코실화 질량 분석은 단량체, 이량체 및 삼량체 신호를 나타내었다(도 7G). 따라서, SAP-scFc가 비공유 상호작용을 통해 결합된 단량체, 이량체 및 삼량체의 복합체로서 존재할 수 있다는 가설을 세운다.
- [0195] 1700ml SEC의 정제 생성물에 또한 SP SEPHAROSE 고성능 강 양이온 교환 크로마토그래피(HITRAPTM SP HP, CYTIVA®), POROS™ XS 강 양이온 교환 크로마토그래피(Thermo Fisher Scientific®), PHENYL SEPHAROSE 6 fast flow 소수성 상호작용 크로마토그래피(HITRAPTM PHENYL FF, CYTIVA®), BUTYL-S SEPHAROSE 6 fast flow 소수성 상호작용 크로마토그래피(HITRAPTM BUTYL-S FF, CYTIVA®), BIOPROCESS CAPTO PHENYL IMPRES 소수성 상호작용 크로마토그래피(HITRAPTM CAPTO PHENYL IMPRES, CYTIVA®), 및 CHT™ 세라믹 하이드록시아파타이트 칼슘-친화성 양이온-교환 크로마토그래피(BIO-RAD®)를 사용하여 추가 소규모 연마 단계를 적용하였다. 그러나, 소규모 연마 방법 중 어느 것도 다른 올리고머로부터 단량체와 이량체의 분리를 개선시키지 않았다.
- [0196] **실시예 2. 변형된 SAP-Fc 융합 단백질**
- [0197] 실시예 1에 기재된 바와 같이, SAP-Fc의 구조는 정제 공정의 어려움을 유발하였다. 발현 및 정제 프로파일을 개선시키기 위해, SAP-Fc 구조의 변형을 조사하였다.
- [0198] **힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하기 위한 SAP-Fc 영역의 변형**
- [0199] 위치 226에서 시스테인 잔기의 세린으로, 위치 229에서 시스테인 잔기의 세린으로의 점 돌연변이(C226S/C229S, EU 넘버링 체계)에 의해 TNT146(293) 및 TNT146(CHO)을 생산하였으며, 따라서 SAP-Fc 힌지 영역에서 시스테인 잔기를 제거하였다(표 1).

- [0200] Fc 영역을 생성하기 위해 "냅-홀" 방법을 사용하는 SAP-Fc의 변형
- [0201] Fc 영역을 생성하기 위해 "냅-홀" 방법을 사용하여 SAP-Fc를 변형시킴으로써 TNT147(293), TNT148(293), 및 TNT148(CHO)를 생산하였다(표 1). 위치 336에서 트레오닌의 트립토판으로의 점 돌연변이(T366W, EU 넘버링 체계)에 의해 냅 돌연변이체를 생산하였다. 위치 366에서 트레오닌의 세린으로, 위치 368에서 류신의 알라닌으로, 위치 407에서 타이로신의 발린으로의 점 돌연변이(T366S/L368A/Y407V, EU 넘버링 체계)에 의해 홀 돌연변이체를 생산하였다.
- [0202] SAP에서 글리코실화를 부위를 제거하기 위한 SAP-Fc의 변형
- [0203] SAP에서 글리코실화 부위를 제거하기 위해 SAP-Fc를 변형시킴으로써 TNT151(293) 및 TNT151(CHO)을 생산하였다(표 1). 위치 32에서 아스파라긴의 세린으로, 위치 110에서 아스파라긴의 세린으로의 점 돌연변이(N32S/N110S, SAP의 제1 아미노산으로부터 넘버링됨)에 의해 비글리코실화 SAP를 생산하였다.
- [0204] Fc 영역을 생성하고 SAP에서 글리코실화 부위를 제거하기 위해 "냅-홀" 방법을 사용하는 SAP-Fc의 변형
- [0205] SAP에서 글리코실화 부위를 제거하기 위해 SAP-Fc를 변형시키고 Fc 영역을 생성하기 위해 "냅-홀" 방법을 사용함으로써 TNT152(293) 및 TNT152(CHO)를 생산하였다(표 1). 상기 기재된 바와 같이 비글리코실화 SAP 및 "냅-홀" Fc 영역을 생산하였다.
- [0206] 실시예 3. SAP-Fc 및 이의 변형된 단백질의 생산.
- [0207] SAP-Fc 작제물의 생산
- [0208] 재조합 SAP-Fc 단백질의 생산 수준을 ELISA에 의해 검정하였다. 먼저 MaxiSorp™ 플레이트(NUNC)를 항-인간 IgG 1차 항체($1 \mu\text{g}/\text{ml}$, Beckman Coulter)로 4°C 에서 밤새 코팅하였다. PBS/0.05% tween-20으로 3회 세척한 후, 완전 배지에 희석한 $50 \mu\text{l}$ 의 샘플을 37°C 에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 동시에, 완전 배지에 희석한 표준 범위의 인간 IgG를 인큐베이션하였다. 3회 세척한 후, 알칼리 포스파타제($1 \mu\text{g}/\text{ml}$)에 결합된 항-IgG 항체(Beckman Coulter)를 첨가하고 37°C 에서 1시간 30분 동안 인큐베이션하였다. 최종 일련의 세척 후, $100 \mu\text{l}$ 부피의 알칼리 포스파타제 기질을 첨가한 다음 3M NaOH를 사용하여 몇 분 후에 반응을 중단시켰다. 플레이트를 405nm 에서 분광법으로 판독하였다.
- [0209] 그 다음 Fc 절편에 대한 단백질 A의 강한 친화성 및 본 발명에 따른 키메라 단백질의 Fc 영역 단편의 존재로 인해 단백질 A 친화성 칼럼(Pierce)을 사용하여 ÄKTA[®] FPLC 시스템(GE Healthcare) 상의 친화성 크로마토그래피에 의해 수득한 SAP-Fc 융합 단백질을 정제하였다. 칼럼의 하류에 위치한 UV 검출기로 진행을 모니터링할 수 있으며; 유지되지 않은 상의 흡수가 임계값으로 내려갈 때, 단백질을 pH 2.6에서 0.1M 글리신으로 용출시켰다. 크로마토그램 피크에 따라 다양한 분획을 수집하였다. 그 다음 수득한 용출액을 pH 8.8에서 Tris로 중화하였다.
- [0210] 정제된 단백질을 크기가 30 kDa 미만인 분자를 제거할 수 있는 Amicon® Ultra4 30k 필터(Millipore)를 사용하여 농축하였다. 용액을 필터에 넣고 원하는 부피와 원하는 농도를 수득하는 데 필요한 시간 동안 4000 g에서 원심분리하였다.
- [0211] 정제된 단백질(또는 배양 상청액)을 변성 겔을 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 검출하였다. 단백질을 β-머캅토에탄올(Bio Rad)을 함유하는 일정 부피의 로딩 완충액과 혼합하고 5분 동안 끓였다. 그 다음 단백질을 7.5%의 스테킹 상과 10%의 분리 상으로 구성된 폴리아크릴아마이드 겔(SDS-PAGE)에서 전기영동으로 이동시켰다. 그 다음 단백질을 PVDF 막으로 옮기고 5% 우유로 포화시켰다. 그 다음 마우스 항-SAP(Abeam) 또는 HRP(BECKMAN COULTER[®])에 결합된 항-IgG 항체($1 \mu\text{g}/\text{ml}$)의 존재 하에 주변 온도에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 항-SAP 항체는 HRP에 결합된 염소 항-마우스 IgG 2차 항체(SANTA CRUZ[®])($0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$)를 이용하여 밝혀졌다. ECL 기질(PIERCE[®])을 첨가하여 화학발광 반응을 촉발시키고 자기방사선 사진 필름(KODAK[®])에서 드러내었다.
- [0212] 또한 반-천연 겔을 사용한 웨스턴 블롯팅에 의해 정제된 단백질(또는 배양 상청액)을 검출하였다. 단백질을 β-머캅토에탄올이 없는 일정 부피의 로딩 완충액과 혼합한 다음 SDS-12% PAGE 겔에서 이동시켰다. 나머지 프로토콜은 변성 겔에 대한 것과 동일하다.
- [0213] 도 16A 및 도 16B는 정제된 융합 단백질의 SDS PAGE 겔을 나타낸다. 이러한 실험을 위해, 2-단계 정제를 통해

TNT146, TNT147, TNT148, TNT155, 및 TNT160을 정제하였다. 단일 단백질 A 정제 단계를 통해 TNT151을 정제하였다.

[0214] **실시예 4. 피브릴에 대한 변형된 SAP-Fc의 결합**

[0215] 피브릴 및 추출물에 대한 SAP-Fc 및 SAP-scFc 결합을 ELISA 검정에 의해 연구하였다.

[0216] 인간화 IgG에 대한 유로폼-연결 면역흡착 검정(EuLISA) 방법을 사용하여, 0.83 μ M의 rV λ 6Wi1 피브릴 현탁액(초음파 처리함)을 인산염 완충 식염수(PBS)에서 제조하였다. 피브릴을 각각의 웰에 50 μ L를 추가함으로써 96-웰 마이크로플레이트의 웰에 코팅하였다. 플레이트를 37°C에서 밤새 건조시켰다. 2mM 염화칼슘(Ca)(ThermoFisher)(SBT)이 포함된 트리스-완충 식염수(TBS) 중 Superblock을 200 μ L/웰을 사용하여 첨가함으로써 마이크로플레이트의 웰을 차단하고 37°C에서 1시간 동안 방치하였다. 1차(테스트) SAP-Fc 용합 단백질, 인간화 면역글로불린, hIgG1 또는 c11-1F4를 첨가하였다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세척 단계(TBS/Ca + 0.05% 트윈 20을 사용하여 플레이트를 3회 세척함) 후, 2차 항체를, SBT 중 바이오티닐화 염소 항-인간 IgG(Sigma)의 1:3000 희석액으로 100 μ L/웰로 첨가하였다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 추가 세척 단계 후, 유로폼/스트렙타비딘(Perkin Elmer)의 1:1000 희석액을 100 μ L/웰로 첨가하였다. 플레이트를 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 최종 세척 단계 후, 100 μ L/웰의 유로폼 강화 용액(Perkin Elmer)을 첨가하였다. 마이크로플레이트 판독기(Wallac)를 사용하여 시간-분해 형광 방출을 판독하였다.

[0217] 도 8A의 결과는 ELISA 검정에서 원래 공급된 TNT146(293) 및 TNT147(293)이 hIgG1 대조군 및 c11-1F4보다 더 큰 친화도(EC50)로 합성 rV λ 6Wi1 피브릴에 결합함을 나타낸다. 도 8B는 TNT152(293)를 제외하고 TNT146(CHO), TNT148(CHO), TNT151(293)이 rV λ 6Wi1 피브릴에 동일하게 잘 결합함을 나타낸다. 도 9A 내지 9B의 결과는 SAP-Fc의 노-홀 및 cys-돌연변이 형태가 시험관내에서 아밀로이드 반응성을 유지함을 나타낸다.

[0218] 도 10A 내지 도 10E의 결과 및 표 4는 TNT152(293) 및 TNT148(CHO)을 제외한 모든 작제물이 1 내지 10nM의 범위에서 EC50 값을 보임을 나타낸다. wtATTR 추출물에 대한 가장 높은 결합은 SAP-scFc 시약 TNT146(293), TNT146(CHO), TNT151(293)에서 관찰되었다(표 4). hIgG1-웹타이드 용합체보다 아밀로이드 추출물에 대해 더 높은 EC50을 갖는 TNT152(293)를 제외하고, SAP-scFc와 관련하여 SAP의 비글리코실화는 유사한 EC50으로 시험관내에서 아밀로이드 반응성을 유지한다(도 8B 및 표 4).

표 4

ELISA 검정에서 피브릴 및 추출물에 대한 SAP-Fc 및 SAP-scFc 결합

		기질					
		rVλ 6WIL 피브릴	rVλ 6WIL 피브릴	Per125 wtATTR 추출물	Ken hATTR 추출물	SHI AL λ 간 추출물	TAL AL κ 간 추출물
TNT146(293)	LogEC50		8.375	8.717	8.471	8.575	8.574
	EC50		1.84E-09	1.92E-09	3.38E-09	2.66E-09	2.67E-09
	최대		89.9	81.15	64.55	78.52	76.03
TNT146(CHO)	LogEC50	8.794	8.841	8.772	8.508	8.63	8.574
	EC50	1.61E-09	1.44E-09	1.69E-09	3.10E-09	2.34E-09	2.67E-09
	최대	81.28	79.02	71.18	51.72	57.21	66.69
TNT148(CHO)	LogEC50	8.596	8.717	8.094	7.966	8.014	7.98
	EC50	2.54E-09	1.92E-09	8.05E-09	1.08E-09	9.68E-09	1.05E-09
	최대	81.81	83.07	87.02	54.48	73.11	78.85
TNT151(293)	LogEC50	8.708	8.71	8.553	8.242	8.348	8.243
	EC50	1.96E-09	1.95E-09	2.80E-09	5.73E-09	4.49E-09	5.71E-09
	최대	81.71	89.31	77.42	60.51	72.71	75.21
TNT152(293)	LogEC50	7.843	7.839	7.221	7.119	7.195	6.956
	EC50	1.44E-09	1.45E-09	6.01E-09	7.60E-09	6.38E-09	1.11E-09
	최대	71.35	89.33	88.86	56.48	69.75	75.39

[0219]

[0220]

또한 피브릴 및 추출물에 대한 SAP-Fc 융합체의 결합을 폴다운 검정에서 테스트하였다. rVλ 6WIL 유래의 합성 아밀로이드 피브릴을 다음과 같이 준비하였다: 인산염-완충 식염수(PBS), 0.01% w/v NaN₃, pH7.5에 1 mg/ml의 단량체를 함유하는 1ml 부피를 0.2mm 공극 크기 필터를 통해 여과하고, 15ml 원추형 폴리프로필렌 튜브(BD BioSciences, 미국 매사추세츠주 베드퍼드 소재)에 추가한 다음, 반응 혼합물이 불투명해질 때까지 37℃에서 3 내지 5일 동안 225 rpm에서 45° 각도로 진탕하였다.

[0221]

정제된 인간 아밀로이드 조직 추출물을 문헌[Pras et al., J Exp Med (1969) 130(4):777-795]에 기재된 바와 같은 물 부양 방법을 수정 없이 사용하여 경쇄-(AL) 또는 트랜스타이레틴-연관(ATTR) 아밀로이드증이 있는 환자로부터의 부검-유래 조직을 사용하여 정제된 인간 아밀로이드 조직 추출물을 준비하였다. 물 세척에서 분리된 정제된 아밀로이드 물질, 및 아밀로이드가 풍부한 펠릿을 수집하고 사용할 때까지 RT에서 동결건조하여 보관하였다.

[0222]

폴다운 검정을 위해 1 mg/ml AL 추출물 또는 합성 rVλ 6WIL 가변 도메인 피브릴(REF) 25 마이크로리터를 0.5ml 마이크로큐브 튜브에서 21,000×g로 5분 동안 원심분리하였다. 상청액을 버리고 펠릿을 0.05% tween-20(PBST)이 포함된 200μl의 PBS에 재현탁시켰다. 125I-p5+14(약 100,000 카운트/분(counts per minute: CPM); 약 5 ng 펩타이드) 또는 125I-표지 SAP-Fc 융합 단백질을 현탁액에 첨가하였다. 혼합물을 RT에서 1시간 동안 회전시켰다. 그 다음 샘플을 10분 동안 15,000×g에서 2회 원심분리하였다. 각각의 단계 후에 상청액과 펠릿을 분리하고 Cobra II 감마 계수기(Perkin Elmer)를 사용하여 각각에서 방사능을 1분 동안 측정하였다. 펠릿에 결합된 125I-p5+14 또는 125I-표지 SAP-Fc 융합 단백질의 백분율을 다음과 같이 결정하였다:

[0223]

펠릿 CPM/(펠릿 CPM + 상청액 CPM)×100

[0224]

폴다운 검정에서, ¹²⁵I-표지 TNT146 및 TNT 147은 나노몰 범위의 EC50을 갖는 기질에 대한 약한 결합을 나타내었고(표 5), 이는 산화적 방사성요오드화가 생성물에 부정적인 영향을 주어 활성의 손실을 초래할 수 있으며; 가용성 물질로 제시된 아밀로이드 추출물은 상이한 결합 부위를 제시할 수 있고; 더 높은 농도의 시약은 ELISA 형식에서 결합을 유도할 수 있음을 나타낸다.

표 5

폴다운 검정에서 피브릴 및 추출물에 대한 TNT146 및 TNT147 결합

	TNT146	TNT147	IgG 대조군
rVλ6Wil 합성 피브릴	67.00**	61.97**	
Aβ (1-40) 피브릴			
hIAPP 피브릴			
Vκ4(LEN(1-22) 비드			
HIG ALκ1			
TAL ALκ	1.76	1.10	0.10
SHI ALλ	1.90	1.51	0.17
TYL ALλ			
CAB ALκ4			
SNO hATTR			
KEN hATTR	1.50	0.71	0.15
wtATTR – PER125	2.64	1.66	0.13
wtATTR – PER253			
AA 마우스 간 상동체			
WT 마우스 간 상동체			

[0225]

[0226]

실시예 5. 마우스에서 SAP-Fc의 생체분포

[0227]

AA 아밀로이드증 마우스 모델

[0228]

AA 아밀로이드증 마우스는 안정적으로 삽입된 이식유전자로부터 인간 IL6(huIL6) 단백질을 발현하는 마우스 계통이다. B6(C)- Tg(H2-Ld-IL-6)Kish (H2/huIL-6) 군주는 20 세대 이상 동안 Balb/c 배경 위에 원래의 H2-Ld-IL-6 Tg C57BL/6 유전자 이식 마우스의 유전자이입(introgressive) 역교배에 의해 미국 국립보건원(National Institutes of Health)에서 파생되었다(Kovalchuk et al., PNAS(2002) 99:1509-1514). 이들 마우스는 마우스 주요 조직 적합성 복합체 클래스 1(H2-Ld) 프로모터의 조절 하에 huIL6 이식유전자를 구성적으로 발현한다. 이식유전자는 멘델 유전의 상염색체 패턴으로 분리된다(Suematsu et al., PNAS (1992) 89:232-235). 면역 반응 동안 염증 반응 및 림프구 증식의 유지에 있어서 IL6의 역할 때문에, 이러한 유전자이식 동물의 초기 세대는 높은 sAA 수준과 광범위한 림프구증가증을 가졌으며, 생후 18개월째에 마우스의 56%에서 다클론성 형질 세포 증식이 발생하였다(Kovalchuk et al., PNAS(2002) 99:1509-1514). 이러한 유전자이식 계통의 초기 세대에서 인간 IL6 혈청 수준은 0.5 내지 1 ng/ml였지만, 본 발명자들의 시설에서 대략 2년 동안 사육된 역교배 Balb/c 마우스는 8주령에 대략 300배 더 높은 수준의 순환 huIL6 수준(0.3 내지 1 µg/ml)을 가졌다(Solomon et al., Am J Pathol (1999) 154:1267-12724). 전염증성 huIL6 사이토카인에 대한 반응으로, 마우스는 순환하는 sAA-접합 고밀도 지질단백질의 농도가 증가하는 만성 염증 상태를 경험한다. 이들 마우스에서 AA 아밀로이드증의 자발적 발병은 전형적으로 생후 5개월째에 발생하였고, 생검에 의해서만 조직학적으로 검출 가능한 비장의 소포주위 침착물로서 먼저 나타났다(Solomon et al., Am J Pathol (1999) 154:1267-12724). 다음 3 내지 4개월 동안, 아밀로이드는 간, 허, 심장 및 장 융모뿐만 아니라 신장 간질, 사구체 및 유두 내 문맥주위 맥관구조 및 유동혈관에서 검출되었다. 추가적으로, IL6 농도 상승으로 인한 아밀로이드증 또는 림프구 증식증(또는 둘 다)으로 인한 골수 외 조혈 및 비장종대와 마찬가지로 캐스트 신장병증(cast nephropathy)이 일반적으로 관찰되었다.

[0229]

H2/huIL-6 마우스에서 아밀로이드의 성질을 AA-특이적 단클론성 항체를 사용하여 면역조직화학적으로 기록하였다(Solomon et al., Am J Pathol (1999) 154:1267-12724). 추가적으로, 액체 크로마토그래피-결합 질량 분석법은 단리된 조직-유래 AA 피브릴이 처음 77개의 N-말단 아미노산(잔기 1 내지 77)을 포함하는 절단된 형태의 sAA로 구성되어 있음을 나타내었다(Solomon et al., Am J Pathol (1999) 154:1267-12724). 아포지질단백질 AI 및 AII 또는 면역글로불린 경쇄의 증거는 면역조직화학 검사 및 이 마우스에서 추출한 아밀로이드의 액체 크로마토그래피-결합 질량 분석법 동안 발견되지 않았다.

- [0230] 야생형(WT) 마우스 및 AA 아밀로이드증 마우스 모델에서 SAP-Fc의 생체분포를 연구하였다.
- [0231] 야생형(WT) 마우스 및 AA 아밀로이드증 마우스 모델에서 조직 마이크로-자기방사법에 의해 SAP-Fc의 생체분포를 연구하였다. 인간 인터류킨-6 이식유전자를 구성적으로 발현하는 H2-Ld-huIL-6 Tg Balb/c 유전자이식 마우스에서 100ml의 멸균 인산염-완충 식염수(PBS) 중 10mg의 단리된 아밀로이드 강화 인자(AEF, Axelrad et al., Lab Invest (1982)47: 139-146.)를 IV 투여함으로써 AA 아밀로이드증 마우스 모델을 생성하였다. 이 연구에 사용된 마우스는 유도 후 4 내지 6주된 것이었다. AA 마우스 모델은 간질성 심장 아밀로이드 침착, 간에서의 광범위한 시누소이드(sinusoidal) 아밀로이드 침착, 비장에서의 초기 및 대량의 소포주위 아밀로이드 침착물, 및 나중에 췌장, 신장, 부신 및 장에서의 아밀로이드 침착물을 특징으로 한다.
- [0232] AA 또는 WT 마우스에 10 μ g의 125I 표지 TNT146(293) 및 TNT147(293)을 주사한 다음, 주사 후 48시간째에 안락사시켰다. 안락사 후 WT 및 AA 마우스에서 비장, 췌장, 좌우 신장, 간, 심장, 근육, 위, 상하부 장(upper and lower intestine), 및 폐 조직의 샘플을 채취하였다. 각각의 샘플을 무게를 잰 플라스틱 바이알에 넣고 무게를 측정된 다음, 자동화 Wizard 3 감마 계수기(1480 Wallac Gamma Counter, PERKIN ELMER®)를 사용하여 125I 방사능을 측정하였다. 생체분포 데이터를 조직 그램당 주입된 용량의 백분율(% ID/g)로 표현하였다. 추가적으로, 각각의 조직의 샘플을 10% 완충 포르말린에 24시간 동안 고정하고 조직학 및 자기방사법을 위해 파라핀에 포매하였다. 자기방사법의 경우, 포르말린-고정, 파라핀-포매 블록에서 4 내지 6 μ m 두께의 절편을 절단하여 Plus 현미경 슬라이드(FISHER SCIENTIFIC®) 위에 놓고, NTB2 에멀션(EASTMAN KODAK®)에 담근 다음, 어두운 곳에 보관하고, 96시간 노출 후 현상하였다. 각각의 절편을 헤마톡실린으로 대조염색하였다. 대안적으로, AA 또는 WT 마우스에 500 μ g의 비표지 TNT147(293)을 주사한 다음, 주사 후 48시간째에 안락사시켰다. 각각의 조직의 샘플을 10% 완충 포르말린에 24시간 동안 고정하고 파라핀에 포매하였다. 포르말린-고정, 파라핀-포매 블록에서 4 내지 6 μ m 두께의 절편을 절단하여 Plus 현미경 슬라이드(FISHER SCIENTIFIC®) 위에 놓은 다음, 절편을 항-인간 Fc로 염색하였다. 알칼리 콩고 레드로 염색한 후 교차 편광 조명 하에서 관찰한 연속 조직 절편에서 현미경으로 조직 아밀로이드 침착물을 확인하였다. 모든 조직 절편을 교차 편광 필터(콩고 레드 복굴절 검출용)가 장착된 광학 현미경(DM500, LEICA®)으로 검사하였다. 냉각된 전하 결합 장치 카메라(SPOT, DIAGNOSTIC INSTRUMENTS®)를 사용하여 디지털 현미경 이미지를 획득하였다.
- [0233] 도 11A 내지 도 11C의 결과는 TNT146(293) 및 TNT147(293)이 125I로 방사성 표지된 경우와 표지되지 않은 경우 모두 전신성 질환이 있는 마우스에서 AA 아밀로이드에 특이적으로 결합함을 나타낸다. 아밀로이드 침착물에 대한 TNT146(293) 및 TNT147(293) 둘 다의 특이적 결합은 자기방사법에 의해 심장에서 약간의 AA 침착물에서 입증되었다.
- [0234] 도 12A 내지 도 12B의 결과는 125I 표지된 TNT146(293) 및 TNT147(293)이 AA 마우스의 간 및 비장에 축적되었으며, WT 마우스의 아밀로이드가 없는 조직에는 축적되지 않음을 나타낸다.
- [0235] **실시예 6. SAP-Fc 작제물의 다량체화 분석**
- [0236] 아밀로이드에 대한 SAP의 높은 결합력의 결합은 오량체 또는 십량체로서 단백질의 적절한 다량체화에 의해 제공된다. 다른 한편으로, SAP-Fc의 대량 및/또는 부적절한 응집은 순환에서 빠르게 소거될 수 있으며, 따라서 PK 및 기능에 부정적인 영향을 미친다. 결과적으로, SAP-Fc 작제물의 고차 응집 분석은 이들 작제물의 생체 내 기능을 이해하는 데 중요하다.
- [0237] 크기 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 SAP-Fc 작제물의 다량체화 및 응집을 분석하였다. 이 분석에는 분자량이 10 내지 1300 kDa인 단백질에 적절한 매트릭스를 사용하였다. 상업용 단백질 제제를 분자량 표준물로 사용하였다. SAP-Fc 단량체에 대한 추정 분자량은 약 75 kDa이고, SAP-Fc 오량체에 대한 추정 분자량은 약 375 kDa이며, SAP-Fc 십량체에 대한 추정 분자량은 약 750 kDa이다.
- [0238] 도 13의 결과는 SAP-Fc 작제물이 모두 상이한 다량체화 구조를 갖는 한편, TNT146(293) 및 TNT147(293)이 가장 균질하다는 것을 나타낸다. CHO 대 HEK-293 세포에서의 생산은 TNT151 및 TNT152 작제물의 다량체화 구조에 크게 영향을 미쳤다(도 13).
- [0239] 마우스에서 이들 작제물의 흡수 및 생체분포를 또한 비교하였다. TNT146(293) 및 TNT147(293) 둘 다 비장에서 약 10%의 분포를 나타내었다(도 12A 내지 도 12B). 다른 작제물은 비장에서 더 적은 분포를 나타내었는데: TNT151(293)은 비장에서 약 2.5%의 분포를 나타내었으며, 이는 TNT146(293) 및 TNT147(293)보다 4배 더 적었고(도 14A); TNT152(293)는 비장에서 약 2%의 분포를 나타내었으며, 이는 TNT146(293) 및 TNT147(293)보다 5배 더 적었고(도 14B); TNT148(293)은 비장에서 약 3%의 분포를 나타내었으며, 이는 TNT146(293) 및 TNT147(293)

보다 3.3배 더 적었다(도 14C). 다량체화 분석의 SEC 크로마토그램을 종합하면, 이들 결과는 450 내지 669 kDa 사이의 이량체 피크가 AA 마우스에서 최적의 SAP-Fc 흡수와 상관관계가 있음을 나타낸다(도 12A 내지 도 12B, 도 14A 내지 도 14C 및 도 13).

[0240] **실시예 7. THP1 세포에 의한 rV λ 6W λ 1 피브릴의 식세포작용**

[0241] pHrodo 적색-표지 rV λ 6W λ 1 피브릴 시스템을 사용하여 식세포작용을 연구하였다.

[0242] 고상 W λ 1 피브릴 흡수 검정을 위해, 24-웰 조직 배양 플레이트를 실온에서 2시간 동안 유형 I 래트 콜라겐(20mM 아세트산 중 75 μ g/ml, 0.4ml)으로 코팅하고, 0.5ml PBS로 세척한 다음, pHrodo 적색-표지 rV λ 6 피브릴(30% 표지 분획) 20 μ g/웰로 0.5ml의 PBS에서 4°C에서 밤새 코팅하였다. 웰을 0.5ml PBS로 세척하고, 0.5ml의 무혈청 페놀 레드 무함유 RPMI 1640를 첨가하였다. 항체 흡소닌 또는 SAP-Fc 단백질을 첨가한 후, 무혈청, 페놀 레드 무함유 RPMI 1640에 RAW 264.7 또는 유도되지 않은 THP-1 세포(0.5ml에 1.2×10^6)를 즉시 첨가하여 37°C에서 4 시간 동안 인큐베이션하였다. 흡수 측정을 위해, 각각의 웰의 세포를 웰-스캐닝 방식으로 530/25nm 여기 및 645/40nm 방출에서 BioTek SynergyHT-1 마이크로플레이트 판독기에서 형광 측정을 위해 검정색 플라스틱/투명 바닥 96-웰 마이크로플레이트(Corning)의 3중 웰로 옮겼다. 1ml의 배지에서만 인큐베이션된 웰의 배경 판독값을 차감하여 상대 형광 단위를 제공한다.

[0243] 도 15의 결과는 SAP-Fc TNT146(CHO), TNT147(239), TNT148(CHO) 및 TNT151(CHO)가 탁월한 흡소닌화제의 역할을 하는 반면, TNT152(CHO)가 가장 덜 효과적인 시약이고, 이는 rV λ 6W λ 1 피브릴에 대한 약한 결합과 일치한다는 것을 나타낸다.

[0244] **실시예 8. 0상 생체분포 연구**

[0245] AUR03은 본 연구에서 사용된 요오도젠(Iodogen) 튜브 방법을 이용하여 124I로 방사성 표지된 SAP-Fc이다. 0상 연구의 목적은 다음과 같다: 1) 전신성 아밀로이드증 환자에서 표적의 결합 및 표적 결합을 포함하여 생체분포를 결정함; 2) AUR03이 심장 및 신장과 같은 표적 아밀로이드가 다량 존재하는 기관에 관여하는지 여부를 결정함; 3) AUR03이 ATTR 및 AL 환자 둘 다에서 아밀로이드가 다량 존재하는 기관에 결합하는지 여부를 결정함; 4) 개발 계획을 위해 아밀로이드 유형 또는 장기별로 AUR03을 다른 약물과 구별함.

[0246] 30명의 환자를 2개의 코호트로 모집한다. 심장 침범의 증거가 있는 15명의 ATTR 환자를 코호트 1a로 모집하고; 복부흉부 기관 침범이 있는 15명의 AL 환자를 코호트 1b로 모집한다. 두 코호트의 환자는 1회 용량의 100 μ g AUR03을 받은 다음, 1 내지 2개의 임상 부위에서 주사 후 2일 및 5일째에 영상을 촬영한다.

[0247] CBC, ClinChem, NT-proBNP 및 LDH 연구를 위해 주사 전 및 주사 후 혈액을 수집한다. PK 결정을 위해 혈액 샘플을 수집하고, 혈액 샘플의 방사능을 72시간에 걸쳐 측정한다.

[0248] **실시예 9: 생체내 식세포작용**

[0249] 10% pHrodo 적색 표지 물질을 함유하는 12mg 인간 AL λ (SHI) 아밀로이드의 배치를 실온(RT)에서 혼합하면서 30 분 동안 2mM CaCl₂가 포함된 트리스-완충 식염수 중 600 μ g의 TNT146과 함께 사전 인큐베이션하였다. 형광단 pHrodo 적색의 형광 방출 증가는 대식세포 및 잠재적으로 호중구에 의한 식세포작용 동안 아밀로이드의 산성화와 연관이 있다. 면역력이 약화된 NU/NU(누드) 마우스(n = 5)는 마우스의 왼쪽 옆구리에 피하 주사로 인간 AL λ (SHI) 2mg을 받았다. NU/NU 마우스의 대조군(n = 5)은 TNT146 처리 없이 2mg의 인간 AL λ (SHI)의 유사한 피하 투약을 받았다. pHrodo 적색 형광단에 의해 방출되는 형광을 2% 아이소플루란 마취 상태 하의 마우스를 이용하여 광학 영상화에 의해 연속적으로 모니터링하였다. 아밀로이드 주입 후 1, 3, 8, 10, 12 및 14일째에 영상을 수집하였다. 15일째에 마우스를 안락사시켰다.

[0250] 광학 영상화에 의한 pHrodo 적색의 정량화는 TNT146 처리 마우스에서 방출의 초기 증가를 나타내었으며, 이는 연구 과정 전체에 걸쳐 지속되었다(도 17A). 1일째(아밀로이드 주사 후 24시간)에 TNT146-처리 아밀로이드에 대한 형광 방출은 대조군 동물보다 현저하게 더 높았다(도 17B). 14일째에, TNT146-처리 아밀로이드는 대조군 동물보다 눈에 띄게 더 높은 형광 방출을 나타내었다(도 18). 이들 데이터는 아밀로이드에 대한 TNT146의 결합이 마우스에 피하 주사되었을 때 인간 아밀로이드의 식세포작용을 향상시킨다는 것을 나타낸다.

[0251] **실시예 10 아밀로이드 피브릴의 보체-강화 식세포작용**

[0252] 단계 1: THP-1 세포의 M0 대식세포로의 분화

[0253] 10% FBS(Hyclone, SH 30071.03), 1% Pen-Strep(Gibco, 15140-122) 및 1% 젠타마이신(Gibco, 15710-064)이 보

충된 완전 DMEM/F12(Hyclone, SH 30023.01)에서 24-웰 조직 배양 플레이트(Costar 3526)의 중앙 웰에 106개 세포/웰을 계수하여 도달한다.

- [0254] 50 ng/ml PMA(Sigma, P8139)를 첨가하고 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 동안 37℃에서 세포가 분화되도록 한다.
- [0255] 24시간 후, 수동 흡인에 의해 PMA를 포함하는 배지를 조심스럽게 제거한다.
- [0256] 1ml의 완전 DMEM-F12 배지로 웰을 채우고 최소 48시간 동안 세포를 휴지시킨다.
- [0257] 단계 2: 샘플 준비
- [0258] 1ml의 DPBS(Hyclone, SH 30028.02)로 웰을 1회 행군다.
- [0259] 각각의 웰에 500 μ l의 페놀 레드가 없는 무혈청 RPMI-1640(Hyclone, SH30605.01)을 첨가하고, 검정을 시작할 때까지 37℃에서 플레이트를 인큐베이션한다.
- [0260] 500 μ l의 RPMI-1640을 마이크로퓨즈 튜브에 첨가한 후 TNT146 또는 대조군 Fc를 3 μ g으로 첨가하여 반응을 준비한다. 잘 혼합한다.
- [0261] 마이크로퓨즈 튜브에, pHrodo 적색-표지(pHrodo™ Red SE, ThermoFisher, P36600) rV λ 6W11 피브릴(20 μ g)을 첨가한다.
- [0262] 다음으로 20 μ g의 기니피그 보체를 웰의 절반에 첨가한다. 잘 혼합하고 실온에서 5분 동안 인큐베이션한다.
- [0263] 각각의 마이크로퓨즈 튜브의 내용물을 24-웰 플레이트의 각각의 웰로 옮긴다(각각의 웰의 총 부피는 이제 1ml가 될 것이다).
- [0264] (와류 운동보다는) 수직 운동으로 플레이트를 움직임으로써, 손으로 가볍게 혼합한다.
- [0265] 조직 배양 플레이트를 5% CO₂ 인큐베이터에서 1시간 동안 37℃에서 인큐베이션하여 식세포작용을 촉진시킨다.
- [0266] 단계 3: 영상 획득 및 정량화
- [0267] 1시간 인큐베이션 후, pHrodo 적색과 연관된 형광을 형광 현미경(Keyence BZ X800 V 1.3.1)에 의해 기록하였다.
- [0268] 각각의 웰에 대해 4개의 영상을 캡처하여 웰의 모든 영역이 기록되는 것을 확실히 한다.
- [0269] 각각의 영상에서 형광의 양을 영상 분할 및 (Image Pro Premier V 9.0)을 사용하여 정량화한다.
- [0270] 데이터를 4개 관찰의 평균 및 표준 편차를 계산하여 분석한다. Prism(v. 9.0, GraphPad)을 사용하여 $\alpha = 0.05$ (데이터가 정규 분포된 경우)인 비대응 양측 T-검정(unpaired, two-tailed t-test)을 사용하여 통계 분석을 수행하였다.
- [0271] 활성화된 인간 THP-1 세포는 TNT146의 첨가에 의해 옅소닌화될 때 합성 rV λ 6W11 AL 아밀로이드-유사 피브릴을 효과적으로 취한다(식세포작용). 20 μ g의 고풍성 기니피그 보체의 존재 시 pHrodo 적색의 형광 강도가 현저하게 증가하여, TNT146 및 보체의 존재 시 피브릴의 향상된 식세포작용을 나타낸다(도 19).
- [0272] **실시예 11 huSAP의 존재 하에 아밀로이드 피브릴에 대한 SAP-Fc 융합체의 결합**
- [0273] 인간 아밀로이드 추출물(AL κ TAL 및 AL λ SHI), ATTRwt, 및 합성 AL 아밀로이드-유사 피브릴(rV λ 6W11)을 96-웰 마이크로플레이트에서, 2mM CaCl₂이 포함된 TBS 중 인간 혈청 아밀로이드 P 성분(SAP)에서 30분 동안 37℃에서 인큐베이션함으로써 사전처리하였다. 각각 0.83 μ M 및 0.06 mg/ml의 rV λ 6W11 및 아밀로이드 추출물의 원액을 사용하였다. 인간 SAP에서 인큐베이션하지 않은 샘플은 대조군의 역할을 하였다. 인큐베이션 후, 샘플을 TBS/CaCl₂ 중 100nM로부터 시작하여 연속 희석으로 마이크로플레이트 웰에 첨가된 TNT146(MW = 410 kD)으로 세척하였다. 세척 단계 후, 결합된 TNT146을 바이오티닐화 항-인간 Fc 시약의 첨가에 의해 검출하였다. 스트랩타 비딘-유로피움 접합체 및 현상액을 첨가한 후, 시간-분해 형광을 측정함으로써 결합된 TNT146을 정량화하였다.
- [0274] 복제 웰의 평균 및 SD를 플롯팅하고, 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자형 알고리즘(Prism v9.1, Graphpad)에 피팅하였다.
- [0275] AL 또는 ATTR 아밀로이드 추출물 또는 아밀로이드-유사 피브릴에 대한 인간 SAP의 사전 결합은 기질에 결합하는 TNT146의 능력에 부정적인 영향을 미치지 않았다. (도 20A 내지 도 20D).

[0276] 실시예 12 huSAP의 존재 하에 아밀로이드 피브릴에 대한 SAP-Fc 융합체의 결합

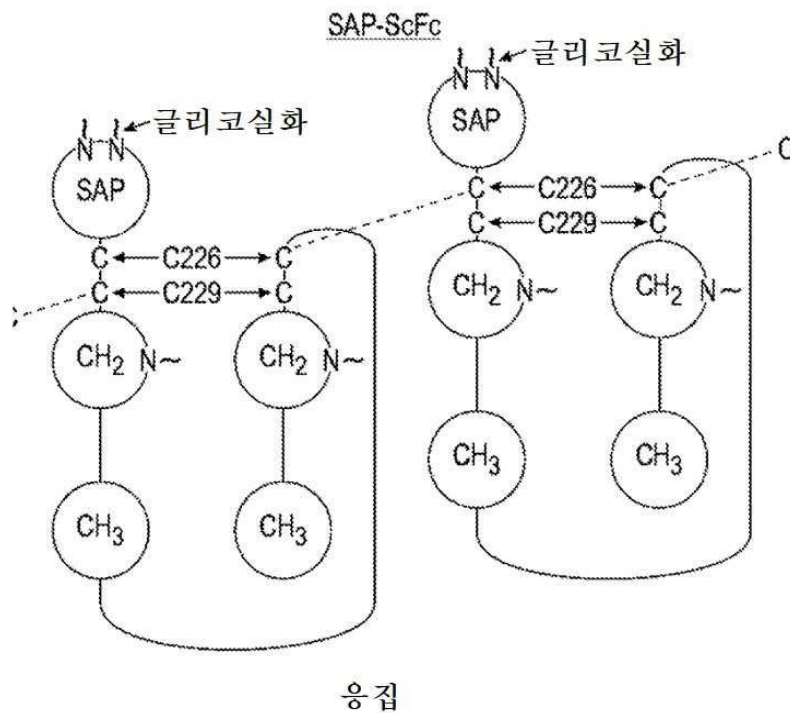
[0277] 합성 A β (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴을 PBS에서 96-웰 마이크로플레이트의 웰에 코팅하였다. 웰을 차단한 후 세척 단계를 수행하고 TBS/CaCl₂ 중 연속 희석으로 마이크로플레이트 웰에 TNT146(MW = 410 kD)을 첨가하였다. 결합된 TNT146을 바이오티닐화 항-인간 Fc 시약의 첨가에 의해 검출하였다. 스트렙타비딘-유로퓸 접합체 및 현상액을 첨가한 후, 시간-분해 형광을 측정함으로써 결합된 TNT146을 정량화하였다. 인간 Fc를 대조군 시약으로 사용하였다.

[0278] 복제 웰의 평균 및 SD를 플롯팅하고, 데이터를 가변 기울기를 갖는 S자형 알고리즘(Prism v9.1, Graphpad)에 피팅하였다.

[0279] A β (1-40) 아밀로이드-유사 피브릴에 대한 TNT146의 결합은 0.4nM의 추정된 EC₅₀(최대 결합의 50% 절반에서의 농도)으로 포화 결합을 초래하였다(도 21). Fc의 결합은 약하였고, 어떠한 EC₅₀도 정확하게 결정될 수 없었지만 약 0.2 mM인 것으로 추정되었다.

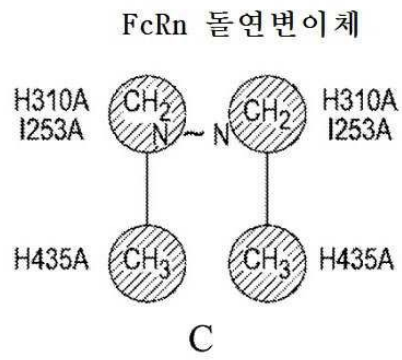
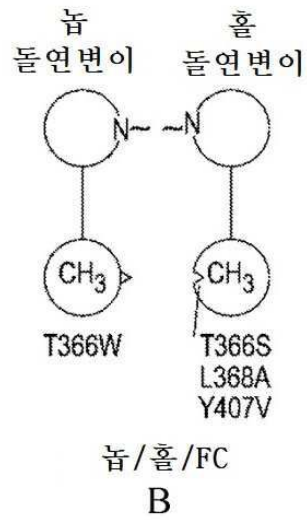
도면

도면1

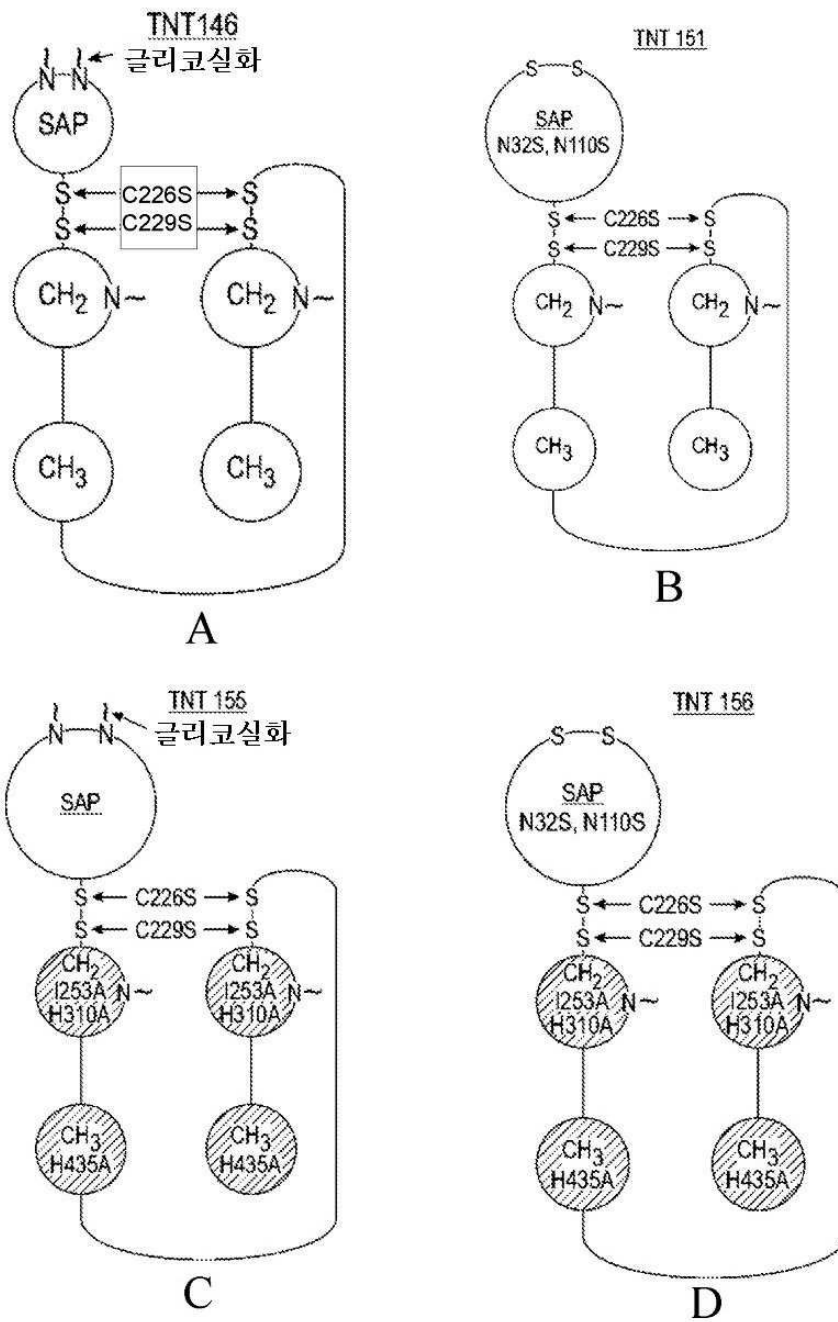


도면2

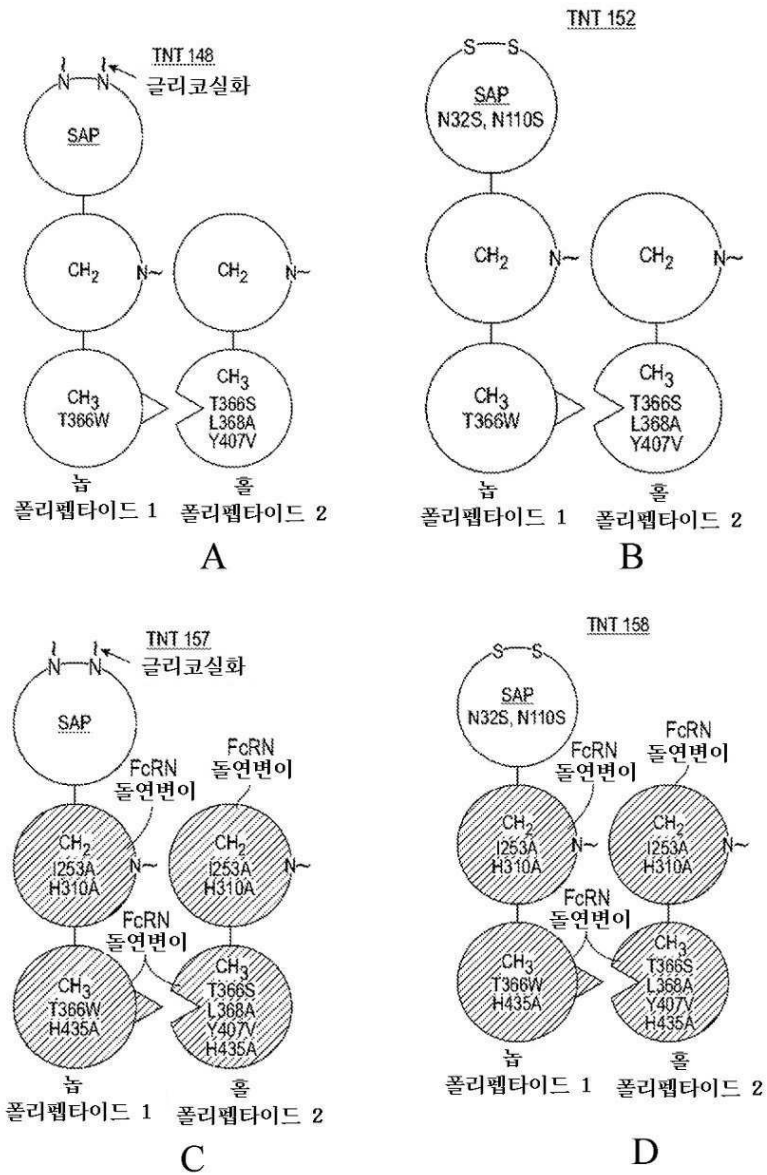
탈글리코실화 SAP 돌연변이체



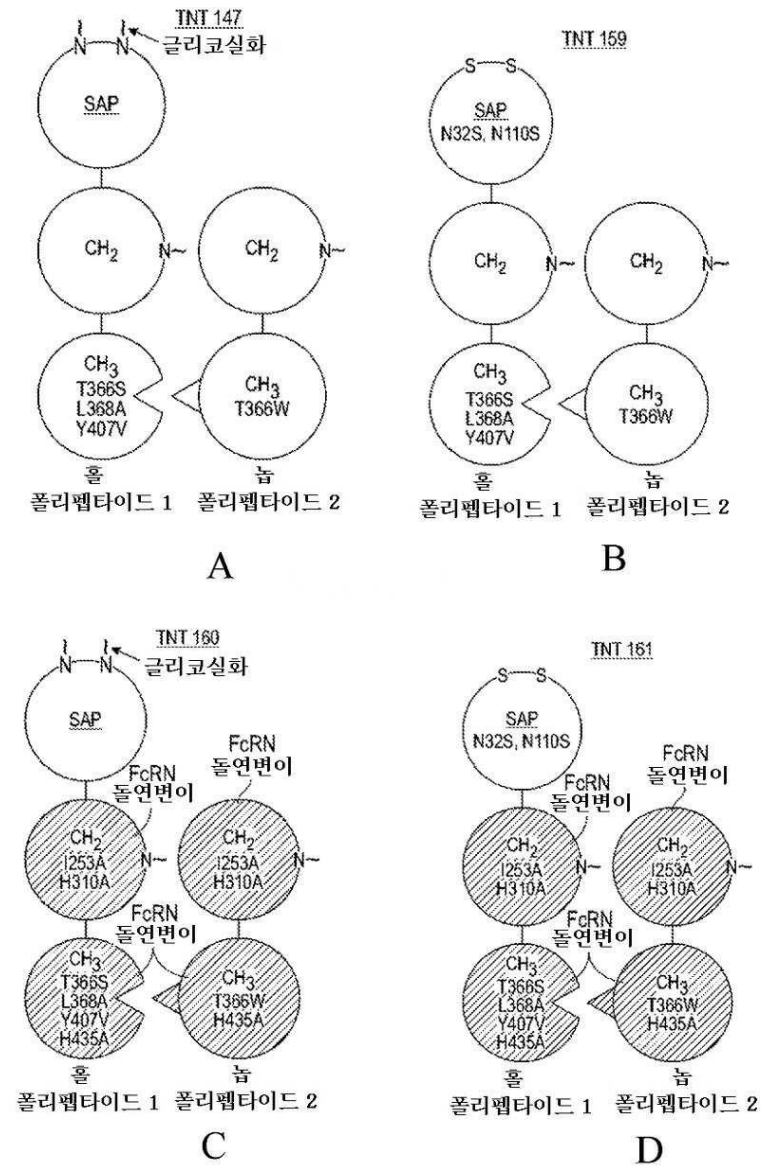
도면3



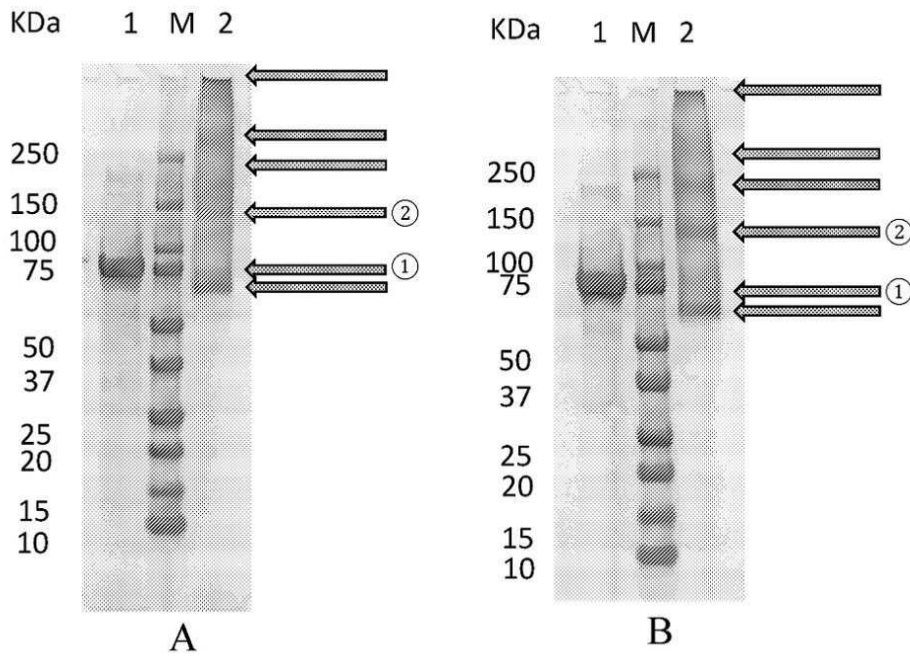
도면4



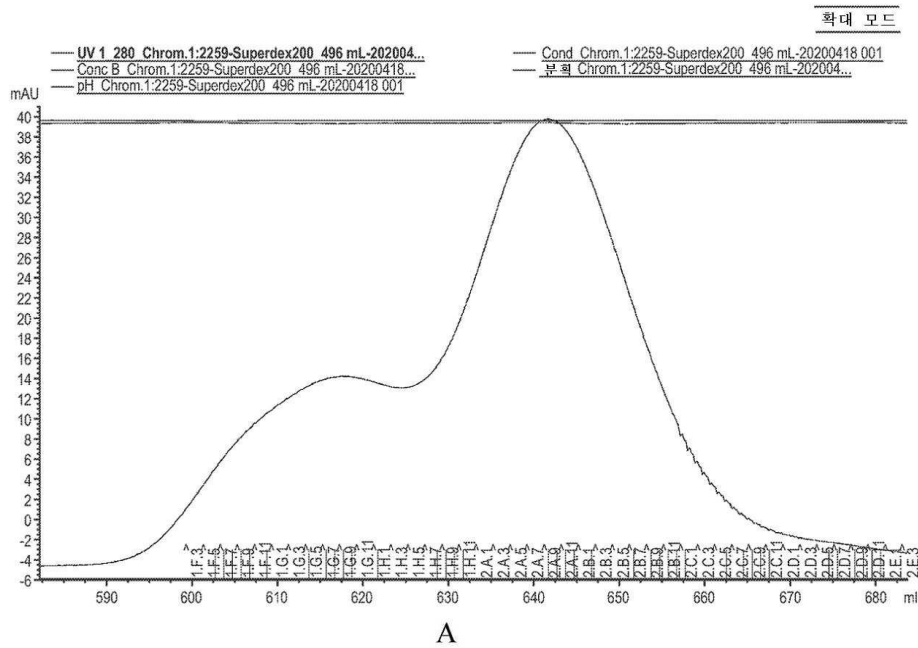
도면5



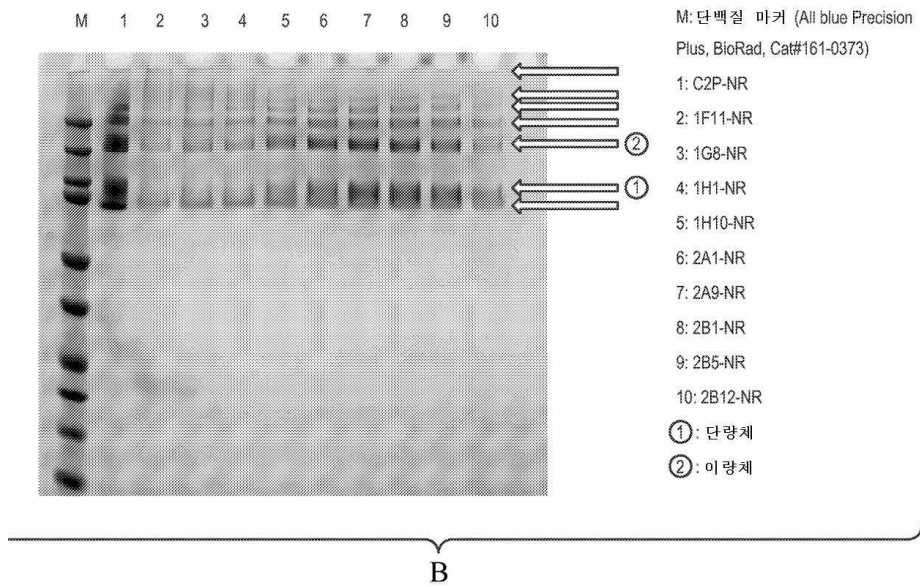
도면6



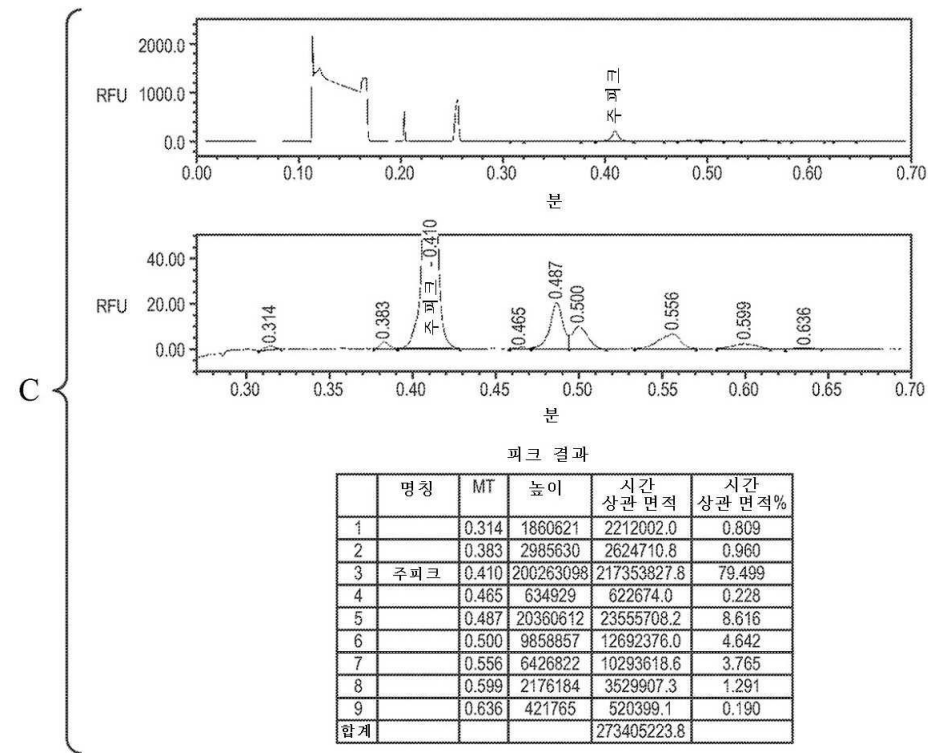
도면7a



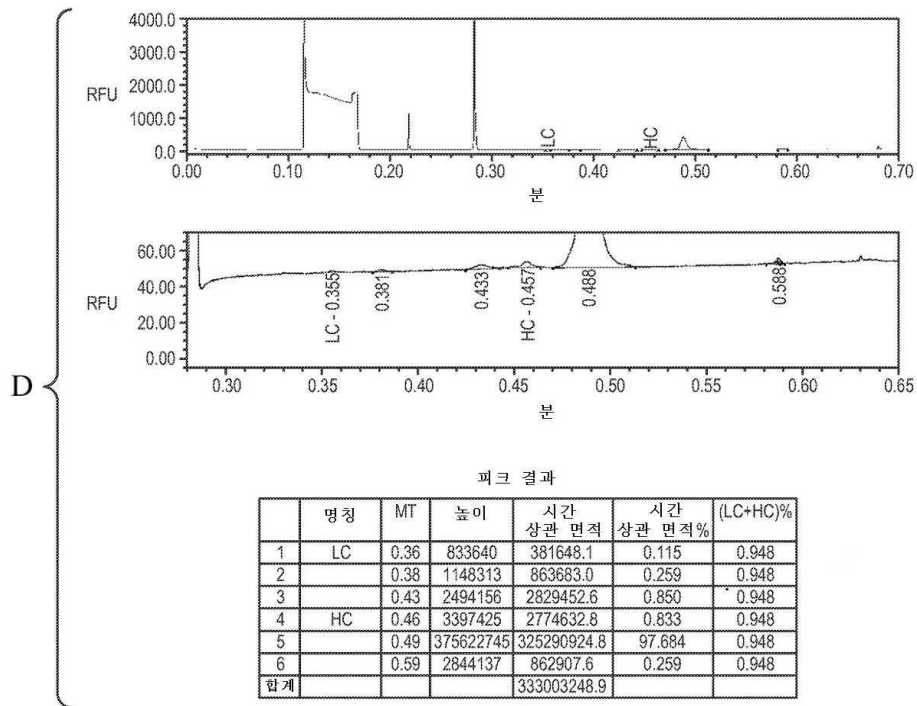
도면7b



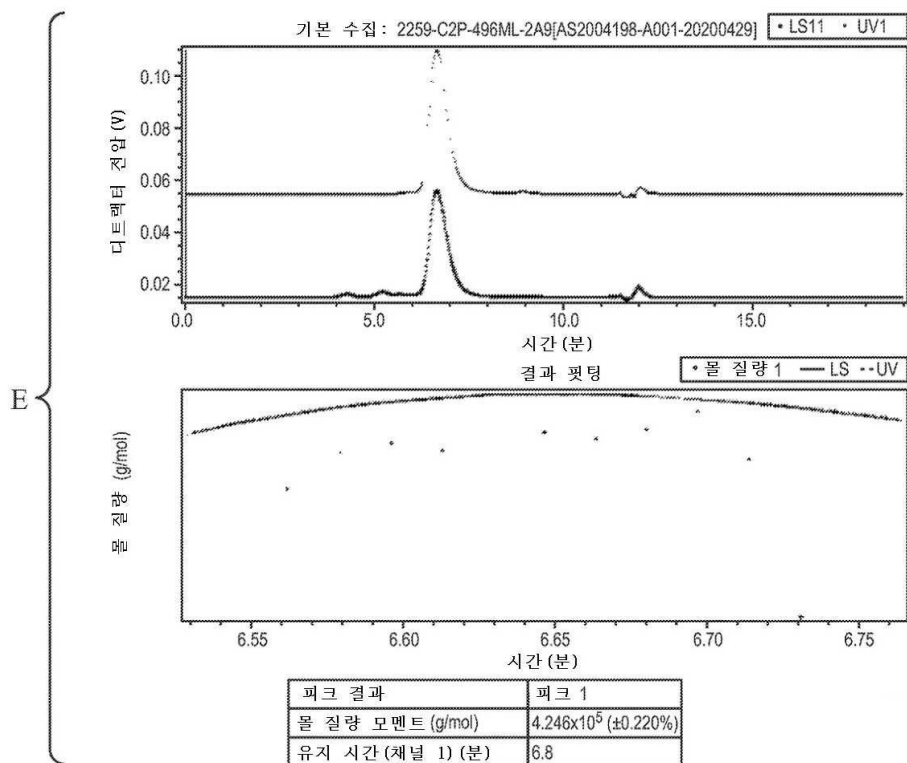
도면7c



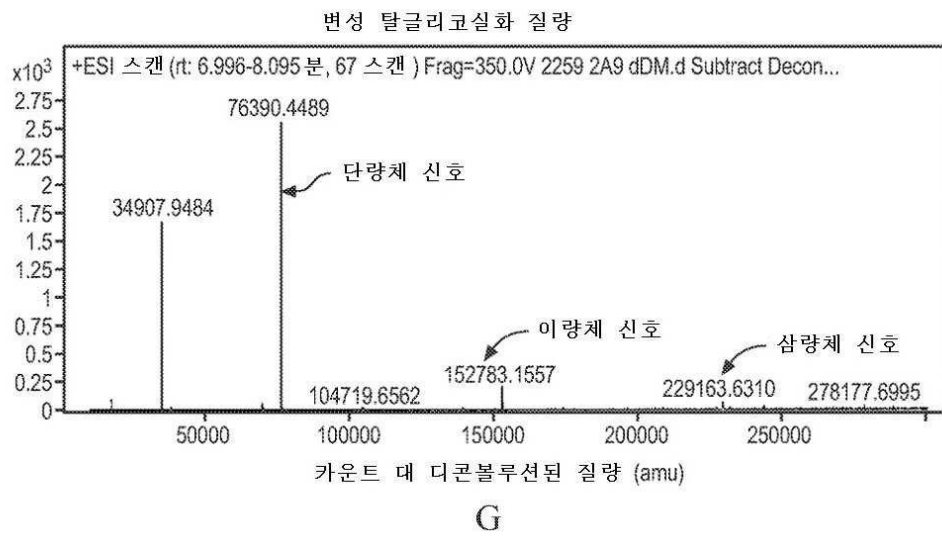
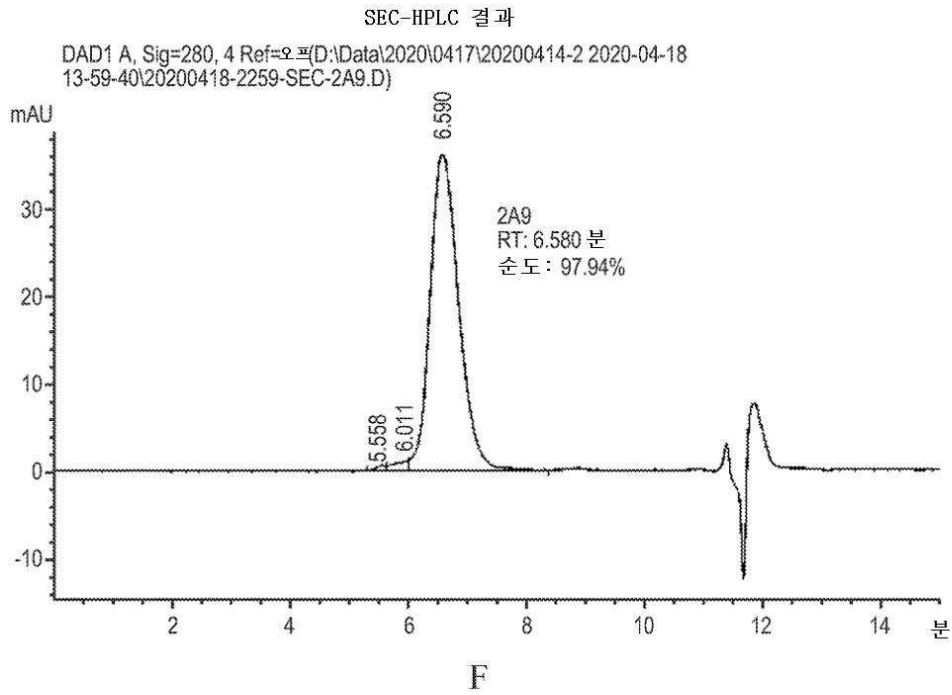
도면7d



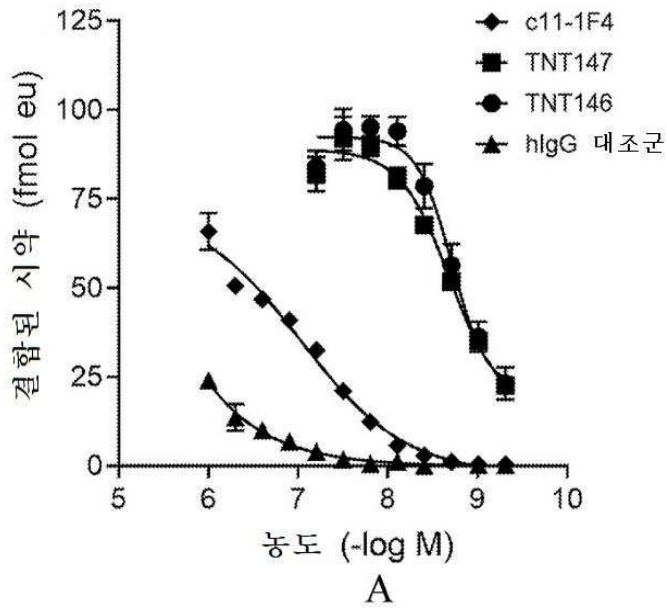
도면7e



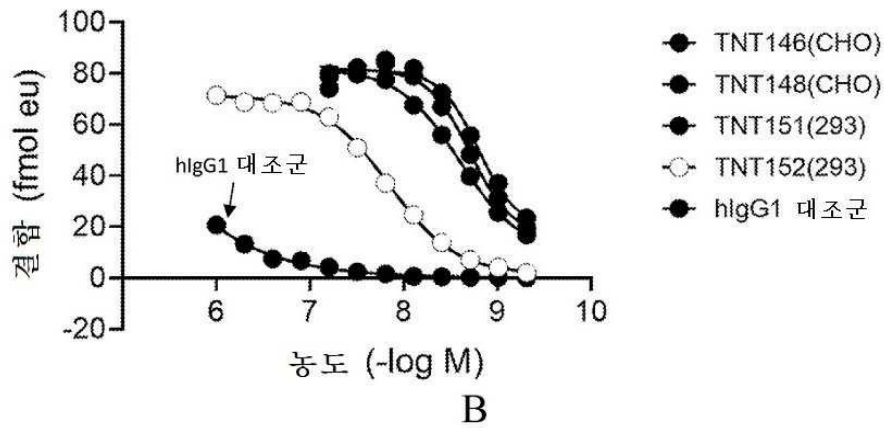
도면7fg



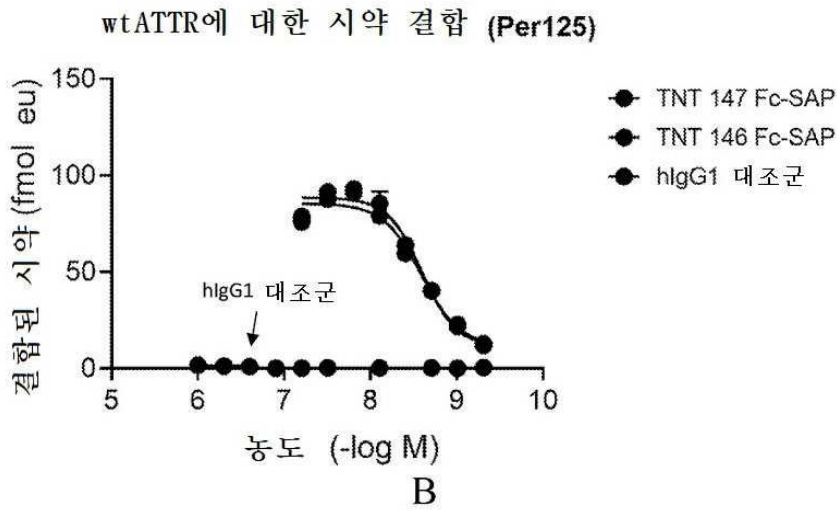
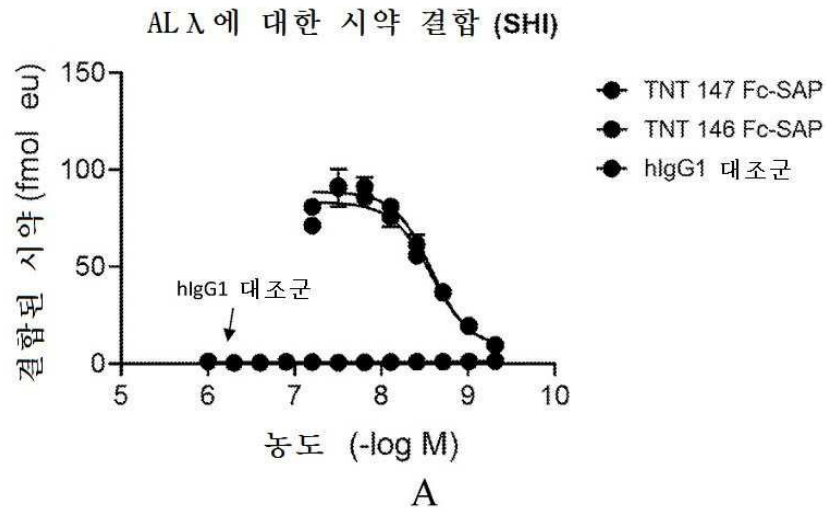
도면8



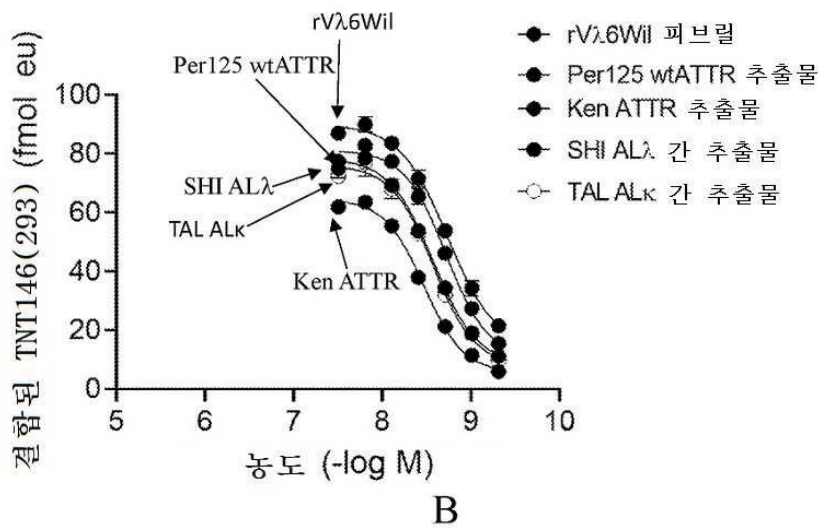
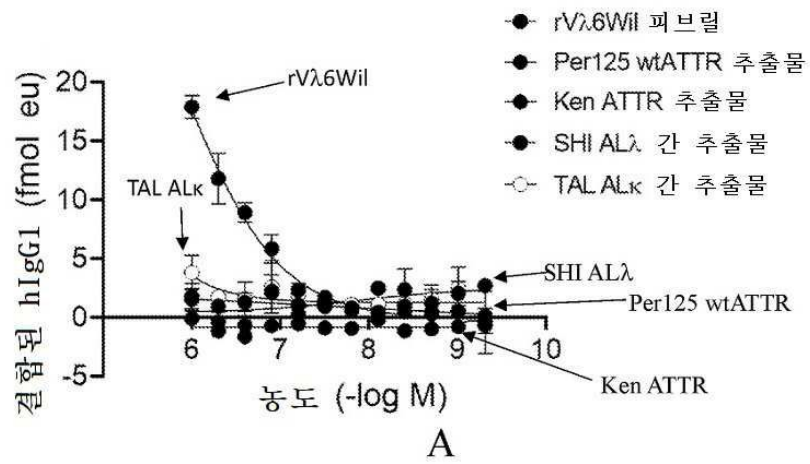
rVΛ6W11 피브릴에 대한 Fc-SAP 작제물 결합



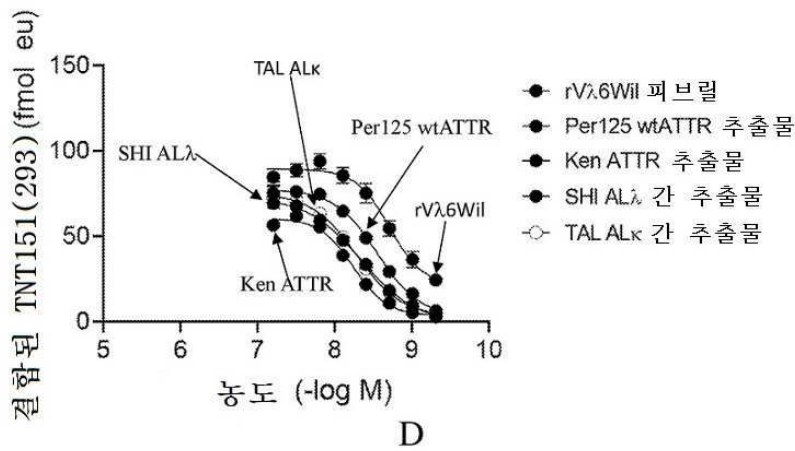
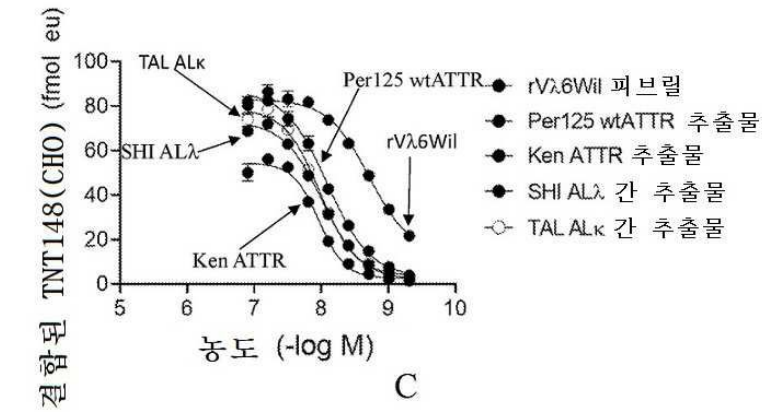
도면9



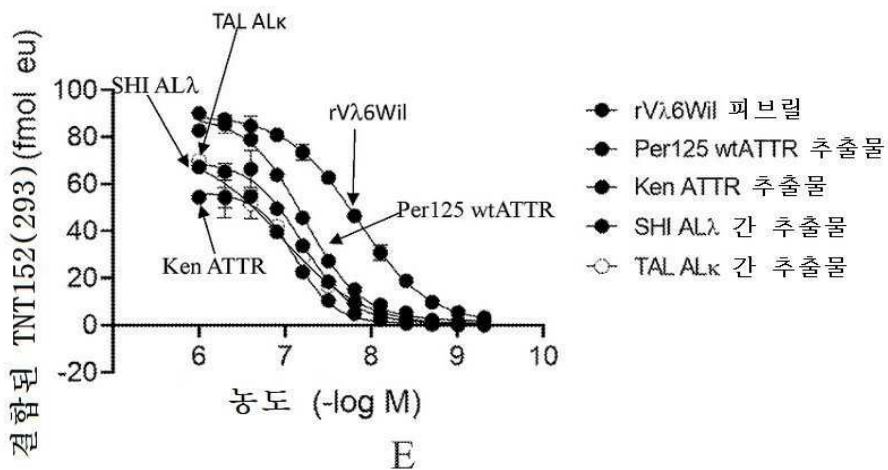
도면10ab



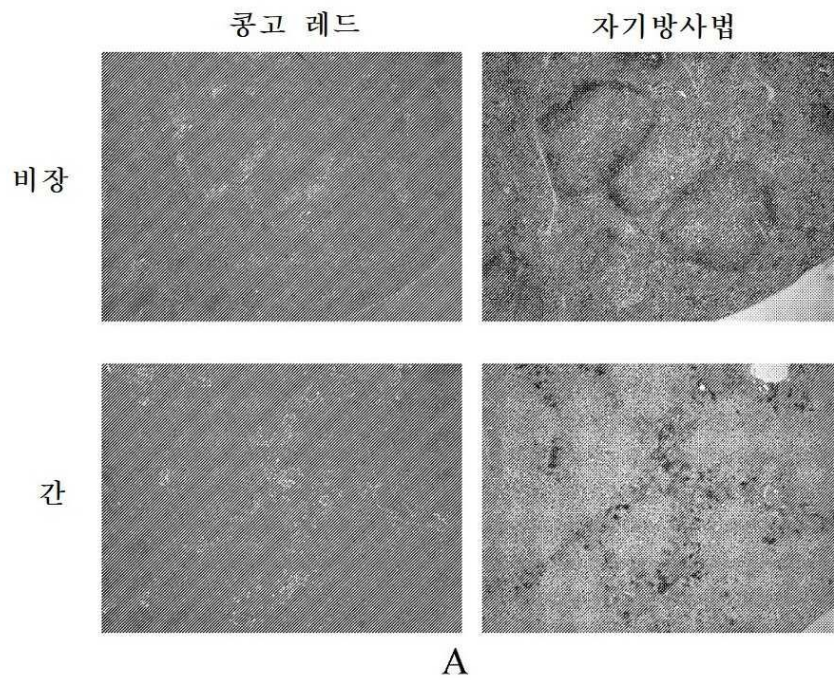
도면10cd



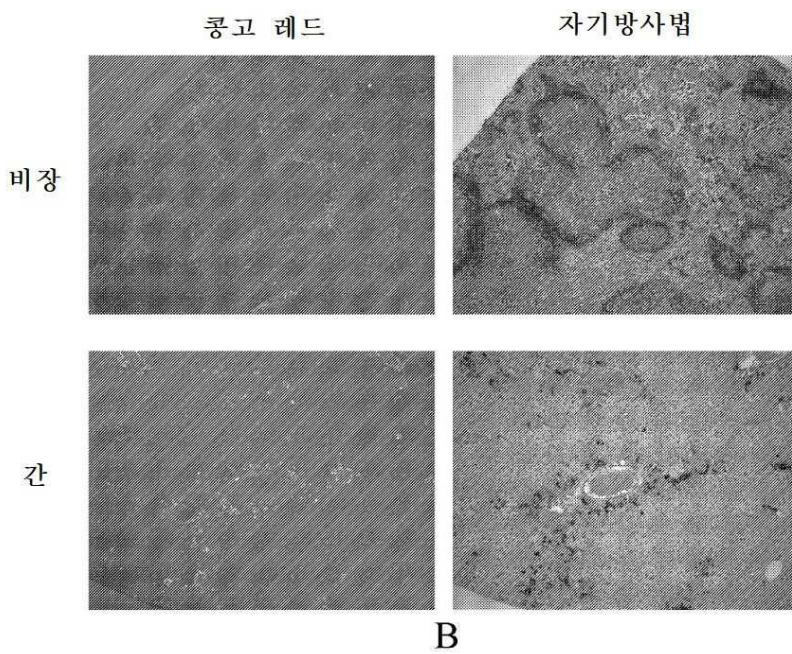
도면10e



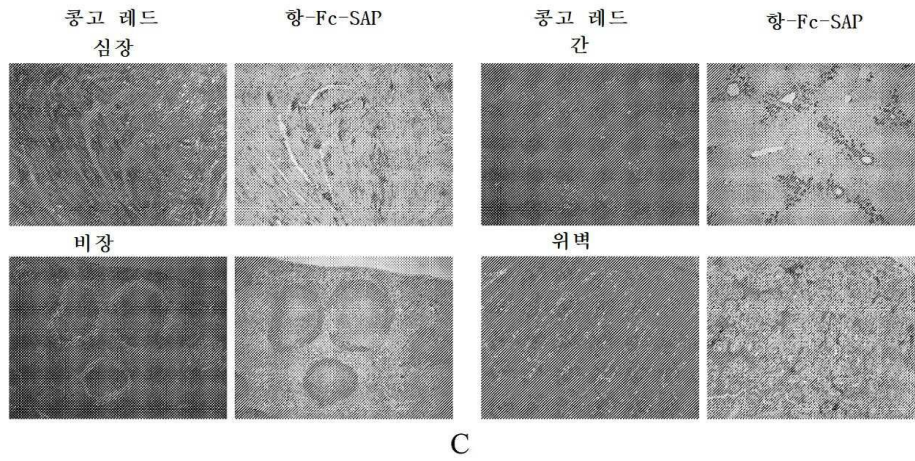
도면11a



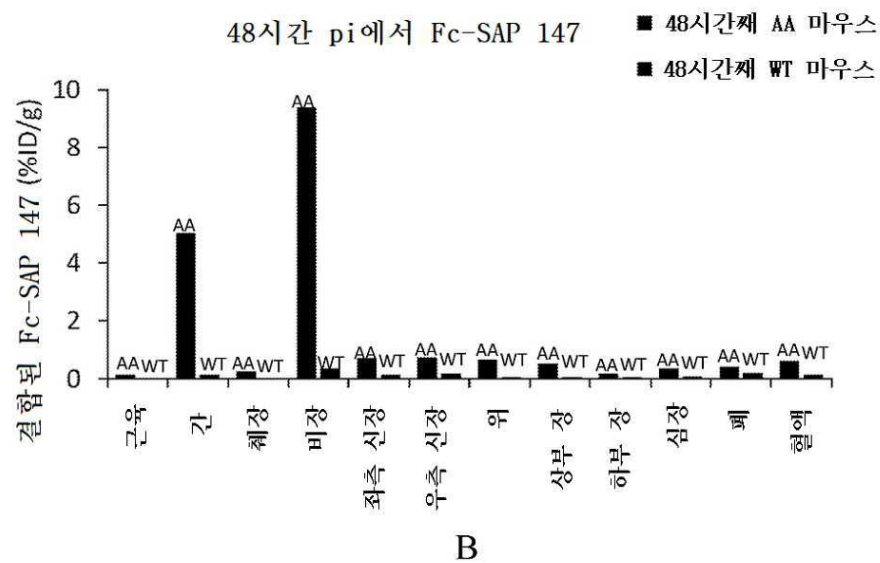
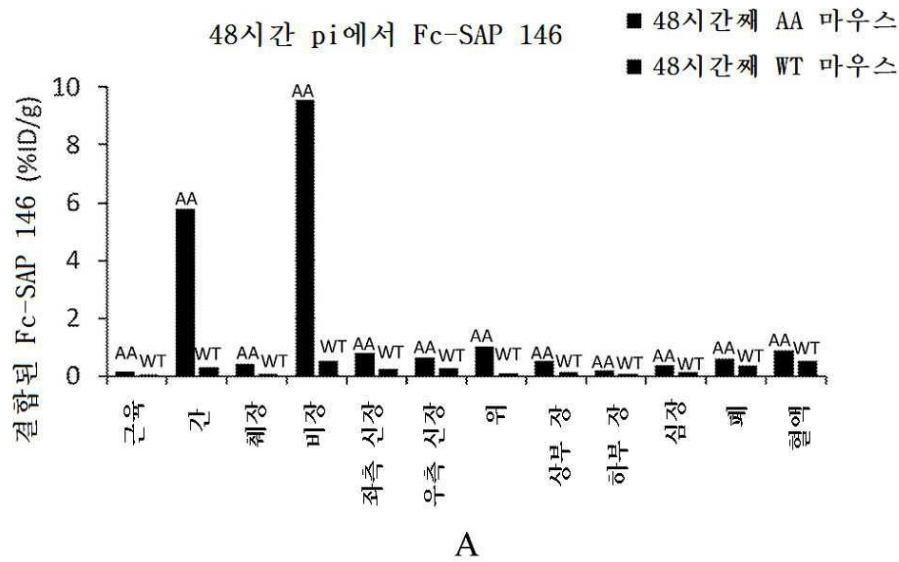
도면11b



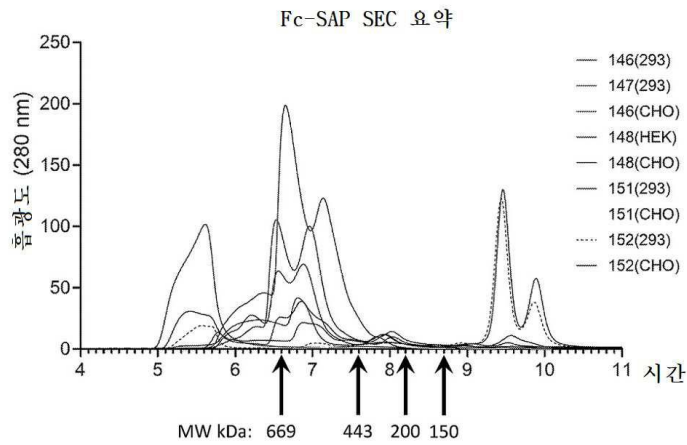
도면11c



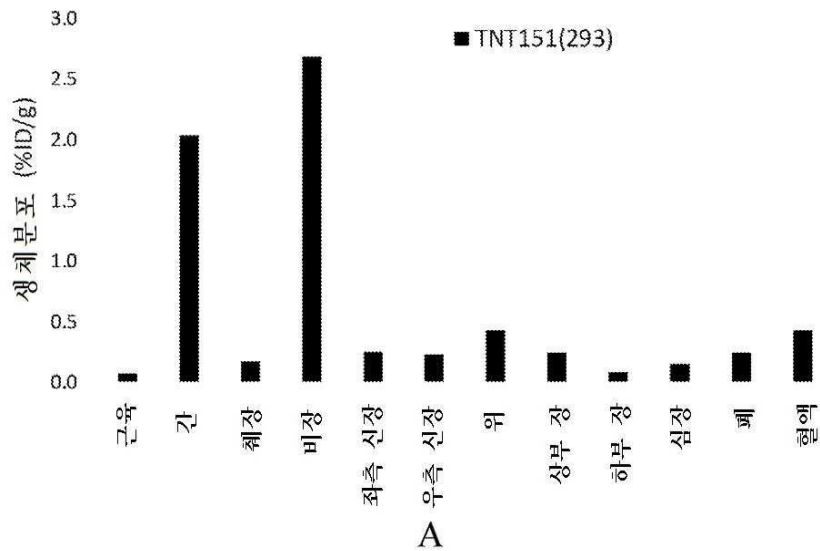
도면12



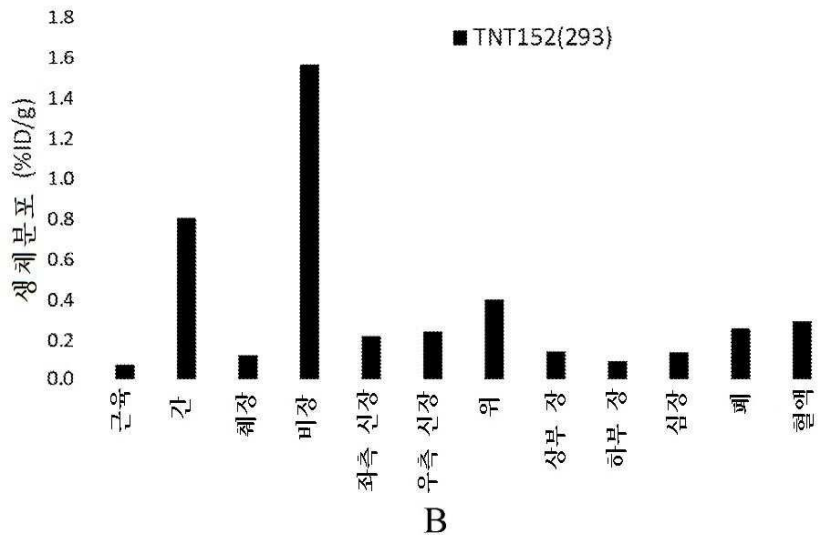
도면13



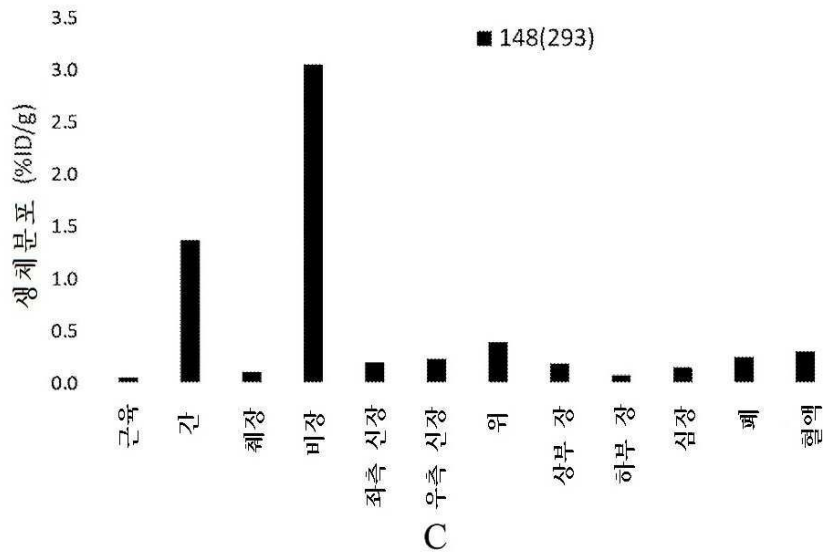
도면14a



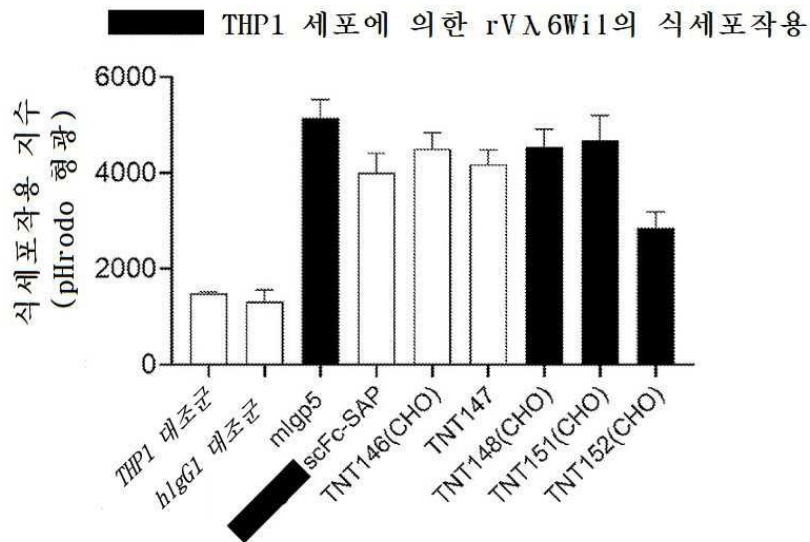
도면14b



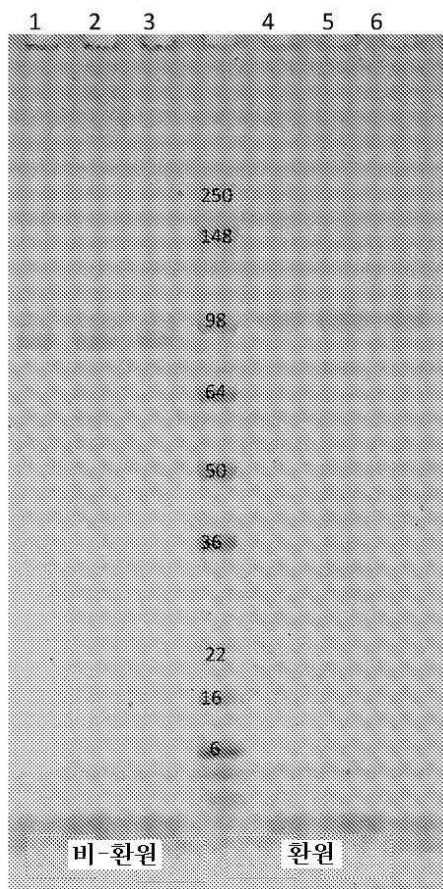
도면14c



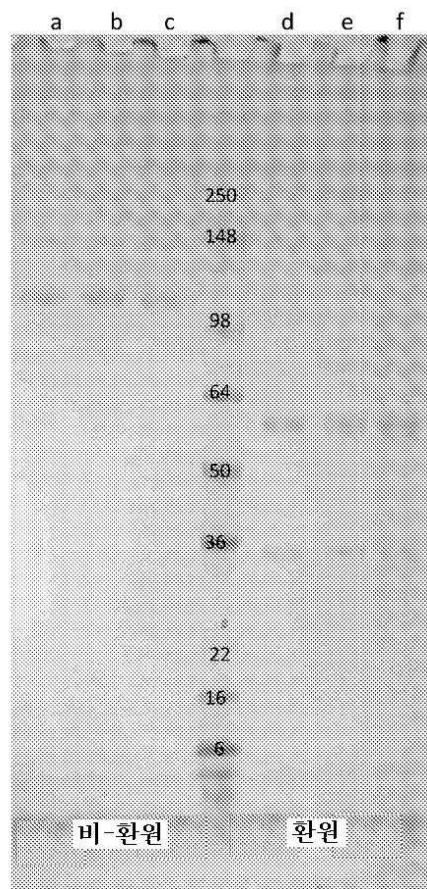
도면15



도면16

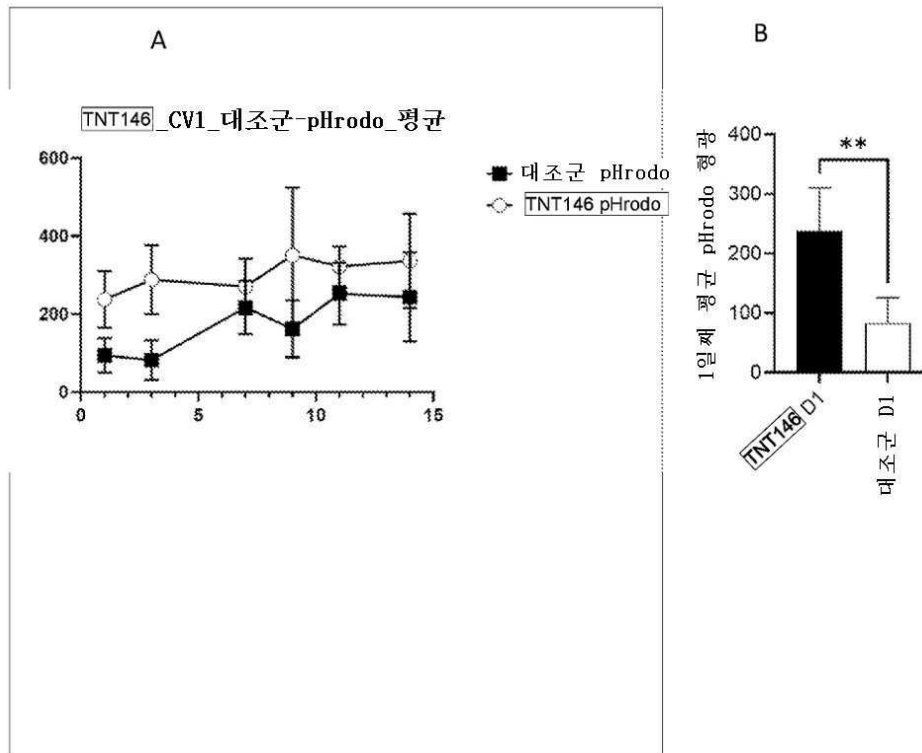


A

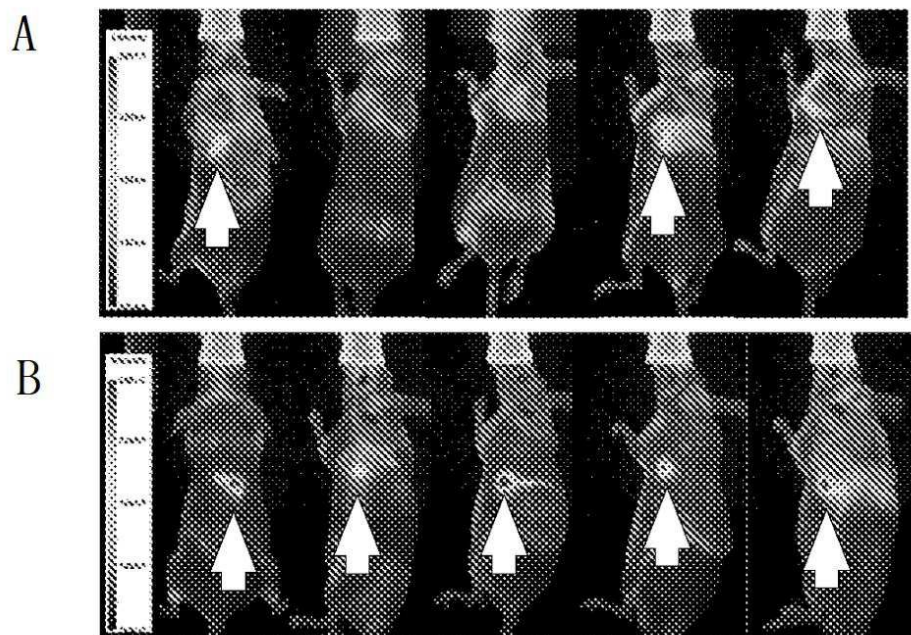


B

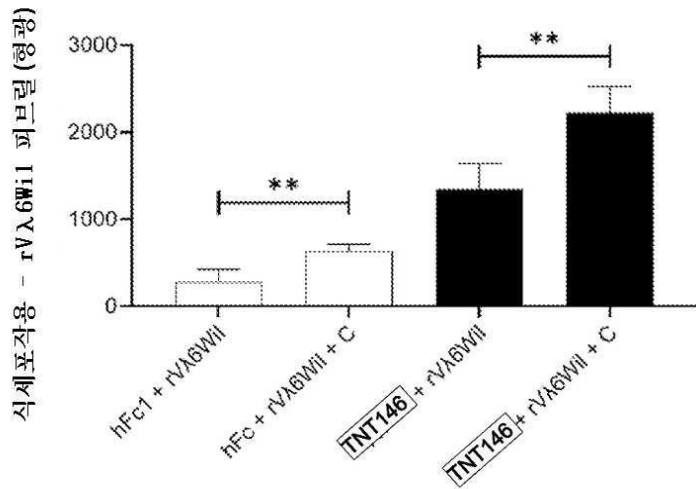
도면17



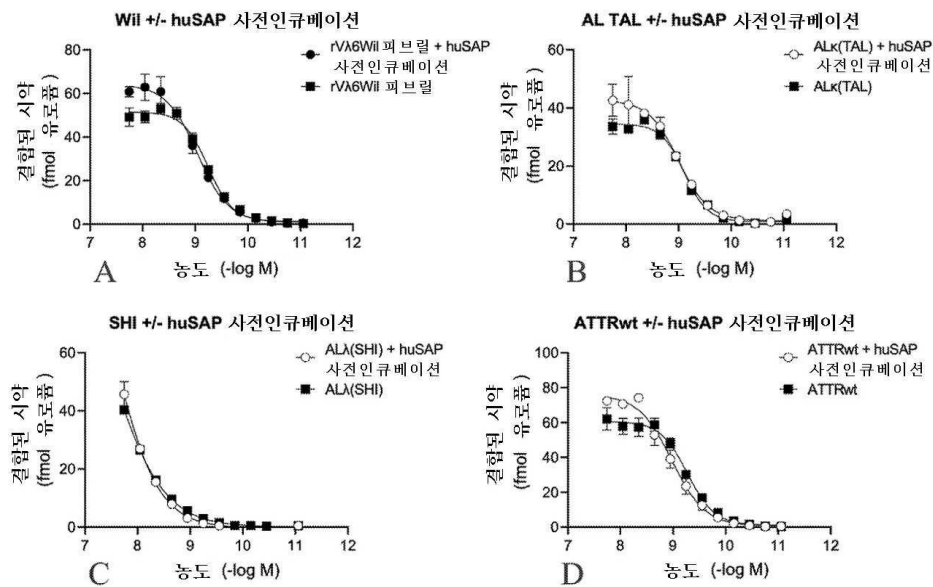
도면18



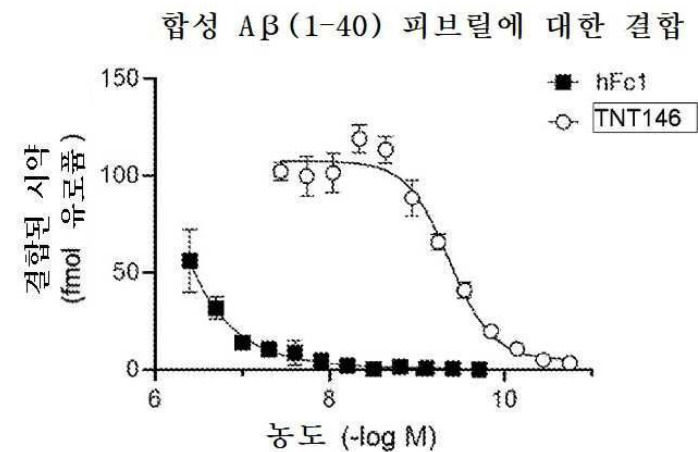
도면19



도면20



도면21



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Attralus, Inc.

<120> SAP FC FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

<130> 16599-20002.40

<140> PCT/US2021/072168

<141> 2021-11-01

<150> US 63/153,777

<151> 2021-02-25

<150> US 63/108,799

<151> 2020-11-02

<160> 25

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 683

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 1

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn

20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser

35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
370 375 380

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
385 390 395 400

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
405 410 415

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
420 425 430

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro
450 455 460

Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
465 470 475 480

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
485 490 495

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
500 505 510

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
515 520 525

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
530 535 540

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
545 550 555 560

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
565 570 575

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
580 585 590

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

595 600 605
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 610 615 620
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 625 630 635 640
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 645 650 655

 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 660 665 670
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 675 680
 <210> 2
 <211> 683
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 2
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15
 Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Ser

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

 85 90 95
 Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Ser Gly Thr
 100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp

145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

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

210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

340 345 350

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

355 360 365
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 370 375 380
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 385 390 395 400
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

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

 465 470 475 480
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 485 490 495
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 500 505 510
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 515 520 525
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

 530 535 540
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 545 550 555 560
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 565 570 575
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 580 585 590
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

 595 600 605

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 610 615 620
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 625 630 635 640
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 645 650 655
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 660 665 670
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 675 680
 <210> 3
 <211> 683
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 3
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15
 Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
 20 25 30
 Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
 35 40 45
 Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr
 50 55 60
 Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val
 65 70 75 80
 Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
 85 90 95
 Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr
 100 105 110
 Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln

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

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

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

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

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

 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

610				615				620							
Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
625				630				635				640			
Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly
645				650				655				660			
Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	Ala	Tyr
660				665				670				675			
Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys					
675				680											
<210> 4															
<211> 683															
<212> PRT															
<213> Artificial Sequence															
<220>															
<223> Synthetic Construct															
<400> 4															
His	Thr	Asp	Leu	Ser	Gly	Lys	Val	Phe	Val	Phe	Pro	Arg	Glu	Ser	Val
1				5				10				15			
Thr	Asp	His	Val	Asn	Leu	Ile	Thr	Pro	Leu	Glu	Lys	Pro	Leu	Gln	Ser
20				25				30							
Phe	Thr	Leu	Cys	Phe	Arg	Ala	Tyr	Ser	Asp	Leu	Ser	Arg	Ala	Tyr	Ser
35				40				45							
Leu	Phe	Ser	Tyr	Asn	Thr	Gln	Gly	Arg	Asp	Asn	Glu	Leu	Leu	Val	Tyr
50				55				60							
Lys	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ile	Gly	Arg	His	Lys	Val
65				70				75				80			
Thr	Ser	Lys	Val	Ile	Glu	Lys	Phe	Pro	Ala	Pro	Val	His	Ile	Cys	Val
85				90				95							
Ser	Trp	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Ala	Glu	Phe	Trp	Ile	Ser	Gly	Thr
100				105				110							
Pro	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	Arg	Gln	Gly	Tyr	Phe	Val	Glu	Ala	Gln
115				120				125							

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
340 345 350

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

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

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

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

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

 610 615 620

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

<210> 5

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 5

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
1 5 10 15
Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
20 25 30
Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
35 40 45
Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr
50 55 60
Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val
65 70 75 80
Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
85 90 95
Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr
100 105 110
Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125
Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe

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

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

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

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

 370 375 380

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 385 390 395 400
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 405 410 415
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435
 <210> 6
 <
 211> 232
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 6
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 50 55 60
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 65 70 75 80
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 85 90 95
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val

180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 7

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 7

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

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

65 70 75 80
Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Ser Gly Thr
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

340 345 350
 Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 355 360 365
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 370 375 380
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

 385 390 395 400
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 405 410 415
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435
 <210> 8
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 8
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

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

 65 70 75 80
 Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
 85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

340 345 350
 Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 355 360 365
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 370 375 380
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

 385 390 395 400
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 405 410 415
 Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435
 <210> 9
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 9
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

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

 65 70 75 80
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
 85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 130 135 140
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
 180 185 190
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230
 <210> 10
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 10
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15
 Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Ser
 20 25 30
 Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
 35 40 45
 Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50					55					60									
Lys	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ile	Gly	Arg	His	Lys	Val				
65					70					75					80				
Thr	Ser	Lys	Val	Ile	Glu	Lys	Phe	Pro	Ala	Pro	Val	His	Ile	Cys	Val				
85					90					95									
Ser	Trp	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Ala	Glu	Phe	Trp	Ile	Ser	Gly	Thr				
100					105					110									
Pro	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	Arg	Gln	Gly	Tyr	Phe	Val	Glu	Ala	Gln				
115					120					125									
Pro	Lys	Ile	Val	Leu	Gly	Gln	Glu	Gln	Asp	Ser	Tyr	Gly	Gly	Lys	Phe				
130					135					140									
Asp	Arg	Ser	Gln	Ser	Phe	Val	Gly	Glu	Ile	Gly	Asp	Leu	Tyr	Met	Trp				
145					150					155					160				
Asp	Ser	Val	Leu	Pro	Pro	Glu	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Tyr	Gln	Gly	Thr				
165					170					175									
Pro	Leu	Pro	Ala	Asn	Ile	Leu	Asp	Trp	Gln	Ala	Leu	Asn	Tyr	Glu	Ile				
180					185					190									
Arg	Gly	Tyr	Val	Ile	Ile	Lys	Pro	Leu	Val	Trp	Val	Glu	Pro	Lys	Ser				
195					200					205									
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu				
210					215					220									
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu				
225					230					235					240				
Met	Ala	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser				
245					250					255									
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu				
260					265					270									
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr				
275					280					285									
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	Ala	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn				
290					295					300									

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 325 330 335

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 405 410 415
 Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435

<210> 11

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
 20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
 35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50				55				60							
Lys	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ile	Gly	Arg	His	Lys	Val
65				70				75				80			
Thr	Ser	Lys	Val	Ile	Glu	Lys	Phe	Pro	Ala	Pro	Val	His	Ile	Cys	Val
85				90				95							
Ser	Trp	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Ala	Glu	Phe	Trp	Ile	Asn	Gly	Thr
100				105				110							
Pro	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Leu	Arg	Gln	Gly	Tyr	Phe	Val	Glu	Ala	Gln
115				120				125							
Pro	Lys	Ile	Val	Leu	Gly	Gln	Glu	Gln	Asp	Ser	Tyr	Gly	Gly	Lys	Phe
130				135				140							
Asp	Arg	Ser	Gln	Ser	Phe	Val	Gly	Glu	Ile	Gly	Asp	Leu	Tyr	Met	Trp
145				150				155				160			
Asp	Ser	Val	Leu	Pro	Pro	Glu	Asn	Ile	Leu	Ser	Ala	Tyr	Gln	Gly	Thr
165				170				175							
Pro	Leu	Pro	Ala	Asn	Ile	Leu	Asp	Trp	Gln	Ala	Leu	Asn	Tyr	Glu	Ile
180				185				190							
Arg	Gly	Tyr	Val	Ile	Ile	Lys	Pro	Leu	Val	Trp	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
195				200				205							
Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu
210				215				220							
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
225				230				235				240			
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser
245				250				255							
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
260				265				270							
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr
275				280				285							
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
290				295				300							

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 325 330 335

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 405 410 415
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435

<210> 12

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 12

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 65 70 75 80

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

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

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 13

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 13

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Ser
20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr
50 55 60

Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val
65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Ser Gly Thr
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

260 265 270
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 275 280 285

 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 290 295 300
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 325 330 335
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 340 345 350

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

 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435
 <210> 14
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 14
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr
50 55 60

Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val
65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser
195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

260 265 270
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 275 280 285

 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn
 290 295 300
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 305 310 315 320
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 325 330 335
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 340 345 350

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

 Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 420 425 430
 Ser Pro Gly Lys
 435
 <210> 15
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Construct
 <400> 15
 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 16

<211> 436

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 16

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Ser

20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser

35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Ser Gly Thr

100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln

115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe

130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile

180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser

195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
225 230 235 240

Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn
290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
340 345 350

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
370 375 380

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
385 390 395 400

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
405 410 415

Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
420 425 430

Ser Pro Gly Lys
435

<210> 17

<211> 204

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 17

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn

20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser

35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr

100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln

115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe

130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile

180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val

195 200

<210> 18

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 18

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 19

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 20

<211> 204

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 20

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Ser

20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser

35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Ser Gly Thr
100 105 110
Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
115 120 125
Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe
130 135 140
Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp
145 150 155 160
Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr
165 170 175
Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile
180 185 190
Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val

195 200

<210> 21

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 21

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

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

85 90 95
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 22

<211> 683

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 22

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
 20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
 35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr

100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln

115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe

130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile

180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser

195 200 205

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

210 215 220

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

225 230 235 240

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

245 250 255

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

260 265 270

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

275 280 285

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

290 295 300
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

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

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

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

 500 505 510
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 515 520 525
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 530 535 540

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 545 550 555 560
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

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

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

<210> 23

<211> 683

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 23

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

50 55 60
 Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val
 65 70 75 80
 Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val
 85 90 95
 Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr
 100 105 110
 Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln
 115 120 125

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

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

 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 260 265 270
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 275 280 285
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn
 290 295 300

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
305 310 315 320

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
340 345 350

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
370 375 380

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
385 390 395 400

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
405 410 415

Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
420 425 430

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro
450 455 460

Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
465 470 475 480

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
485 490 495

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
500 505 510

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
515 520 525

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
530 535 540

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

545 550 555 560
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 565 570 575

 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 580 585 590
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 595 600 605
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 610 615 620
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 625 630 635 640

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

 <210> 24
 <211> 683
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 24
 His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val
 1 5 10 15

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

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

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
325 330 335

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
340 345 350

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
355 360 365

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
370 375 380

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
385 390 395 400

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
405 410 415

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
420 425 430

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
435 440 445

Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro
450 455 460

Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
465 470 475 480

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
485 490 495

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
500 505 510

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
515 520 525

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
530 535 540

Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
545 550 555 560

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

565 570 575
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 580 585 590

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 595 600 605

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 610 615 620

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 625 630 635 640

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 645 650 655

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr
 660 665 670

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 675 680

<210> 25

<211> 699

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 25

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
 1 5 10 15

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val

20 25 30

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn
 35 40 45

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser
 50 55 60

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr
 65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val

100 105 110

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr

115 120 125

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln

130 135 140

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe

145 150 155 160

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp

165 170 175

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

180 185 190

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile

195 200 205

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

450 455 460
Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro

465 470 475 480
Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

485 490 495
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

500 505 510
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

515 520 525
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

530 535 540
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

545 550 555 560
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

565 570 575

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

580

585

590

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

595

600

605

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

610

615

620

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

625

630

635

640

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

645

650

655

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

660

665

670

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

675

680

685

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

690

695