(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0146620
(43) 공개일자 2023년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/09 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/61 (2017.01) *A61K 47/64* (2017.01)
A61P 31/04 (2006.01) *C07K 14/315* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/092 (2013.01)
A61K 47/61 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2023-7031748
(22) 출원일자(국제) 2022년02월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년09월15일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/016630
(87) 국제공개번호 WO 2022/178015
국제공개일자 2022년08월25일
(30) 우선권주장
63/150,516 2021년02월17일 미국(US)
63/288,387 2021년12월10일 미국(US)

(71) 출원인
박사이트, 인코포레이티드
미국 캘리포니아주 94070 산카를로스 인더스트리얼 로드 825 스위트 300
(72) 발명자
다베이 피터 티.
미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 슈트 300 인더스트리얼 로드 825 박사이트, 인코포레이티드
세드라 앤지 에이.
미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 슈트 300 인더스트리얼 로드 825 박사이트, 인코포레이티드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 108 항

(54) 발명의 명칭 **폴리사카라이드 및 이의 폴리펩타이드 접합체의 정제 방법**

(57) 요 약

본원 개시내용은 면역원성 조성물에 사용하기에 적합한 고분자량 세균 폴리사카라이드(예를 들어, 세포벽 폴리사카라이드) 및 이의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 정제하는 방법을 제공한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 47/646 (2017.08)
A61P 31/04 (2018.01)
C07K 14/315 (2013.01)
A61K 2039/575 (2013.01)
A61K 2039/6037 (2013.01)
A61K 2039/6087 (2013.01)
A61K 2039/627 (2013.01)
(72) 발명자
아가왈 파레쉬
미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 슈트 300 인더스트리얼 로드 825 박사이트, 인코포레이티드
베렌스 크리스토퍼 알.
미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 슈트 300 인더스트리얼 로드 825 박사이트, 인코포레이티드
인 루
미국 캘리포니아주 94070 샌 카를로스 슈트 300 인더스트리얼 로드 825 박사이트, 인코포레이티드

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체:

(a) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드로서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 항원 또는 폴리펩타이드; 및

(b) 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa의 분자량을 갖는 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 정제된 세포벽 폴리사카라이드에 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원이 전장 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 전장 GAS 폴리펩타이드 항원의 단편인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포벽 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서, 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 10몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 7

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 10몰% 내지 약 18몰%가 링커에 의해 유도체화된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 평균 분자량이 약 200 kDa 내지 약 700 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 600 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 400 kDa 내지 약 500 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드에서 리신, 류신, 이소류신 또는 아르기닌으로 치환되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 pAMF인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제, 스트렙토리신 O(SLO), SpyAD, Sib35, 및 Sfb1로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원이 SpyAD 폴리펩타이드 또는 이의 단편인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 18

제16항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 19

제16항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 20

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 21

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 22

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 23

제16항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 24

제1항, 제2항 또는 제4항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 ADI, 페리틴, 단백질 D 및 eCRM197로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 eCRM197인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 eCRM197이 서열번호 25의 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 27

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 표 1에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 28

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 표 1A에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

청구항 29

면역원성 조성물로서,

(a) 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;

(b) GAS 스트렙토리신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및

(c) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편, 및

면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체

를 포함하고;

상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화되고;

상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 33

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 34

제29항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SLO 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 35

제29항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 36

제29항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

청구항 37

제29항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.

청구항 38

제29항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편이 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 39

제29항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 40

제29항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 41

제29항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 42

제29항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 43

제29항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 44

제29항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 45

제29항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 46

제29항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하고; 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 47

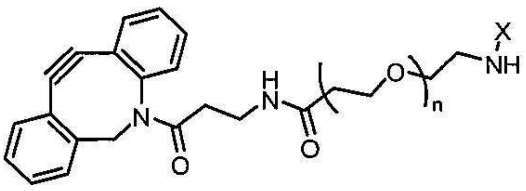
제29항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖고; 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고; 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 48

제29항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 15몰% 및 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된, 면역원성 조성물.

청구항 49

제29항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 nnAA의 클릭 화학 반응성 그룹과의 반응 전에 링커가 하기 화학식 I의 구조를 포함하는, 면역원성 조성물:



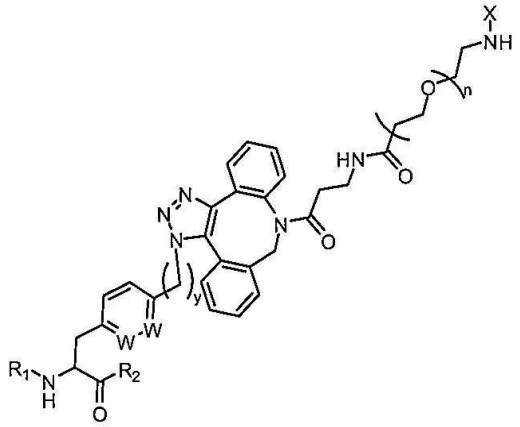
(화학식 I)

상기식에서, X는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 단편의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이고, n은 적어도 1이다.

청구항 50

제29항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편이 화학식 II에

따른 GAS 폴리사카라이드에 연결된, 면역원성 조성물.



(화학식 II)

상기식에서,

R_1은 H, 포밀 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산이고;

R_2는 OH 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산이고;

W는 CH 또는 N이고;

y는 적어도 1이고;

n은 적어도 1이고;

X는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이다.

청구항 51

제29항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체가 적어도 약 10 KDa 내지 적어도 약 40 KDa의 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.

청구항 52

제29항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

청구항 53

제29항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 200 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

청구항 54

제29항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

청구항 55

제29항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 600 kDa인, 면역원성 조성물.

청구항 56

제29항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 약 60% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 57

제29항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 약 50% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 58

제29항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 약 25% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 59

제29항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 약 15% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 60

제29항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 약 10% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

청구항 61

제29항 내지 제60항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고, 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.

청구항 63

대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 제29항 내지 제60항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

청구항 64

대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 제29항 내지 제60항 중 어느 한 항의 면역원성 조성물의 용도.

청구항 65

세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법으로서, 상기 방법이 다음 단계를 포함하는, 방법:

(a) 염기 및 환원제를 포함하는 용액 중에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계; 및

(b) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 세균 세포가 슈도모나스(*Pseudomonas*) 세균 세포, 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 세균 세포, 스타필로코커스(*Staphylococcus*) 세균 세포, 나이세리아(*Neisseria*) 세균 세포, 해모필러스(*Haemophilus*) 세균 세포, 리스테리아(*Listeria*) 세균 세포, 엔테로코커스(*Enterococcus*) 세균 세포 또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 세균 세포인, 방법.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 상기 세균 세포가 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스트렙토코커스 비리단스(*Streptococcus viridans*), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*), 및 스트렙토코커스

피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 또는 M92로부터 선택된 혈청형을 갖는, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 생산하는, 방법.

청구항 70

제65항에 있어서, 세균 세포로부터 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법.

청구항 71

제65항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH, KOH, 또는 LiOH인, 방법.

청구항 72

제65항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH인, 방법.

청구항 73

제65항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 염기의 농도가 약 2M 내지 약 8M인, 방법.

청구항 74

제65항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 염기 및 환원제를 포함하는 용액이 약 pH 14인, 방법.

청구항 75

제65항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환원제가 수소화붕소나트륨, 시아노수소화붕소나트륨, 트리아세톡시수소화붕소나트륨, 디티오트레이톨 또는 베타-머캅토에탄올인, 방법.

청구항 76

제65항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환원제가 수소화붕소나트륨인, 방법.

청구항 77

제65항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환원제의 농도가 약 1 mM 내지 500 mM인, 방법.

청구항 78

제65항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 30 ° C 내지 약 100 ° C에서 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 79

제65항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 0.5 내지 약 20시간 동안 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 80

제65항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)가 하나 이상의 pH 조정 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 상기 하나 이상의 pH 조정 단계가 다음으로부터 독립적으로 선택되는, 방법:

(i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 상승시키는 단계, 또는

(ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 저하시키는 단계.

청구항 82

제81항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 7.0으로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 83

제81항 또는 제82항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 6.5로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 84

제81항 또는 제82항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 4로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 85

제80항 또는 제81항에 있어서,

(i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 저하시키는 단계;

(ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3으로 저하시키는 단계; 및

(iii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 상승시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 86

제80항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 약 실온(r.t.)에서 항온처리되는, 방법.

청구항 87

제81항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 약 4℃ 내지 약 30℃에서 항온처리되는, 방법.

청구항 88

제65항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체를 제거하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체의 제거가 여과, 원심분리 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 91

제89항 또는 제90항에 있어서, 상기 여과가 심층 여과에 이어 TFF를 포함하는, 방법.

청구항 92

제88항 또는 제89항에 있어서, 고체가 원심분리에 의해 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 제거되는, 방법.

청구항 93

제65항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)의 뮤라용해(muralytic) 효소가 뮤타노리신, 리소자임 또는 박테리오파아지 하이드롤라제인, 방법.

청구항 94

제65항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)가 프로테아제로 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 프로테아제가 프로테이나제 K, 트립신, 키모트립신, 엔도프로테이나제 Asp-N, 엔도프로테이나제 Arg-C, 엔도프로테이나제 Glu-C, 엔도프로테이나제 Lys-C, 펩신, 써모리신, 엘라스타제, 파파인, 서브스틸리신, 클로스트리파인, 카복시펩티다제 A, 카복시펩티다제 B, 카복시펩티다제 P, 카복시펩티다제 Y, 카텝신 C, 아실아미노산 방출 효소 또는 피로글루타메이트인, 방법.

청구항 96

제65항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)가 뮤라용해 효소와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 약 30 ° C 내지 약 65 ° C로 가온시킴을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 97

제94항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 프로테아제와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 약 45° C 내지 약 55 ° C로 가온되는, 방법.

청구항 98

제96항 또는 제97항에 있어서, 상기 용해물이 약 6 내지 약 20시간 가온되는, 방법.

청구항 99

제65항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 핵산, 효소, 숙주 세포 단백질(HCP), 또는 이들의 조합의 농도를 감소시키기 위해 추가로 정제되는, 방법.

청구항 100

제65항 내지 제99항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 침전에 의해 추가로 정제되는, 방법.

청구항 101

제65항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)로 처리되는, 방법.

청구항 102

제101항에 있어서, 상기 유리된 폴리사카라이드 용액 중 CTAB의 농도가 약 0.1% 내지 약 10%인, 방법.

청구항 103

제101항 또는 제102항에 있어서, CTAB의 농도가 약 0.5% 내지 약 3%인, 방법.

청구항 104

제101항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 요오드화칼륨 (KI)으로 처리되는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 유리된 폴리사카라이드 용액 중 KI의 농도가 약 20 mM 내지 약 400 mM인, 방법.

청구항 106

제65항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유리된 폴리사카라이드 용액이 여과, 원심분리, 크로마토그래피 또는 이의 조합에 의해 추가로 정제되는, 방법.

청구항 107

제106항에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 108

제106항에 있어서, 상기 크로마토그래피가 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 음이온 교환 크로마토그래피(AEX), 세라믹 하이드록시애퍼타이트형 크로마토그래피, 또는 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] **[0001]** 본 출원은 2021년 2월 17일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/150,516호; 및 2021년 12월 10일자로 출원된 미국 가특허 출원 제63/288,387호의 우선권을 주장하고, 상기 각각의 우선권의 기재내용은 이들의 전문이 참조로 인용된다.

[0003] 정부의 권리에 대한 진술

[0004] **[0002]** 본 발명은 엔티티를 통한 CARB-X 통과(CARB-X Pass Through Entity) 하에 준비 및 대응 차관보(HHS/ASPR)의 보건 복지부에서 수여한 보조금 번호 93.360, 하위 수상 4500003905 하에 미국 정부의 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명의 특정 권리를 갖는다.

[0005] 전자 제출된 텍스트 파일의 기재

[0006] **[0003]** 본 출원과 관련된 서열 목록은 종이 카피 대신 텍스트 포맷으로 제공되고 본 명세서에 참조로 인용된다. 서열 목록을 함유하는 텍스트 파일명은 STRO_015_02WO_SeqList_ST25이다. 텍스트 파일은 363 Kb이고 2022년 2월 14일 월요일자로 생성되었고 EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된다.

[0007] **[0004]** 본 발명은 일반적으로 세균성 폴리사카라이드, 이들의 정제, 폴리펩타이드에 대한 접합, 및 이러한 폴리사카라이드-폴리펩타이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0008] **[0005]** 세균의 세포벽과 세포막은 세균에서 다양한 구조적 및 기능적 역할을 담당하는 당접합체와 폴리사카라이드(PS)를 포함하는 수많은 중합체 분자와 연합되어 있다. 그람 음성 세균에서, 외막은 주로 리포폴리사카라이드(LPS)를 포함한다. 그람 양성 세균은 외막이 없지만 특수한 폴리사카라이드를 갖는 두꺼운 펩티도글리칸 층을 갖고 있다. 그람 음성 및 그람 음성 세균 둘다의 일부 균주는 독성을 도와주는 펩티도글리칸 결합 협막 폴리사카라이드를 추가로 포함한다.

[0009] **[0006]** 메닌고코커스(meningococcus), HiB, 및 뉴모코커스와 같은 세균의 PS를 포함하는 많은 PS에 대한 면역을 유도하면 질환에 대한 보호를 부여하고 다수의 효과적인 백신이 개발되었다. 그러나 대규모 백신 제조에는 다른 세포 성분들이 없는 순수하고 균질한 폴리사카라이드의 대량 및 저렴한 공급이 균등하게 요구된다. 폴리사카라이드를 정제하는 일부 통상적인 방법은 가혹한 조건(예를 들어, 농축된 불화수소산)에 의존해 왔고, 이는 안전성과 관련하여 문제를 일으키고 대량 생산 확대를 제한한다. 또한, 많은 정제 방법은 표적 폴리사카라이드를 어느 정도 분해하여 수율이 낮거나 면역원성이 제한되거나 감소된 저분자량의 폴리사카라이드를 초래한다. 따라서, 보다 안전하고, 보다 높은 수율을 가지며, 보다 효율적인 폴리사카라이드 생산 방법이 필요하다.

[0010] **[0007]** 그룹 A 스트렙토코커스(Streptococcus) (GAS)은 전 세계적으로 매년 7억 건의 인두염('패혈성 인두염

(strep throat)') 사례를 유발하고 심각한 침습성 감염, 패혈증, 괴사성 근막염, 중이염 및 독성 쇼크 증후군의 사례를 증가시키는 탁월한 사람 병원체이다. GAS는 또한 감염 후 면역 매개된 류마티스 심장 질환 (RHD)에 관여하여 개발 도상국에서의 사망률의 주요 원인이다. 일부 3천만명의 사람들은 현재 RHD에 의해 영향을 받고, 매년 300,000명 이상이 사망(60% < 연령 70)하고 1,150만명의 장애 조정 수명이 손실된다. 세계적으로 높은 수요에도 불구하고, GAS에 대한 안전하고 효과적인 상용 백신이 없다. 병원체의 특징은 결합 조직에 편재하는 면역학적으로 불활성인 탄수화물인 히알루론산의 영구 캡슐을 포함하는, 백신 접종에 특별한 과제를 부여한다. 추가로, 면역 우성 표면 고정된 GAS M 단백질은 고도로 다형성이고(>200 *emm* 유형), 이들의 이량체 코일링된-코일 구조의 영역은 RHD에서 심장 조직에 대한 자가 면역 반응을 유발할 수 있다. 따라서, GAS 감염을 예방하거나 치료할 수 있는 면역원성 조성물이 필요하다. 이러한 조성물은 단백질-항원 접합체를 활용할 수 있고, 충분한 면역원성을 갖는 접합체가 필요하다.

발명의 내용

[0011] 발명의 개요

[0012] **[0008]** 본원에는 다음을 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체가 기재된다: (a) GAS 폴리펩타이드 항원 또는 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드; 및 (b) 분자량이 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa인 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드.

[0013] **[0009]** 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원, GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원, 및 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하는 면역원성 조성물이 본원에 기재되어 있다. 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함할 수 있다. GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화될 수 있다. 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185kDa 내지 약 700kDa 또는 약 190kDa 내지 약 700kDa일 수 있다.

[0014] **[0010]** 또한, 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하는 방법이 본원에 기재되어 있고, 상기 방법은 다음을 포함한다: (a) 염기와 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계; 및 (b) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해성(muralytic) 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계.

도면의 간단한 설명

[0015] **[0011]** 도 1은 예시적인 폴리사카라이드 정제 방법의 개요를 설명하는 흐름도를 보여준다.

[0012] 도 2a, 도 2b 및 도 2c는 GlcNAc가 결여된 PS를 발현하는 GAS 세균 균주로부터 기원하는 정제된 폴리사카라이드의 NMR 분석을 보여준다.

[0013] 도 3은 실시예 1에 기재된 바와 같이 정제된 경우 M-단백질이 폴리사카라이드로부터 제거됨을 입증하는 웨스턴 블롯을 보여준다.

[0014] 도 4a 및 4b는 대안적인 예시적인 폴리사카라이드 정제 방법의 개요를 설명하는 흐름도를 보여준다.

[0015] 도 5는 DBCO-$(PEG)_4$-NH_2를 사용한 GAC 폴리사카라이드의 유도체화 및 pAMF-유도체화된 SpyAD로의 후속 접합의 개요를 설명하는 도식이다.

[0016] 도 6은 실시예 1에 기재된 바와 같이 제조된, 접합 반응 3.5시간 후 및 투석 후 SpyAD[4pAMF] 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 SEC MALS 분석을 보여준다.

[0017] 도 7은 불화수소산 기반 PS 정제 방법이 사용된 SpyAD[4pAMF] 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 SEC-MALS 분석을 보여준다(피크 1: 2070.5 kDa: 피크 2: 135,200 Da).

[0018] 도 8a는 22개의 SLO(ΔC101) 변이체(var1-var22) 및 이들의 pAMF 혼입 부위의 도식을 보여준다.

[0019] 도 8b 및 도 8c는 3-8 pAMF를 갖는 22 LSO 변이체의 발현 수준 및 정제된 5-8 pAMF 함유 변이체에 대한 상응하는 겔을 보여준다.

[0020] 도 8d는 정제된 변이체(var1, 5, 6, 10, 11, 12, 14 및 15)의 서브세트에서 성공적인 pAMF 혼입을 보여주는 세이프 블루 염색되고 DBCO-TAMRA 표지화된 겔을 보여준다.

[0021] 도 8e는 정제된 변이체(var1, 5, 6, 10, 11, 12, 14 및 15)의 서브세트에 대한 분자 질량 추정치를 제공하는 SEC-MALS 분석을 보여준다.

[0022] 도 9a는 긴 GAC와 5- 및 6-pAMF 변이체 SLO 접합체의 SDS-PAGE 분석을 보여준다. 도 9b는 정제된 접합체의 SEC-MALS 분석을 보여주고, 3개의 pAMF를 함유하는 SLO(ΔC101) 변이체(GAC^{PR}에 대한 삽입 몰 질량: 6.2kDa 및 GACPR-DBCO: 6.8kDa)를 사용하여 생성된 접합체에 대해 97 또는 116kDa의 평균 몰 질량을 보여주는, 정제된 접합체의 SEC-MALS 분석을 보여주고, 도 9c는 4개의 pAMF를 함유하는 SLO(ΔC101) 변이체를 사용하여 생성된 접합체에 대한 평균 몰 질량 68 또는 74 kDa를 보여주는, 정제된 접합체의 SEC-MALS 분석을 보여준다.

[0023] 도 10은 긴 GAC 폴리사카라이드와 5- 및 6-pAMF 변이체 SLO 접합체에 대한 SEC-MALS 데이터를 보여준다.

[0024] 도 11a는 선택된 SLO(ΔC101) 변이체로 제조된 접합체를 사용하고 ELISA에서 코팅 항원으로서 긴 GAC 폴리사카라이드를 사용한 면역화 후 마우스의 항체 역가를 보여준다.

[0025] 도 11b는 선택된 SLO(ΔC101) 변이체로 제조된 접합체를 사용하고 ELISA에서 코팅 항원으로서 긴 GAC 폴리사카라이드를 사용한 면역화 후 마우스의 또 다른 코호트의 항체 역가를 보여준다.

[0026] 도 12는 GAS 혈청형 M1에 대한 챌린지 후 모의, SLO(ΔC101)var1-GAC 접합체 또는 조합 백신 [SLO(ΔC101)var1 + eCRM-GACPR]을 사용한 생체내 마우스 면역화 연구의 결과를 보여준다.

[0027] 도 13은 접합체 CNJ-AE, CNJ-AF 및 CNJ-AG를 고유 SpyAD와 비교하는 겔을 보여주고, 이는 CNJ-AG의 생산에 사용된 조건이 더 높은 분자량의 접합체를 초래하였음을 보여준다.

[0028] 도 14는 자가방사선사진술 실험의 결과(추정된 발현 역가를 나타내는 겔 및 플롯)를 보여주고, 이는 SpyAD 단편(예를 들어, 서열 번호 77, 78, 79 및 81)이 발현 동안 원치 않는 단편을 더 적게 생성하여 보다 용이한 정제 및 활성화된 폴리사카라이드로의 보다 양호한 접합을 가능하게 함을 입증한다.

[0029] 도 15, 도 16, 도 17, 도 18, 도, 도 19는 상이한 분자량의 SpyAD-GAC 접합체와 다양한 접합 조건으로 생산된 SpyAD-GAC 접합체를 비교하는 면역화 연구의 결과(ELISA를 통한 항체 역가)를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] [0030] 세균 세포로부터 고분자량의 폴리사카라이드 PS(본원에서는 긴 폴리사카라이드로 지칭됨)를 정제하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 이들 PS는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 단리된 것보다 더 높은 평균 분자량을 갖고, 따라서 증가된 면역원성 및/또는 안정성으로 백신, 면역원성 조성물 등의 생산에 사용될 수 있다. 상기 면역원성 조성물은 본원에 기재되어 있다. PS의 증가된 크기에 추가로, 본원에 기재된 방법은 통상적인 정제 방법 보다 높은 수율을 초래할 수 있다. 결과로서, 이들 방법은 정제된 PS를 보다 효율적으로 생산할 수 있게한다.

[0017] ***폴리사카라이드의 정제***

[0018] [0031] 본원에 기재된 공정은 세균 세포로부터 폴리사카라이드를 정제하는 데 유용하다. 예를 들어, 세균 세포는 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 배양물로부터 펠렛으로서 단리될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원 개시내용은 예를 들어 세균 세포 펠렛의 정제를 포함하여, 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸-결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하는 방법을 제공한다.

[0019] [0032] 본원에 사용된 "정제하는"은 세균 세포에 존재하는 비-폴리사카라이드 성분으로부터 폴리사카라이드를 제거하거나 부분적으로 제거하는 것을 지칭한다. 정제하는은 적어도 약 85%의 불순물 및/또는 부산물을 제거하는 것을 의미할 수 있다. 일부 구현예에서, "정제된" 폴리사카라이드 용액 또는 제제는 약 15%, 약 14%, 약 13%, 약 12%, 약 11%, 약 10%, 약 9%, 약 8%, 약 7%, 약 6%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 약 0.9%, 약 0.8%, 약 0.7%, 약 0.6%, 약 0.5%, 약 0.4%, 약 0.3%, 약 0.2%, 약 0.1%, 약 0.09%, 약 0.08%, 약 0.07%. 약

0.06%, 약 0.05%, 약 0.04%, 약 0.03%, 약 0.02%, 또는 약 0.01% 미만의 불순물 및/또는 부산물을 함유한다.

[0020] **[0033]** 본원에 사용된 "세포벽 폴리사카라이드"는 예를 들어 세균 캡슐에서 발견되는 것들과는 별개로 세균의 세포벽에서 발견되는 임의의 PS를 지칭한다. 세포벽 폴리사카라이드는 펩티도글리칸을 통해 세포에 결합될 수 있다. 세포벽 폴리사카라이드는 그람 양성 또는 그람 음성 세균 세포로부터 유래할 수 있다. 예시적인 세포벽 폴리사카라이드는 그룹 A 스트렙토코커스(*streptococcus*)(GAS) PS이다.

[0021] **[0034]** 본원에 사용된 "펩티도글리칸 결합 협막 폴리사카라이드"는 펩티도글리칸을 통해 세포에 결합되고 본원에 기재된 공정 조건 하에서 분해에 내성인 세균 협막으로부터의 임의의 PS를 지칭한다. 이들은 글루코스, 람노스, 갈락토스, 만노스, 리보스, 글루쿠론산, 갈락투론산 및 2-아세트아미도-4-아미노-2,4,6-트리데옥시갈락토스(AATGal)를 포함하는 모노사카라이드의 일부 조합을 포함하는 특정 PS를 포함한다. 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 그람 양성 또는 그람 음성 세균 세포로부터 유래할 수 있다. 기재된 방법에 의한 정제에 적합한 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 또한 O-아세틸화가 거의 또는 전혀 없거나 포스포디에스테르 결합이 거의 또는 전혀 없는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0022] **[0035]** 일반적으로, 본원에 기재된 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법은 염기 및 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하는 단계 및 폴리사카라이드-함유 조성물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 (a) 염기와 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계; 및 (b) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해성(muralytic) 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 세균 세포로부터 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸-결합된 협막 폴리사카라이드를 생산하는 방법은 (a) 세균 세포를 뮤라용해 효소와 항온처리하여 절단된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계; 및 (b) 절단된 폴리사카라이드 용액을 염기와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계를 포함한다.

[0023] **[0036]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 O-아세틸 그룹이 결여된 폴리펩타이드의 정제에 적합할 수 있다. 정제 방법은 N-아세틸화 글루코스, 람노스, 만노스, 리보스 또는 갈락토스 단량체를 갖는 PS에 대해 사용될 수 있다. 본원에 기재된 방법의 일부 구현예에서, 세균 세포는 슈도모나스(*Pseudomonas*) 세균 세포, 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 세균 세포, 스타필로코커스(*Staphylococcus*) 세균 세포, 나이세리아(*Neisseria*) 세균 세포, 해모필러스(*Haemophilus*) 세균 세포, 리스테리아(*Listeria*) 세균 세포, 엔테로코커스(*Enterococcus*) 세균 세포 또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 세균 세포이다. 특정 구현예에서, 세균 세포는 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스트렙토코커스 비리단스(*Streptococcus viridans*), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*), 및 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0024] **[0037]** 특정 구현예에서, 세균 세포는 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS)로서도 공지된 스트렙토코커스 피오게네스이다. GAS는 그람 양성, 베타 용혈성 연쇄 구균이다. 이는 사람에서 다양한 질환에 관여한다. 이들 질환은 패혈성 인두염(급성 인두염), 중이염, 농가진 및 봉와직염과 같은 피부 및 연조직 감염을 포함한다. 이들은 또한 드문 경우에 괴사성 근막염(육식성 질환) 및 독성 쇼크 증후군(TSS)과 같은 침습성(심각한) 질병을 포함할 수 있다. M 단백질, 용혈소 및 세포외 효소와 같은 여러 독성 인자가 GAS의 발병기전에 기여한다. 특정 구현예에서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M41, M43, M44, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 및 M92, M94, M110, 또는 이전 기재된 것의 임의의 돌연변이체로부터 선택된 혈청형을 갖는다. 본원에 기재된 방법의 일부 구현예에서, M 단백질(예를 들어, M1)은 단리된 긴 폴리사카라이드의 양호한 수율을 유지하면서 정제 동안 효과적으로 제거된다.

[0025] **[0038]** 일부 구현예에서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포는 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GLcNAc) 측쇄가 결여된 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 생산하도록 가공될 수 있다(문헌참조: 예를 들어, 국제 PCT 공개 공보 WO 2013/020090, 미국 특허 제10,780,155호, 국제 PCT 공개 공보 WO 2021/167996, 및 Gao, N. J. et al., December 29, 2020. Infectious Microbes and Diseases, doi: 10.1097/IM9.0000000000000044).

[0026] **[0039]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 세균 세포로부터 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위해 적합할 수 있다.

[0027] **[0040]** 본원 개시내용의 방법에서, 염기로 세균 세포를 처리하면 다른 세포 성분(예를 들어, 세포벽 등)으로부

터 폴리사카라이드를 방출하는 작용을 할 수 있다. 산 처리를 활용하는 공지된 PS 정제 방법과 달리, 본원에 기재된 바와 같이 사용된 염기는 고유 폴리사카라이드에 함유된 글리코시드 결합의 가수분해를 피할 수 있다. 구체적으로, 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법은 염기 및 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계를 포함한다. 기재된 방법을 위해 적합한 염기의 비제한적인 예는 알칼리 금속 수산화물, 예를 들어, NaOH, KOH, LiOH, 카보네이트, 예를 들어, Na_2CO_3 및 K_2CO_3, 유기 아민, 예를 들어, Et_3N 및 NH_3 및 알콕사이드, 예를 들어, NaOMe, NaOEt, 및 KO*t*Bu이다. 일부 구현예에서, 염기는 NaOH, KOH, 또는 LiOH이다. 특정 구현예에서, 염기는 NaOH이다. 특정 구현예에서, 염기는 KOH이다. 일부 구현예에서, 염기는 LiOH이다.

[0028] **[0041]** 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 2M 내지 약 8M이다. 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 2M 내지 약 6M이다. 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 2M 내지 약 4M이다. 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 4M 내지 약 8M이다. 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 4M 내지 약 6M이다. 일부 구현예에서, 염기의 농도는 약 6M 내지 약 8M이다. 본원 개시내용의 일부 구현예에서, 염기 및 환원제를 포함하는 용액은 약 pH 7 초과이다. 특정 구현예에서, 염기 및 환원제를 포함하는 용액은 약 pH 8, 약 pH 9, 약 pH 10, 약 pH 11, 약 pH 12, 약 pH 13, 또는 약 pH 14이다.

[0029] **[0042]** PS는 높은 pH에서 '박리(peeling) 반응'이라는 공정을 통해 분해될 수 있고, 이의 발생을 방지하기 위해 환원제가 첨가될 수 있다. 박리 반응에 대처하기 위해 임의의 적합한 환원제가 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 환원제는 나트륨 보로하이드라이드, 나트륨 시아노보로하이드라이드, 나트륨 트리아세톡시보로하이드라이드, 디티오트레이톨, 또는 베타-머캅토에탄올로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 환원제는 수소화붕소나트륨이다. 환원제의 농도는 약 1 mM 내지 약 500 mM일 수 있다. 일부 구현예에서, 환원제의 농도는 약 1 mM 내지 약 500 mM이다. 특정 구현예에서, 환원제의 농도는 약 1mM 내지 약 400mM, 약 1mM 내지 약 300mM, 약 1mM 내지 약 200mM, 약 1mM 내지 약 100mM, 약 1mM 내지 약 50mM이다. 약 1mM 내지 약 10mM, 약 10mM 내지 약 100mM, 약 100mM 내지 약 400mM, 약 100mM 내지 약 300mM, 약 100mM 내지 약 200mM, 약 200mM 내지 약 400mM, 약 200mM 내지 약 300mM, 및 약 300mM 내지 약 400mM이다.

[0030] **[0043]** 염기 및 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 경우, 보다 높은 분자량의 PS 및 보다 큰 수율을 달성하기 위해 온도를 증가시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 가수분해 단계는 추가로 용액을 약 30 ° C 내지 약 100 ° C에서 항온처리하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 가수분해 단계는 용액을 약 30℃ 내지 약 100℃; 약 30℃ 내지 약 90℃; 약 30℃ 내지 약 80℃; 약 30℃ 내지 약 70℃; 약 30℃ 내지 약 60℃; 약 30℃ 내지 약 50℃; 약 30℃ 내지 약 40℃; 약 40℃ 내지 약 100℃; 약 40℃ 내지 약 90℃; 약 40℃ 내지 약 80℃; 약 40℃ 내지 약 70℃; 약 40℃ 내지 약 60℃; 약 40℃ 내지 약 50℃; 약 50℃ 내지 약 100℃; 약 50℃ 내지 약 90℃; 약 50℃ 내지 약 80℃; 약 50℃ 내지 약 70℃; 약 50℃ 내지 약 60℃; 약 60℃ 내지 약 100℃; 약 60℃ 내지 약 90℃; 약 60℃ 내지 약 80℃; 약 60℃ 내지 약 70℃; 약 70℃ 내지 약 100℃; 약 70℃ 내지 약 90℃; 약 70℃ 내지 약 80℃; 약 80℃ 내지 약 100℃; 약 80℃ 내지 약 90℃; 또는 약 90° C 내지 약 100° C에서 항온처리하는 단계를 추가로 포함한다.

[0031] **[0044]** 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하기 위한 염기 및 환원제를 포함하는 용액은 반응이 완료되는 데 충분한 시간 동안 항온처리될 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 가수분해 단계는 추가로 용액을 약 0.5시간 내지 약 20시간에서 항온처리하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 가수분해 단계는 용액을 약 0.5시간 내지 약 1시간; 약 1시간 내지 약 5시간; 약 5시간 내지 약 20시간; 약 5시간 내지 약 15시간; 약 5시간 내지 약 10시간; 약 10시간 내지 약 20시간; 약 10시간 내지 약 15시간; 또는 약 15시간 내지 약 20시간 항온처리하는 단계를 추가로 포함한다. 예를 들어, 적절한 분석 방법에 의해 폴리사카라이드의 수율을 결정함으로써 가수분해의 완료를 모니터링할 수 있다.

[0032] **[0045]** 염기 및 환원제를 포함하는 용액에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하면 제거되어야 하는 비-PS 부산물이 형성되기 때문에, 상기 방법은 상기 부산물의 제거를 돕기 위해 하나 이상의 pH 조정 단계를 포함할 수 있다. 하나의 구현예에서, 하나 이상의 pH 조정 단계는 다음으로부터 독립적으로 선택된다: (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 상승시키는 단계, 또는 (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 저하시키는 단계.

[0033] **[0046]** 일부 구현예에서, 상기 방법은 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 약 7로 저하시키는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 약 6; 약 3 내지 약 5; 약 3 내지 약 4; 약 4 내지 약 7; 약 4 내지 약 6; 약 4 내지 약 5; 약 5 내지 약 7; 또는 약 5

내지 약 6으로 저하시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3, 약 3.5, 약 4, 약 4.5, 약 5, 약 5.5, 약 6, 약 6.5, 또는 약 7로 저하시키는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 다음을 포함한다: (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 저하시키는 단계; (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3으로 저하시키는 단계; 및 (iii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 상승시키는 단계. 특정 구현예에서, 상기 방법은 다음을 포함한다: (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 6.5로 저하시키는 단계; (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3으로 저하시키는 단계; 및 (iii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 6.5로 상승시키는 단계.

[0034] **[0047]** 본원에 기재된 방법에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 실온에서 항온처리될 수 있다. "실온"은 실험실 환경의 주변 온도로 정의되고 일반적으로 약 20° C 내지 약 25° C이다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 약 4℃ 내지 약 30℃에서 항온처리된다. 특정 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 하나 이상의 pH 조정 단계 후 약 4℃ 내지 약 30℃; 약 4℃ 내지 약 25℃; 약 4℃ 내지 약 20℃; 약 4℃ 내지 약 15℃; 약 4℃ 내지 약 10℃; 약 10℃ 내지 약 30℃; 약 10℃ 내지 약 25℃; 약 10℃ 내지 약 20℃; 약 10℃ 내지 약 15℃; 약 15℃ 내지 약 30℃; 약 15℃ 내지 약 25℃; 약 15℃ 내지 약 20℃; 약 20℃ 내지 약 30℃; 약 20℃ 내지 약 25℃; 또는 약 25° C 내지 약 30° C에서 항온처리된다.

[0035] **[0048]** 가수분해 단계 동안에 형성된 고체 부산물을 제거하는 것이 도움이 될 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체를 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체의 제거는 여과, 원심분리 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 여과는 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 막 여과, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, 원심분리에 의해 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체가 제거된다. 다양한 고체 제거 방법을 조합하여, 어떤 순서로든 적용할 수 있다. 일부 구현예에서, 여과는 심층 여과에 이어 TFF를 포함한다.

[0036] **[0049]** 본원 개시내용의 방법에서, 세균 세포 또는 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소로 처리하는 것은 펩티도글리칸 내의 글리코시드 결합을 절단하여 이들의 아미노산 프레임워크로부터 PS를 방출시키는 역할을 할 수 있다. 예를 들어, 뮤라용해 효소는 N-아세틸뮤라믹산(NAM)과 N-아세틸글루코사민(NAG) 사이의 결합을 절단할 수 있다. 구체적으로, 가수분해 후, 효소적 절단 단계는 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 것을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 뮤라용해 효소는 뮤타노리신, 리소자임 또는 박테리오파아지 하이드롤라제이다. 정제를 추가로 돕기 위해, 특정 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 것은 프로테아제와 항온처리하는 것을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 프로테아제는 프로테이나제 K이다. 특정 구현예에서, 프로테아제는 프로테이나제 K, 트립신, 키모트립신, 엔도프로테이나제 Asp-N, 엔도프로테이나제 Arg-C, 엔도프로테이나제 Glu-C, 엔도프로테이나제 Lys-C, 펩신, 써모리신, 엘라스타제, 파파인, 서브스틸리신, 클로스트리파인, 카복시펩티다제 A, 카복시펩티다제 B, 카복시펩티다제 P, 카복시펩티다제 Y, 카텝신 C, 아실아미노산 방출 효소 또는 피로글루타메이트이다.

[0037] **[0050]** 본원에 기재된 방법의 일부 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 것은 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 함께 약 30℃ 내지 약 65℃로 가온하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 뮤라용해 효소와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 약 30℃ 내지 약 60℃; 약 30℃ 내지 약 55℃; 약 30℃ 내지 약 50℃; 약 30℃ 내지 약 45℃; 약 30℃ 내지 약 40℃; 약 30℃ 내지 약 35℃; 약 40℃ 내지 약 60℃; 약 40℃ 내지 약 55℃; 약 40℃ 내지 약 50℃; 약 40℃ 내지 약 60℃; 약 40℃ 내지 약 55℃; 약 40℃ 내지 약 50℃; 약 45℃ 내지 약 60℃; 약 45℃ 내지 약 55℃; 약 45℃ 내지 약 50℃; 약 50℃ 내지 약 60℃; 또는 약 55° C 내지 약 60° C로 가온된다.

[0038] **[0051]** 일부 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 프로테아제와 함께 가온된다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물은 프로테아제와 함께 약 45℃ 내지 약 55℃; 약 45℃ 내지 약 50℃; 또는 약 50° C 내지 약 55° C로 가온된다.

[0039] **[0052]** 뮤라용해 산과 함께 PS를 포함하는 용해물 또는 프로테아제와 함께 PS를 포함하는 용해물 둘다의 경우, 용해물은 적어도 2시간 동안 가온될 수 있다. 일부 구현예에서, 용해물은 약 6시간 내지 약 20시간; 약 6시간

내지 약 18시간; 약 6시간 내지 약 16시간; 약 6시간 내지 약 14시간; 약 6시간 내지 약 12시간; 약 6시간 내지 약 10시간; 약 6시간 내지 약 8시간; 약 8시간 내지 약 20시간; 약 8시간 내지 약 18시간; 약 8시간 내지 약 16시간; 약 8시간 내지 약 14시간; 약 8시간 내지 약 12시간; 약 8시간 내지 약 10시간; 약 10시간 내지 약 20시간; 약 10시간 내지 약 18시간; 약 10시간 내지 약 16시간; 약 10시간 내지 약 14시간; 약 10시간 내지 약 12시간; 약 12시간 내지 약 20시간; 약 12시간 내지 약 18시간; 약 12시간 내지 약 16시간; 약 12시간 내지 약 14시간; 약 14시간 내지 약 20시간; 약 14시간 내지 약 18시간; 약 14시간 내지 약 16시간; 약 16시간 내지 약 20시간; 약 16시간 내지 약 18시간; 또는 약 18시간 내지 약 20시간에 가온된다.

[0040] **[0053]** 부산물로부터 PS의 분리를 추가로 돕기 위해, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하는 단계 동안 생성된 유리된 폴리사카라이드 용액을 추가로 정제한다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 핵산, 효소, 숙주 세포 단백질(HCP), 또는 이들의 조합의 농도를 감소시키기 위해 추가로 정제된다. 특정 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 침전, 음이온 교환 크로마토그래피, 양이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 세라믹 하이드록시애퍼타이트형 크로마토그래피 또는 이들의 조합에 의해 추가로 정제된다.

[0041] **[0054]** 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 침전에 의해 추가로 정제된다. 이러한 침전은 다수의 화학적 또는 물리적 수단에 의해 유발될 수 있다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 핵산, 효소, 숙주 세포 단백질(HCP), 또는 이들의 조합의 농도를 감소시키기 위해 추가로 정제된다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 계면활성제로 처리된다. 일부 구현예에서, 계면활성제는 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)이다. 특정 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 CTAB의 농도는 약 0.1% 내지 약 10%이다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 CTAB의 농도는 약 0.1% 내지 약 0.5%; 약 0.5% 내지 약 3%; 약 0.5% 내지 약 2%; 약 0.5% 내지 약 1%; 약 1% 내지 약 10%; 약 1% 내지 약 9%; 약 1% 내지 약 8%; 약 1% 내지 약 7%; 약 1% 내지 약 6%; 약 1% 내지 약 5%; 약 1% 내지 약 4%; 약 1% 내지 약 3%; 약 1% 내지 약 2%; 약 2% 내지 약 10%; 약 2% 내지 약 9%; 약 2% 내지 약 8%; 약 2% 내지 약 7%; 약 2% 내지 약 6%; 약 2% 내지 약 5%; 약 2% 내지 약 4%; 약 2% 내지 약 3%; 약 3% 내지 약 10%; 약 3% 내지 약 9%; 약 3% 내지 약 8%; 약 3% 내지 약 7%; 약 3% 내지 약 6%; 약 3% 내지 약 5%; 약 3% 내지 약 4%; 약 4% 내지 약 10%; 약 4% 내지 약 9%; 약 4% 내지 약 8%; 약 4% 내지 약 7%; 약 4% 내지 약 6%; 약 4% 내지 약 5%; 약 5% 내지 약 10%; 약 5% 내지 약 9%; 약 5% 내지 약 8%; 약 5% 내지 약 7%; 약 5% 내지 약 6%; 약 6% 내지 약 10%; 약 6% 내지 약 9%; 약 6% 내지 약 8%; 약 6% 내지 약 7%; 약 7% 내지 약 10%; 약 7% 내지 약 9%; 약 7% 내지 약 8%; 약 8% 내지 약 10%; 약 8% 내지 약 9%; 또는 약 9% 내지 약 10%이다.

[0042] **[0055]** 요오드화칼륨(KI) 또는 다른 적합한 염을 사용하여 용액으로부터 과량의 CTAB를 제거할 수 있다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액은 칼륨 KI로 처리된다. 일부 구현예에서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 KI의 농도는 약 20mM 내지 약 400mM이다. 특정 구현예에서, KI의 농도는 약 20mM 내지 약 300mM; 약 20mM 내지 약 200mM; 약 20mM 내지 약 100mM; 약 20mM 내지 약 50mM; 약 50mM 내지 약 300mM; 약 50mM 내지 약 200mM; 약 50mM 내지 약 100mM; 약 100mM 내지 약 300mM; 약 100mM 내지 약 200mM; 또는 약 200mM 내지 300mM이다.

[0043] **[0056]** 세균 세포로부터 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 생성하는 방법 동안 생성된 유리된 폴리사카라이드 용액은 여과, 원심분리, 크로마토그래피 또는 이들의 조합에 의해 임의의 시점에서 추가로 정제될 수 있다. 일부 구현예에서, 여과가 사용된다. 특정 구현예에서, 여과는 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 크로마토그래피는 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 음이온 교환 크로마토그래피(AEX), 세라믹 하이드록시애퍼타이트형 크로마토그래피, 또는 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 포함한다.

[0044] ***폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체***

[0045] **[0057]** 이전에 논의된 바와 같이, 본원에 기재된 방법에 의해 생산된 고분자량의 폴리사카라이드는 백신 등에 사용하기 위한 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 형성에 적합하다.

[0046] **[0058]** 본원 개시내용의 고분자량 폴리사카라이드는 또한 "긴 폴리사카라이드"로 지칭될 수 있다.

[0047] **[0059]** 따라서, 다음을 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 본원에 기재된다: (a) 폴리펩타이드 항원(예를 들어, GAS 폴리펩타이드 항원) 또는 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드; 및 (b) 분자량이 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa인 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는

펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드. 본원에서 보다 자세히 기재된 바와 같이, nnAA는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하여 폴리펩타이드 항원과 PS 간의 접합을 촉진한다.

[0048] **[0060]** 일부 구현예에서, 접합체에 사용되는 폴리사카라이드는 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드이다.

[0049] **[0061]** 이전에 기재된 바와 같이 GAS는 사람 건강에 중요한 세균으로 다양한 질환을 유발한다. 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드는 GAS 폴리사카라이드이다. 하나의 GAS 폴리사카라이드, 그룹 A 탄수화물(GAC)는 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄를 갖는 폴리람노스 백본으로 구성되고 M형과는 상관없이 모든 GAS 혈청형의 균주의 표면상에 존재하고 GAS 백신 후보물로서 조사되었다. 친화성-정제된 항-GAC 항체는 3개의 시험된 GAS 혈청형을 성공적으로 옵소닌화하였고(문헌참조: Salvadori et al., 1995. J. Infect. Dis. 171:593-600.), GAC로 면역화된 마우스는 복막내 및 비강내 GAS 챌린지 둘다에 대해 보호되었다(문헌참조: Sabharwal et al., 2006. J. Infect. Dis. 193:129-135). 그러나, 항-GAC 항체와 숙주 심장 밸브 단백질 (문헌참조: Goldstein et al., 1967. Nature 213:44-47) 및 세포골격 단백질, 예를 들어, 액틴, 케라틴, 미오신, 및 비멘틴 간의 면역학적 교차-반응성은 GAS 백신 성분으로서 GAC의 사용에 관해 중요한 잠재적 안전성 문제를 유발한다. 따라서, 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드는 면역우성 GlcNAc 측쇄가 없는 GAC의 변이체이다(문헌참조: 예를 들어, 국제 PCT 공개 공보 WO 2013/020090 미국 특허 제10,780,155호, 및 Gao, N. J. et al., Infectious Microbes and Diseases, 2021, 3(2), 87-100).

[0050] **[0062]** 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 평균 분자량이 약 10kDa 내지 약 45kDa; 약 10kDa 내지 약 40kDa; 약 10kDa 내지 약 35kDa; 약 10kDa 내지 약 30kDa; 약 10kDa 내지 약 25kDa; 약 10kDa 내지 약 20kDa; 약 10kDa 내지 약 15kDa; 15kDa 내지 약 40kDa; 약 15kDa 내지 약 35kDa; 약 15kDa 내지 약 30kDa; 약 15kDa 내지 약 25kDa; 약 15kDa 내지 약 20kDa; 20kDa 내지 약 40kDa; 약 20kDa 내지 약 35kDa; 약 20kDa 내지 약 30kDa; 약 20kDa 내지 약 25kDa; 25kDa 내지 약 40kDa; 약 25kDa 내지 약 35kDa; 약 25kDa 내지 약 30kDa; 약 30kDa 내지 약 40kDa; 약 30kDa 내지 약 35kDa; 또는 약 35kDa 내지 약 40kDa이다. 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 평균 분자량이 약 10kDa, 약 15kDa, 약 20kDa, 약 25kDa, 약 30kDa, 약 35kDa, 약 40kDa, 또는 약 45kDa이다.

[0051] **[0063]** 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 접합체 단백질에 대한 접합을 촉진하기 위해 클릭 화학 반응성 그룹으로 변형된다. 클릭 화학 반응성 그룹의 예는 예를 들어 국제 PCT 공개 공보 WO 2018/126229 및 국제 PCT 공개 공보 WO 2021/167996에서 발견될 수 있고, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 인용된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, c 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 DBCO 또는 DBCO-PEG(예를 들어, DBCO-PEG-NH_2)로 변형된다.

일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 DBCO-$(PEG)_4$-NH_2로 변형된다.

[0052] **[0064]** 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드가 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커로 변형되는 정도는 폴리사카라이드 반복체 유닛(PSRU)이 얼마나 많이 또는 몇 퍼센트로 변형되었는지에 의해 정의될 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드의 일부 구현예에서, 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8 몰% 내지 20 몰%는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 클릭 화학 반응성 그룹 또는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드의 PS 반복체 유닛의 약 8 몰% 내지 약 20 몰%, 약 8 몰% 내지 약 19 몰%, 약 8몰l% 내지 약 18 몰%, 약 8 몰% 내지 약 17 몰%, 약 8 몰% 내지 약 16 몰%, 약 8 몰% 및 약 15 몰%, 약 8 몰% 내지 약 14 몰%, 8 몰% 내지 약 13 몰%, 약 8 몰% 내지 약 12 몰%, 약 8 몰% 내지 약 11 몰%, 8 몰% 내지 약 10 몰%, 약 8 몰% 내지 약 9 몰%, 약 9 몰% 내지 약 20 몰%, 약 9 몰% 내지 약 19 몰%, 약 9 몰% 내지 약 18 몰%, 약 9 몰% 내지 약 17 몰%, 약 9 몰% 내지 약 16 몰%, 약 9 몰% 내지 약 15 몰%, 약 9 몰% 내지 약 14 몰%, 9 몰% 내지 약 13 몰mo%, 약 9 몰% 내지 약 12 몰%, 약 9 몰% 내지 약 11 몰%, 9 몰% 내지 약 10 몰%, 약 10 몰% 내지 약 20 몰%, 약 10 몰% 내지 약 19 몰% , 약 10 몰% 내지 약 18 몰%, 약 10 몰% 내지 약 17 몰%, 약 10 몰% 내지 약 16 몰%, 약 10 몰% 내지 약 15 몰%, 약 10 몰% 내지 약 14 몰% , 10 몰% 및 약 13 몰%, 약 10 몰% 및 약 12 몰%, 약 10 몰% 내지 약 11 몰%, 약 11 몰% 내지 약 20 몰%, 약 11 몰% 내지 약 19 몰%, 약 11 몰% 내지 약 18 몰%, 약 11 몰% 내지 약 17 몰%, 약 11 몰% 내지 약 16 몰%, 약 11 몰% 내지 약 15 몰%, 약 11 몰% 내지 약 14 몰%, 11 몰% 내지 약 13 몰%, 약 11 몰% 내지 약 12 몰%, 약 12 몰% 내지 약 20 몰%, 약 12

몰% 내지 약 19 몰%, 약 12 몰% 내지 약 18 몰%, 약 12 몰% 내지 약 17 몰%, 약 12 몰% 내지 약 16 몰%, 약 12 몰% 내지 약 15 몰%, 약 12 몰% 내지 약 14 몰%, 12 몰% 내지 약 13 몰%, 약 13 몰% 내지 약 20 몰%, 약 13 몰% 내지 약 19 몰%, 약 13 몰% 내지 약 18 몰%, 약 13 몰% 내지 약 17 몰%, 약 13 몰% 내지 약 16 몰%, 약 13 몰% 내지 약 15 몰%, 약 13 몰% 내지 약 14 몰%, 약 14 몰% 내지 약 20 몰%, 약 14 몰% 내지 약 19 몰%, 약 14 몰% 내지 약 18 몰%, 약 14 몰% 내지 약 17 몰%, 약 14 몰% 내지 약 16 몰%, 약 14 몰% 내지 약 15 몰%, 약 15 몰% 내지 약 20 몰%, 약 15 몰% 내지 약 19 몰%, 약 15 몰% 내지 약 18 몰%, 약 15 몰% 내지 약 17 몰%, 약 15 몰% 내지 약 16 몰%, 약 16 몰% 내지 약 20 몰%, 약 16 몰% 내지 약 19 몰%, 약 16 몰% 내지 약 18 몰%, 약 16 몰% 내지 약 17 몰%, 약 17 몰% 내지 약 20 몰%, 약 17 몰% 내지 약 19 몰%, 약 17 몰% 내지 약 18 몰%, 약 18 몰% 내지 약 20 몰%, 약 18 몰% 내지 약 19 몰%, 또는 약 19 몰% 내지 약 20 몰%가 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛은 GAS 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛 또는 이의 변이체이다. 본원에 기재된 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드의 일부 구현예에서, 약 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 몰% 사이의 폴리사카라이드 반복체 단위는 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에는 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여되어 있다.

[0053] **[0065]** 일반적으로, 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛으로의 증가된 링커 혼입(몰%)은 증가된 분자량의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 생성을 허용할 수 있다. 본원에서 추가로 논의된 바와 같이, 보다 큰 링커 혼입을 갖는 폴리사카라이드를 사용하여 형성된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 보다 낮은 몰 퍼센트의 링커 혼입을 갖는 것보다 보다 큰 면역원성을 나타낼 수 있다. 추가로, 증가된 링커 혼입을 갖는 폴리사카라이드는 또한 본원에서 추가로 논의되는 바와 같이 접합 후에 존재하는 유리된 폴리사카라이드의 양을 보다 저하시킬 수 있다.

[0054] **[0066]** 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체 및 면역원성 조성물과 관련하여, "유리된 폴리사카라이드"는 폴리사카라이드, 링커 및/또는 클릭 화학 반응성 그룹으로 유도체화된 폴리사카라이드, 또는 폴리펩타이드에 접합되지 않은 폴리사카라이드의 단편을 지칭한다. 예를 들어, 유도된 폴리사카라이드와 폴리펩타이드 간의 접합 반응을 실행한 후 유리된 폴리사카라이드가 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 혼합물에 존재할 수 있다. 유리된 폴리사카라이드 농도는 예를 들어 합성 실시예 6에 기재된 방법으로 측정할 수 있다.

[0055] **[0067]** 본원에 기재된 접합체에 사용된 폴리펩타이드 항원은 GAS 또는 비-GAS 폴리펩타이드 항원일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 적어도 하나의 비-천연 아미노산 (nnAA)를 포함하는, 전장 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 전장 GAS 폴리펩타이드 항원의 단편이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 C5a 펩티다제(UniProt P15926), 스트렙톨리신 O(SLO, UniProt P0C0I3), 스트렙토코커스 면역글로불린 결합 단백질 35(Sib35, UniProt(Q1XG74)) 및 피브로넥틴 결합 단백질 F1(Sfb1, UniProt Q48VN7) 및 접착 및 분할 폴리펩타이드(SpyAD, UniProt Q9A1H3)로부터 선택된다.

[0056] **[0068]** 본원에 기재된 접합체에 사용되는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 적어도 하나의 비천연 아미노산을 포함하는, 전장 비-GAS 운반체 폴리펩타이드 또는 전장 비-GAS 운반체 폴리펩타이드의 단편을 기반으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, 비-GAS 담체 폴리펩타이드는 아르기닌 데이미나제(ADI, UniProt P0C0B3), CRM197(1272033-67-6), 페리틴(UniProt P02792) 및 단백질 D(UniProt R4R7Q5)로부터 선택된다.

[0057] **[0069]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 단백질은 야생형 아미노산 서열에 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고, 여기서 SpyAD 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 ADI이고, 여기서 ADI 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 돌연변이는 D277A (예를 들어, 서열번호 36)이다.

[0058] **[0070]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 단백질은 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 nnAA는 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드에서 리신, 류신, 아르기닌 또는 이소류신으로 치환된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 nnAA는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함한다. 본원에서, “클릭 화학 반응성 그룹” 은 제2 클릭 화학 반응성 그룹과 클릭 화학 반응을 진행할 수 있는 모이어티, 예를 들어, 아지드 또는 알킨을 지칭한다. 일부 구현예에서, 하나의 클릭 화학 반응성 그룹은 제2 클릭 화학 반응성 그룹과 반응하여 치환된 트리아졸을 형성한다. 상기 유형의 클릭 반응의 예는 예를 들어, 국제 PCT 공개 공보 번호 WO 2018/126229에서 발견될 수 있다. 생의학적 적용에 사용되는 금속 부재

클릭 반응의 일반적인 예는 예를 들어, 문헌(참조: Kim, *et al., Chemical Science*, 2019, 10, 7835-7851)에서 찾을 수 있다. 클릭 화학 반응 그룹을 포함하는 nnAA의 예는 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산 (pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 하나 이상의 nnAA를 포함하고, 여기서 nnAA 각각은 pAMF이다.

[0059] **[0071]** 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 임의의 합리적인 특징분석 방법(예를 들어, SEC-MALS)에 의해 정의된 바와 같이 이들의 분자량(예를 들어, 평균 분자량)에 의해 특징분석될 수 있다. 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 예를 들어 약 185 kDa 초과 또는 190 kDa 초과의 분자량 또는 평균 분자량을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 185 kDa 내지 약 700 kDa, 약 185 kDa 내지 약 600 kDa, 약 185 kDa 내지 약 500 kDa, 약 185 kDa 내지 약 400 kDa, 약 185kDa 내지 약 300kDa, 및 약 185kDa 내지 약 200kDa의 분자량 또는 평균 분자량을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 분자량 또는 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa, 약 185 kDa 내지 약 650 kDa, 약 185 kDa 내지 약 600 kDa, 약 185 kDa 내지 약 550 kDa, 약 185 kDa 내지 약 500 kDa, 약 185 kDa 내지 약 450 kDa, 약 185 kDa 내지 약 400 kDa, 약 185 kDa 내지 약 350 kDa, 약 185 kDa 내지 약 300 kDa, 약 185 kDa 내지 약 250 kDa, 약 185 kDa 내지 약 200 kDa, between 약 190 kDa 내지 약 700 kDa, 약 190 kDa 내지 약 650 kDa, 약 190 kDa 내지 약 600 kDa, 약 190 kDa 내지 약 550 kDa, 약 190 kDa 내지 약 500 kDa, 약 190 kDa 내지 약 450 kDa, 약 190 kDa 내지 약 400 kDa, 약 190 kDa 내지 약 350 kDa, 약 190 kDa 내지 약 300 kDa, 약 190 kDa 내지 약 250 kDa, 약 190 kDa 내지 약 200 kDa, 약 200 kDa 내지 약 700 kDa, 약 200 kDa 내지 약 650 kDa, 약 200 kDa 내지 약 600 kDa, 약 200 kDa 내지 약 550 kDa, 약 200 kDa 내지 약 500 kDa, 약 200 kDa 내지 약 450 kDa, 약 200 kDa 내지 약 400 kDa, 약 200 kDa 내지 약 350 kDa, 약 200 kDa 내지 약 300 kDa, 약 200 kDa 내지 약 250 kDa, 약 250 kDa 내지 약 700 kDa, 약 250 kDa 내지 약 650 kDa, 약 250 kDa 내지 약 600 kDa, 약 250 kDa 내지 약 550 kDa, 약 250 kDa 내지 약 500 kDa, 약 250 kDa 내지 약 450 kDa, 약 250 kDa 내지 약 400 kDa, 약 250 kDa 내지 약 350 kDa, 약 250 kDa 내지 약 300 kDa, 약 300 kDa 내지 약 700 kDa, 약 300 kDa 내지 약 650 kDa, 약 300 kDa 내지 약 600 kDa, 약 300 kDa 내지 약 550 kDa, 약 300 kDa 내지 약 500 kDa, 약 300 kDa 내지 약 450 kDa, 약 300 kDa 내지 약 400 kDa, 약 300 kDa 내지 약 350 kDa, 약 350 kDa 내지 약 700 kDa, 약 350 kDa 내지 약 650 kDa, 약 350 kDa 내지 약 600 kDa, 약 350 kDa 내지 약 550 kDa, 약 350 kDa 내지 약 500 kDa, 약 350 kDa 내지 약 450 kDa, 약 350 kDa 내지 약 400 kDa, 약 400 kDa 내지 약 700 kDa, 약 400 kDa 내지 약 650 kDa, 약 400 kDa 내지 약 600 kDa, 약 400 kDa 내지 약 550 kDa, 약 400 kDa 내지 약 500 kDa, 약 400 kDa 내지 약 450 kDa, 약 450 kDa 내지 약 700 kDa, 약 450 kDa 내지 약 650 kDa, 약 450 kDa 내지 약 600 kDa, 약 450 kDa 내지 약 550 kDa, 약 450 kDa 내지 약 500 kDa, 약 500 kDa 내지 약 700 kDa, 약 500 kDa 내지 약 650 kDa, 약 500 kDa 내지 약 600 kDa, 약 500 kDa 내지 약 550 kDa, 약 550 kDa 내지 약 700 kDa, 약 550 kDa 내지 약 650 kDa, 약 550 kDa 내지 약 600 kDa, 약 600 kDa 내지 약 700 kDa, 약 600 kDa 내지 약 650 kDa, 또는 약 650 kDa 내지 약 700 kDa일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 185, 190, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650 또는 700 kDa의 분자량 또는 평균 분자량을 가질 수 있다.

[0060] **[0072]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 이의 분자량을 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 링커에 의해 유도체화된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 몰%를 특징으로 할 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 링커에 의해 유도체화된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 이들의 분자량 및 몰%를 특징으로 할 수 있다.

[0061] **[0073]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 다음을 포함한다: (a) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드로서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 항원 또는 폴리펩타이드; 및 (b) 분자량이 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa인 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드.

[0062] **[0074]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는: (a) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드로서, 상기 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 항원 또는 폴리펩타이드; 및 (b) 분자량이 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa인 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 포함하고; GAS 폴리사카

라이드 또는 이의 변이체의 약 10몰% 내지 약 18몰%의 폴리사카라이드 반복체 유닛은 링커에 의해 유도체화된다.

[0063] **[0075]** 표 1은 고유, 변이체, 절단형 및 이의 nnAA 함유 버전을 포함하여 선택된 폴리펩타이드 항원 및 비-GAS 담체 단백질에 대한 예시적인 서열을 포함한다.

[0064] **[0076]** 표 1A에는 nnAA를 함유하는 선택된 폴리펩타이드 항원에 대한 예시적인 서열이 포함되어 있다.

[0065] **표 1. 예시적인 폴리펩타이드 서열**

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
1	C5a [90-1035 단편] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTV VAVIDAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VNGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKS KGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQL TETATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIAL IERGDIDFKDKIANAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDG LLLKDNPKKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDI LSSVANNKYAKLSGTSMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVL MSSATALYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNV SDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITI PANSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIG FRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTAL TTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHAN GKPYAAISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVV KNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQH TDFDVIVDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDL PTTEYISPNEDGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTK LLEGHSNK

[0066]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
2	C5a [90-1035 단편] WT w/o 리더	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWRL TDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIRD AVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGG KTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEMP VLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKK AGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNATP KVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTSM SAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSSATALYDEDEKAYFS PRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKP QELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASRF SKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYD SKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDY VQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFE KTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEDGTFTLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK
3	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTV VAVIAAGFDKNHEAWRLTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYY HDYSKDGKTAVDQEHGTHVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEI VNGLADYARNYAQAIRDAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKS KGVSIVTSAGNDSSFGGKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQL TETATVKTADKQDKEMPVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIAL IERGDIDFKDKIANAKKAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDG LLLKDNPKKTITFNATPKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDI LSSVANNKYAKLSGTAMSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVL MSSATALYDEDEKAYFSPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNV SDTFEVTVTVHNKSDKPQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITI PANSSKQVTVPIDASRFSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIG FRGDFGNLSALEKPIYDSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTAL TTESNPWTIIKAVKEGVENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHAN GKPYAAISPNGDGNRDYVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVV KNYNNDLASTLGSTRFEKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQH TDFDVIVDNTTPEVATSATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDL PTTEYISPNEDGTFTLPEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTK LLEGHSNK

[0067]

[0068]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
4.	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/o 리더	KTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIAAGFDKNHEAWRL TDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHGT HVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIRD AVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFGG KTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEMP VLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAKK AGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNATP KVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTAM SAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSSATALYDEDEKAYFS PRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDKP QELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASRF SKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIYD SKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEGV ENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRDY VQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRFE KTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVATS ATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEDGTFTLP EEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK
5	SLO [79-571 단편] WT w/ His 태그 및 TEV 서열	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIY SLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIID SVTDRTYPAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDP TYANVSTAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKI LDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQ RKGVSNEAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGK YSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPIS YTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAWEWW RKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK
6	SLO [79-571 단편] WT w/o 리더	APKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETI ENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANKG FTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWH DNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEK KVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNVA YGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLGG DAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNN WYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAWEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
7	SLO [79-571 단편] W535A w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIY SLNYNELEVLAKNGETIENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIID SVTDRTYPAALQLANKGFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDP TYANVSTAIDNLVNQWHDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKI LDGTLGIDFKSISKGEKKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQ RKGVSNEAPPLFVSNVAYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGK YSDILENSSFTAVVLGGDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPIS YTSVFLKNNKIAGVNNRTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEIN YDDKGKEVITKRRWDNNWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWW RKVIDERDVKLSKEINVNISGSTLSPYGSITYK
8	SLO [79-571 단편] W535A w/o 리더	APKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGETI ENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANKG FTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQWH DNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGEK KVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNVA YGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLGG DAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNNR TEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDNN WYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEINV NISGSTLSPYGSITYK
9	SpyAD [33-849 단편] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATID AVEKTLSQQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLA SSEETLLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQ DLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLEN QKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGY PLEELKKLEASGYIGSASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRF VDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKK THGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAF NDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGF STSNVGSLNEHFVMFPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLN DTKGSLRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVT ALVAKKAHLQYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAAL QAKQSSLEATIATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVK PLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASN AIVSKITSSITQPSSKTSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR

[0069]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
10	SpyAD [33-849 단편] WT w/o 리더	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRDFKL NPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAALQAKQSSLEATIATTEHQ LTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMV KETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSKT SYGSGSSTTSNLISDVDESTQR
11	SpyAD [33-849 단편] nnAA (*예를 들어*, pAMF) 돌연변이체 w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/ K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	MHHHHHHGSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATID AVEKTLSQQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLA SSEETLLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQ DLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLEN QKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGY PLEELKXLEASGYIGSASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRF VDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKX THGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAF NDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGF STSNVGSLNEHFVMFPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAA IKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLN DTKGSLRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVT ALVAKXAHLQYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAAL QAKQSSLEATIATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVK PLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASN AIVSKITSSITQPSSKTSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR

[0070]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
12	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHLQYLRDFKL NPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAALQAKQSSLEATIATTEHQ LTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMV KETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSKT SYGSGSSTTSNLISDVDESTQR
13	ADI [전장] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIF THHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEKGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFER EDI
14	ADI [전장] WT w/o 리더	TAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAI RELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYDR NETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGDL AELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

[0071]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
15	ADI [전장] D277A w/ 리더	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIF THHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEKGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFER EDI
16	ADI [전장] D277A w/o 리더	TAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAI RELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYDR NETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGDL AELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
17	ADI [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLE RLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFID EYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGL TDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIF THHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLL VNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYS VTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSN TLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFER EDI
18	ADI [전장] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	TAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEH DAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAI RELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPN LYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVYDR NETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFE FANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDL AELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTI TNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

[0072]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
19	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
20	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	TAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
21	hFL [전장] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
22	hFL [전장] WT w/o 리더	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
23	hFL [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - I5	MHHHHHHGSGSSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD

[0073]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
24	hFL [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - I5	SSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
25	eCRM-pAMF6 돌연변이체	MGADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTKPGYVDSIQXGIQKPKSGTQGNYDDDWKEFYSTDNKYDAAGYSVDNENPLSGKAGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAETIKKELGLSLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSSVEYINNWEQAKALSVELEINFETRGKRGQDAMYEYMAQACAGNRVRNSVGSSLSCINLDWDVIRDXTKTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEEKAXQYLEEFHQTALEHPELSELXTVTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIADGAVHHNTEEIVAQSIALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESIINLFQVVHNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSIIRTGFQGESGHDIKITAENTPLPIAGVLLPTIPGKLDVNKSKTHISVNGRKIRMRCRAIDGDVTFCRPKSPVYVGNGVHANLHVAFHRSSSEKIHSNEISSDSIGVLGYQKTVDHTKVNSXLSLFFEIKS
26	ADI (mut2) [전장] D277A nnAA (예를 들어, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K123, K247, K316	MHHHHHHGSGENLYFQGTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKEHDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKAIRELLMAIEDNQELIEXTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMPNLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYDRNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEXLLVNIFKQNLGFKKVLAFEFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGDLAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNTITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFERED

[0074]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
27	ADI (mut2) [전장] D277A nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K123, K247, K316	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEXTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYD RNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEXLLVNIFKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNT ITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
28	리더와 함께 Sfb1 반복 영역	MHHHHHHGSGVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGMSGQTTPQVETEDT KEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGMSGQTASQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEF TKDTQTGMSGQTTPQVETEDTKEPGVLMGGQSESVEFTKDTQTGMSGFSET
29	C5a [90-1035 단편] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIDAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIR DAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFG GKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEM PVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAK KAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNAT PKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTS MSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSSATALYDEDEKAYF SPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDK PQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASR FSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIY DSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEG VENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRD YVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRF EKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVAT SATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEDGTFTL PEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK

[0075]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
30	C5a [90-1035 단편] D131A/S513A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GKTADTPVTSKATIRDLNDPSQVKTLQEKAGKGAGTVVAVIAAGFDKNHEAWR LTDKTKARYQSKEDLEKAKKEHGITYGEWVNDKVAYYHDYSKDGKTAVDQEHG THVSGILSGNAPSETKEPYRLEGAMPEAQLLLMRVEIVNGLADYARNYAQAIR DAVNLGAKVINMSFGNAALAYANLPDETKKAFDYAKSKGVSIVTSAGNDSSFG GKTRLPLADHPDYGVVGTPAAADSTLTVASYSPDKQLTETATVKTADKQDKEM PVLSTNRFEPNKAYDYAYANRGMKEDDFKDVKGKIALIERGDIDFKDKIANAK KAGAVGVLIYDNQDKGFPIELPNVDQMPAAFISRKDGLLLKDNPKKTITFNAT PKVLPTASGTKLSRFSSWGLTADGNIKPDIAAPGQDILSSVANNKYAKLSGTA MSAPLVAGIMGLLQKQYETQYPDMTPSERLDLAKKVLMSSATALYDEDEKAYF SPRQQGAGAVDAKKASAATMYVTDKDNTSSKVHLNNVSDTFEVTVTVHNKSDK PQELYYQATVQTDKVDGKHFALAPKALYETSWQKITIPANSSKQVTVPIDASR FSKDLLAQMKNGYFLEGFVRFKQDPTKEELMSIPYIGFRGDFGNLSALEKPIY DSKDGSSYYHEANSDAKDQLDGDGLQFYALKNNFTALTTESNPWTIIKAVKEG VENIEDIESSEITETIFAGTFAKQDDDSHYYIHRHANGKPYAAISPNGDGNRD YVQFQGTFLRNAKNLVAEVLDKEGNVVWTSEVTEQVVKNYNNDLASTLGSTRF EKTRWDGKDKDGKVVANGTYTYRVRYTPISSGAKEQHTDFDVIVDNTTPEVAT SATFSTEDRRLTLASKPKTSQPVYRERIAYTYMDEDLPTTEYISPNEDGTFTL PEEAETMEGATVPLKMSDFTYVVEDMAGNITYTPVTKLLEGHSNK
31	SLO [79-571 단편] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAWEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGSTLSPYGSITYK
32	SLO [79-571 단편] W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGSTLSPYGSITYK

[0076]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
33	SpyAD [33-849 단편] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAKATIDAVEKTLSQQKAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKKLEASGYIGS ASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKKTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKKAHLQYLRDFK LNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAALQAKQSSLEATIATTEH QLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEM VKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSK TSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR
34	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 넘버링 된	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEA**X**ATIDAVEKTLSQQKAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELK**X**LEASGYIGS ASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYK**X**THGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAK**X**AHLQYLRDFK LNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAALQAKQSSLEATIATTEH QLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAPPLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEM VKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTSEMVASNAIVSKITSSITQPSSK TSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR
35	ADI [전장] WT w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYD RNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNT ITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI

[0077]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
36	ADI [전장] D277A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GTAQTPIHVYSEIGKLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGKYIFTHHPIYGGGKVPMVYD RNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEKGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNT ITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
37	ADI [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVYD RNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLDTVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNT ITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
38	ADI (mut5) [전장] D277A nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K15, K193, K316	GTAQTPIHVYSEIGXLKKVLLHRPGKEIENLMPDYLERLLFDDIPFLEDAQKE HDAFAQALRDEGIEVLYLETLAAESLVTPEIREAFIDEYLSEANIRGRATKKA IRELLMAIEDNQELIEKTMAGVQKSELPEIPASEKGLTDLVESNYPFAIDPMP NLYFTRDPFATIGTGVSLNHMFSETRNRETLYGXYIFTHHPIYGGGKVPMVYD RNETTRIEGGDELVLSKDVLAVGISQRTDAASIEKLLVNIFKQNLGFKKVLAF EFANNRKFMHLATVFTMVDYDKFTIHPEIEGDLRVYSVTYDNEELHIVEEXGD LAELLAANLGVEKVDLIRCGGDNLVAAGREQWNDGSNTLTIAPGVVVVYNRNT ITNAILESKGLKLIKIHGSELVRGRGGPRCMSMPFEREDI
39	hFL [전장] WT w/ 리더	MHHHHHHGSGSSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD

[0078]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
40	hFL [전장] WT w/o 리더	SSQIRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD
41	hFL [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/ 리더 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - I5	MHHHHHHGSGSSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVA LEGVSHFFRELAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAM KAAMALEKKLNQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLT NLHRLGGPEAGLGEYLFERLTLKHD
42	hFL [전장] nnAA (*예를 들어*, pAMF) w/o 리더 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - I5	SSQXRQNYSTDVEAAVNSLVNLYLQASYTYLSLGFYFDRDDVALEGVSHFFRE LAEEKREGYERLLKMQNQRGGRALFQDIKKPAEDEWGKTPDAMKAAMALEKKL NQALLDLHALGSARTDPHLCDFLETHFLDEEVKLIKKMGDHLTNLHRLGGPEA GLGEYLFERLTLKHD
43	eCRM-pAMF6 돌연변이체	GADDVVDSSKSFVMENFSSYHGTKPGYVDSIQXGIQKPKSGTQGNYDDDWKEF YSTDNKYDAAGYSVDNENPLSGKAGGVVKVTYPGLTKVLALKVDNAETIKKEL GLSLTEPLMEQVGTEEFIKRFGDGASRVVLSLPFAEGSSSVEYINNWEQAKAL SVELEINFETRGKRGQDAMYEYMAQACAGNRVRNSVGSSLSCINLDWDVIRDX TKTKIESLKEHGPIKNKMSESPNKTVSEEKAXQYLEEFHQTALEHPELSELXT VTGTNPVFAGANYAAWAVNVAQVIDSETADNLEKTTAALSILPGIGSVMGIAD GAVHHNTEEIVAQSIALSSLMVAQAIPLVGELVDIGFAAYNFVESIINLFQVV HNSYNRPAYSPGHXTQPFLHDGYAVSWNTVEDSIIRTGFQGESGHDIKITAEN TPLPIAGVLLPTIPGKLDVNKSKTHISVNGRKIRMRCRAIDGDVTFCRPKSPV YVGNGVHANLHVAFHRSSSEKIHSNEISSDSIGVLGYQKTVDHTKVNSXLSLF FEIKS

[0079]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
44	SLO(ΔC11) W535A w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLSKEIN VNISGS
45	W535A w/o 리더의 SLO(ΔC21) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRKVIDERDVKLS
46	W535A w/o 리더의 SLO(ΔC31) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMARECTGLAAEWWRK
47	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC41) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANSRNIRIMAREC

[0080]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
48	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC51) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPFSTVIPLGANS
49	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC61) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWDN NWYSKTSPF
50	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC71) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKGKEVITKRRWD
51	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC81) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEILWDEINYDDKG

[0081]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
52	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC91) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQGAYVAQYEIL
53	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC101) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
54	SLO(ΔC11) w/o 리더의 SLO(ΔC101) 단편, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 또는 고유 아미노산 (*예를 들어*.:K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, K464; 또는 K 또는 R.)	GAPKEMPLESAEKEEKKSED**X**KKSEEDHTEEIND**X**IYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIE**X**KKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTEN**X**PDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNS**X**ILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTF**X**ELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSS**X**SNDVEAAFSAALKGTDV**X**TNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVT**X**DFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSG**X**INLSHQ

[0082]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
55	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 1 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420995) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, R151 , K272, K357	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
56	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 2 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420996) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, K189, K323, K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

[0083]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
57	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 3 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420997) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
58	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 4 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420998) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - R151, K272, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0084]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
59	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 5 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (420999) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, K272, K357, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
60	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 6 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421000) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, K189, K357	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

[0085]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
61	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 7 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421001) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 -K112, K189, K323	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
62	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 8 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421002) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K272	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

[0086]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
63	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 9 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421003) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 -K112, K272, K375	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
64	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (421004) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 -K112, K323, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

[0087]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
65	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426507) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K98, R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
66	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426508) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0088]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
67	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426509) X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 - K112, R151, K272, K357, K407	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ
68	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426510) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, R151, K272, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENKPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0089]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
69	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426511) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, R151, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
70	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426512) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, K112, K189, K323, K375, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0090]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
71	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426513) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, R151, K189, K272, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
72	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426514) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, R151, K189, K323, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSKILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSKSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0091]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
73	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426515) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, K189, K272, K357, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFKELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
74	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426516) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375,	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTKDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGKINLSHQ

[0092]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
75	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426510) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K98, R151, K189, K272, K323, K357, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDXKKSEEDHTEEINDKIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIEXKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVKTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ
76	SLO(ΔC11)의 SLO(ΔC101) 단편 - nnAA (*예를 들어*, pAMF) 10 - w/o 리더, 절단으로부터 G 오버행을 가짐 (426515) X = nnAA (*예를 들어*, pAMF) 위치 - K112, K189, K272, K323, K357, K375, K407, K464	GAPKEMPLESAEKEEKKSEDKKKSEEDHTEEINDXIYSLNYNELEVLAKNGET IENFVPKEGVKKADKFIVIERKKKNINTTPVDISIIDSVTDRTYPAALQLANK GFTENXPDAVVTKRNPQKIHIDLPGMGDKATVEVNDPTYANVSTAIDNLVNQW HDNYSGGNTLPARTQYTESMVYSKSQIEAALNVNSXILDGTLGIDFKSISKGE KKVMIAAYKQIFYTVSANLPNNPADVFDKSVTFXELQRKGVSNEAPPLFVSNV AYGRTVFVKLETSSXSNDVEAAFSAALKGTDVXTNGKYSDILENSSFTAVVLG GDAAEHNKVVTXDFDVIRNVIKDNATFSRKNPAYPISYTSVFLKNNKIAGVNN RTEYVETTSTEYTSGXINLSHQ

[0093]

[0094] 표 1A. 예시적인 폴리펩타이드 서열

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
77	SpyAD [33-714 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGS ASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHLQYLRDFK LNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQEALAALQAKQSSLEAT
78	SpyAD [33-699 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGS ASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHLQYLRDFK LNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQE

[0095]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
79	SpyAD [33-684 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/o 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	GQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTEL ATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQRE LTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKL NAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQ KAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGS ASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQ FAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGV SGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDS IKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFP ESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIH QEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAK QAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHLQYLRDFK LNPNRLQVIRERIDNTK
80	SpyAD [33-849 단편] nnAA (예를 들어, pAMF) 돌연변이체 w/ 긴 리더 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	MHHHHHHHHHHHHGSGENLYFQGQVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQE AXATIDAVEKTLSQQKAELTELATALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEI YTNTLASSEETLLAQGAEHQRELTATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISA ETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLNAMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKA KADLENQKAKVKKQLTEELAAQKAALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTM KAPQGYPLEELKXLEASGYIGSASYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIP ADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQFAAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLL STSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVSGHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMY ENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSIKYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNA PVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPESNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTV SDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQEADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNL QVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQAQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQ AAARVTALVAKXAHLQYLRDFKLNPNRLQVIRERIDNTKQDLAKTTSSLLNAQ EALAALQAKQSSLEATIATTEHQLTLLKTLANEKEYRHLDEDIATVPDLQVAP PLTGVKPLSYSKIDTTPLVQEMVKETKQLLEASARLAAENTSLVAEALVGQTS EMVASNAIVSKITSSITQPSSKTSYGSGSSTTSNLISDVDESTQR

[0096]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
81	SpyAD [33-594 단편] nnAA (*예를 들어*, pAMF) 돌연변이체 w/ 긴 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386 - 전장 서열에 따라 넘버링된	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQV
82	SpyAD [33-657 단편] nnAA (*예를 들어*, pAMF) 돌연변이체 w/ 긴 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKX

[0097]

Seq ID	명칭/기재	아미노산 서열
83	SpyAD [33-667 단편] nnAA (*예를 들어*, pAMF) 돌연변이체 w/ 긴 리더 서열번호 34의 단편 X = nnAA (예를 들어, pAMF) 위치 K64/K287/K386/K657 - 전장 서열에 따라 넘버링된	QVKADDRASGETKASNTHDDSLPKPETIQEAXATIDAVEKTLSQQKAELTELA TALTKTTAEINHLKEQQDNEQKALTSAQEIYTNTLASSEETLLAQGAEHQREL TATETELHNAQADQHSKETALSEQKASISAETTRAQDLVEQVKTSEQNIAKLN AMISNPDAITKAAQTANDNTKALSSELEKAKADLENQKAKVKKQLTEELAAQK AALAEKEAELSRLKSSAPSTQDSIVGNNTMKAPQGYPLEELKXLEASGYIGSA SYNNYYKEHADQIIAKASPGNQLNQYQDIPADRNRFVDPDNLTPEVQNELAQF AAHMINSVRRQLGLPPVTVTAGSQEFARLLSTSYKXTHGNTRPSFVYGQPGVS GHYGVGPHDKTIIEDSAGASGLIRNDDNMYENIGAFNDVHTVNGIKRGIYDSI KYMLFTDHLHGNTYGHAINFLRVDKHNPNAPVYLGFSTSNVGSLNEHFVMFPE SNIANHQRFNKTPIKAVGSTKDYAQRVGTVSDTIAAIKGKVSSLENRLSAIHQ EADIMAAQAKVSQLQGKLASTLKQSDSLNLQVRQLNDTKGSLRTELLAAKAKQ AQLEATRDQSLAKLASLKAALHQTEALAEQAAARVTALVAKXAHLQYLRDFK

[0098]

[0099] **[0077]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO(ΔC101)이고 서열번호 53의 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464로부터 선택되는 위치에서 치환된 3개 또는 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원는 SLO(ΔC101)이고 위치 K98, R151 , K272, 및 K357; 위치 K112, K189, K323, 및 K375; 위치 R151, K272, K357, 및 K407; 위치 R151, K272, K375, 및 K464; 위치 K112, K272, K357, 및 K464; 위치 K98, K189, 및 K357; 위치 K112, K189, 및 K323; 위치

K98, R151, 및 K272; 위치 K112, K272, 및 K375; 또는 위치 K112, K323, 및 K407에서 치환된 nnAA를 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 3개 또는 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 또는 64 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 접합체 폴리펩타이드는 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 또는 64 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0100] **[0078]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO 폴리펩타이드이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원는 SLO(ΔC101)이고 서열번호 53의 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464로부터 선택되는 위치에서 치환된 5개, 6개, 7개 또는 8개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO(ΔC101)이고 위치 K98, R151, K272, K357, 및 K407; 위치 K112, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K112, R151, K272, K357, 및 K407; 위치 K98, R151, K272, K357, K407, 및 K464; 위치 K112, R151, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K98, K112, K189, K323, K375, 및 K464; 위치 K112, R151, K189, K272, K357, K407, 및 K464; 위치 K98, R151, K189, K323, K375, K407, 및 K464; 위치 K112, K189, K272, K357, K375, K407, 및 K464; 위치 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, 및 K375; 위치 K98, R151, K189, K272, K323, K357, K407, 및 K464; 또는 위치 K112, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 및 K464에서 치환된 nnAA를 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 5개, 6개, 7개 또는 8개 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75 또는 76 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SLO 폴리펩타이드이고 서열번호 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75 또는 76 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0101] **[0079]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고, 서열번호 9의 위치 K64, K287, K396, 및 K657에서 치환된 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고, 서열번호 33의 위치 K64, K287, K396, 및 K657에서 치환된 4개의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 11 또는 서열번호 12와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 4개의 nnAA는 각각 pAMF이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 34와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 11 또는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0102] **[0080]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 11, 서열번호 12 또는 서열번호 80과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 11, 서열번호 12 또는 서열번호 80의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0103] **[0081]** 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드 항원은 SpyAD이고 서열번호 77, 서열번호 78 또는 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0104] **[0082]** 일부 구현예에서, 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 eCRM197을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 특정 구현예에서, eCRM197은 서열번호 25의 서열을 갖는다.

[0105] **[0083]** 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 표 1에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 서열번호 1-76 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0106] **[0084]** 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 표 1 또는 1A에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 서열번호 1-80 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0107] **[0085]** 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 표 1에 열거된 폴리펩타이

드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 서열번호 1-76 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0108] **[0086]** 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 표 1A에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 서열번호 77-80 중 어느 하나와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0109] ***면역원성 조성물***

[0110] **[0087]** 이전에 논의된 바와 같이, 본원에 기재된 방법에 의해 생성된 긴 폴리사카라이드 및 긴 폴리사카라이드를 사용하여 제조된 폴리사카라이드-폴리펩타이드 접합체는 면역원성 조성물(예를 들어, 질병을 치료 또는 예방하기 위한 백신)에 사용하기에 적합하다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도할 수 있다. 일부 구현에에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다.

[0111] **[0088]** 본원에서, 용어 "대상체"는 포유류를 지칭한다. 일부 구현예에서, 대상체는 마우스, 래트, 개, 기니아피그, 양, 비-사람 영장류 또는 사람이다. 일부 구현에에서, 대상체는 사람이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 18세 연령 이상이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 18세 미만의 연령이다.

[0112] **[0089]** 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월 연령 내지 17세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월 연령 내지 9세 연령, 6개월 연령 내지 8세 연령, 6개월 연령 내지 7세 연령, 6개월 연령 내지 6세 연령, 6개월 연령 내지 5세 연령, 6개월 연령 내지 4세 연령, 6개월 연령 내지 3세 연령, 6개월 연령 내지 2세 연령 및 6개월 연령 내지 1세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 5세 연령 내지 17세 연령, 7세 연령 내지 17세 연령, 9세 연령 내지 17세 연령, 11세 연령 내지 17세 연령, 13세 연령 내지 17세 연령 또는 15세 연령 내지 17세 연령이다. 일부 구현예에서, 사람 대상체는 6개월, 1세, 2세, 3세, 4세, 5세, 6세, 7세, 8세, 9세, 10세, 11세, 12세, 13세, 14세, 15세, 16세, 17세 또는 18세 연령이다.

[0113] **[0090]** 본원에서, 용어 "보호 면역 반응"은 대상체에서 항-GAS 항체 반응을 유발함을 포함한다. 본원에 기재된 면역원성 조성물의 투여 후 생성된 항체 역가는 당업계에 공지된 수단에 의해, 예를 들어, 면역화된 대상체로부터 유래된 혈청 샘플의 ELISA 검정에 의해 결정될 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 다수(즉, 2개 이상)의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 사람 단백질 또는 조직에 대해 항체 반응을 유발하지 않는다.

[0114] **[0091]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0115] **[0092]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M11, M12, M22, M28, M75, 및 M89로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0116] **[0093]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M3, M5, M9, M12, M18, M22, M25, M28, M71, M72, 및 M74로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0117] **[0094]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M4, M6, M11, M12, M22, M44, M75, M77, M77, 및 M81로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0118] **[0095]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M9, M12, M18, M22, M75, M77, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0119] **[0096]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M28, M62, 및 M89로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0120] **[0097]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 적어도 하나의 GAS 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 M1, M2, M3, M4, M6, M12, M22, M28, M49, M53, M68, M77, M80, M83, M87, M89, 및 M92로부터 선택되는 2개 이상의 GAS 혈청형에 결합한다.

[0121] **[0098]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 하나 이상의 쉬겔라 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 치료받은 대상체에서 항체 반응을 유발하고, 여기서 생성된 항체는 하나 이상의 GAS 혈청형에 결합하고 또한 하나 이상의 쉬겔라 혈청형에 결합한다. 일부 구현예에서, 쉬겔라 혈청형은 폴리람노스 백본을 포함하는 폴리사카라이드를 포함한다. 상기 폴리사카라이드를 포함하는 예시적인 쉬겔라 혈청형은 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*), 예를 들어, 에스. 플렉스네리 2A 및 3A 및 에스. 플렉스네리 *6*을 포함한다.

[0122] **[0099]** 상기 면역원성 조성물은 일반적으로 (a) 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원, (b) GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원, 및 (c) 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함한다.

[0123] **[0100]** 일부 구현예에서, 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 전장의 고유 C5a 펩티다제 폴리펩타이드 또는 이의 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 29, 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 29, 또는 서열번호 30과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 4, 서열번호 29, 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는다.

[0124] **[0101]** 마찬가지로, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 특정 구현예에서, SLO 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 특정 구현예에서, SLO

항원은 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 본원에 기재된 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 본원에 기재된 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 본원에 기재된 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 53과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 서열번호 8, 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는다. 일부 구현예에서, SLO 항원 또는 이의 단편은 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는다.

[0125] **[0102]** 본원에 기재된 면역원성 조성물은 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 다음을 포함한다: (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체.

[0126] **[0103]** 상기 논의된 바와 같이, 면역원성 조성물의 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에 대한 접합을 가능하게 하는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 적어도 하나의 nnAA를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 nnAA는 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산 (pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택될 수 있다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 nnAA는 pAMF이다.

[0127] **[0104]** SpyAD 접합체 폴리펩타이드는 고유 또는 전장 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편일 수 있다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 33과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드는 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 포함하거나 이것으로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드는 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 갖는다.

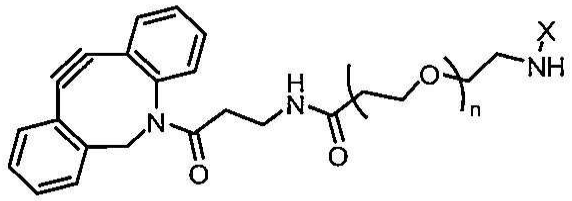
[0128] **[0105]** 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386 및 K657에 pAMF 치환을 포함한다(참조: 본원의 넘버링은 전장의 고유 서열을 기준으로 한다). 따라서, 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83과 적어도 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34와 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다. 특정 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는다. 특정 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는다.

[0129] **[0106]** 본원에 기재된 면역원성 조성물의 일부 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; SLO 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하고; SLO 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 53의

아미노산 서열을 포함하고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖고; SLO 폴리펩타이드 항원 또는 이의 단편은 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편은 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는다.

[0130] **[0107]** 본원에 기재된 임의의 면역원성 조성물의 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체 내의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8 몰% 내지 20 몰%는 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드의 PS 반복체 유닛의 약 8 몰% 내지 약 20 몰%, 약 8 몰% 내지 약 19 몰%, 약 8몰l% 내지 약 18 몰%, 약 8 몰% 내지 약 17 몰%, 약 8 몰% 내지 약 16 몰%, 약 8 몰% 및 약 15 몰%, 약 8 몰% 내지 약 14 몰%, 8 몰% 내지 약 13 몰%, 약 8 몰% 내지 약 12 몰%, 약 8 몰% 내지 약 11 몰%, 8 몰% 내지 약 10 몰%, 약 8 몰% 내지 약 9 몰%, 약 9 몰% 내지 약 20 몰%, 약 9 몰% 내지 약 19 몰%, 약 9 몰% 내지 약 18 몰%, 약 9 몰% 내지 약 17 몰%, 약 9 몰% 내지 약 16 몰%, 약 9 몰% 내지 약 15 몰%, 약 9 몰% 내지 약 14 몰%, 9 몰% 내지 약 13 몰%, 약 9 몰% 내지 약 12 몰%, 약 9 몰% 내지 약 11 몰%, 9 몰% 내지 약 10 몰%, 약 10 몰% 내지 약 20 몰%, 약 10 몰% 내지 약 19 몰% , 약 10 몰% 내지 약 18 몰%, 약 10 몰% 내지 약 17 몰%, 약 10 몰% 내지 약 16 몰%, 약 10 몰% 내지 약 15 몰%, 약 10 몰% 내지 약 14 몰% , 10 몰% 및 약 13 몰%, 약 10 몰% 및 약 12 몰%, 약 10 몰% 내지 약 11 몰%, 약 11 몰% 내지 약 20 몰%, 약 11 몰% 내지 약 19 몰%, 약 11 몰% 내지 약 18 몰%, 약 11 몰% 내지 약 17 몰%, 약 11 몰% 내지 약 16 몰%, 약 11 몰% 내지 약 15 몰%, 약 11 몰% 내지 약 14 몰%, 11 몰% 내지 약 13 몰%, 약 11 몰% 내지 약 12 몰%, 약 12 몰% 내지 약 20 몰%, 약 12 몰% 내지 약 19 몰%, 약 12 몰% 내지 약 18 몰%, 약 12 몰% 내지 약 17 몰%, 약 12 몰% 내지 약 16 몰%, 약 12 몰% 내지 약 15 몰%, 약 12 몰% 내지 약 14 몰%, 12 몰% 내지 약 13 몰%, 약 13 몰% 내지 약 20 몰%, 약 13 몰% 내지 약 19 몰%, 약 13 몰% 내지 약 18 몰%, 약 13 몰% 내지 약 17 몰%, 약 13 몰% 내지 약 16 몰%, 약 13 몰% 내지 약 15 몰%, 약 13 몰% 내지 약 14 몰%, 약 14 몰% 내지 약 20 몰%, 약 14 몰% 내지 약 19 몰%, 약 14 몰% 내지 약 18 몰%, 약 14 몰% 내지 약 17 몰%, 약 14 몰% 내지 약 16 몰%, 약 14 몰% 내지 약 15 몰%, 약 15 몰% 내지 약 20 몰%, 약 15 몰% 내지 약 19 몰%, 약 15 몰% 내지 약 18 몰%, 약 15 몰% 내지 약 17 몰%, 약 15 몰% 내지 약 16 몰%, 약 16 몰% 내지 약 20 몰%, 약 16 몰% 내지 약 19 몰%, 약 16 몰% 내지 약 18 몰%, 약 16 몰% 내지 약 17 몰%, 약 17 몰% 내지 약 20 몰%, 약 17 몰% 내지 약 19 몰%, 약 17 몰% 내지 약 18 몰%, 약 18 몰% 내지 약 20 몰%, 약 18 몰% 내지 약 19 몰%, 또는 약 19 몰% 내지 약 20 몰%가 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛은 GAS 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛 또는 이의 변이체이다. 본원에 기재된 면역원성 조성물의 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 약 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 몰%는 클릭 화학 반응성 그룹 또는 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에는 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여되어 있다.

[0131] **[0108]** 본원 면역원성 조성물의 일부 구현예에서, nnAA의 클릭 화학 반응성 그룹과의 반응 전에 링커는 하기 화학식 I의 구조를 포함한다:

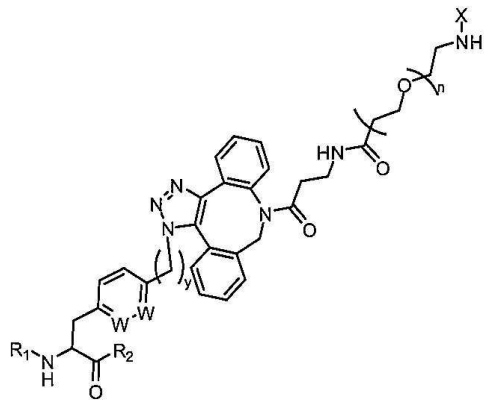


[0132] (화학식 I)

[0133] 상기식에서, X는 폴리사카라이드의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이고 n은 적어도 1이다. 일부 구현예에서, 폴리사카라이드는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체이다. 일부 구현예에서, n은 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5이다. 일부 구현예에서, n은 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 여기 또는 다른 곳에서 X가 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛에 부착되는 것으로 기재되는 경우, 이것은 폴리사카라이드 반복체 유닛 내의 임의의 적합한 기능성 그룹에 대한 또는 이를 통한 화학적 부착(예를 들어, 환원성 아민화를 통해 인접 디올의 산화로 부터 발생할 수 있는 알데히드와 반응함)을 지칭할 수

있다. 일부 구현예에서, 화학식 I의 X, 및 -NH-는 이소우레아 모이어티의 일부이다.

[0134] **[0109]** 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드는 화학식 II에 따른 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에 연결된다:



[0135] (화학식 II)

[0136] 여기서 R_1은 H, 포밀, 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산, 또는 이의 단편이고; R_2는 OH 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편의 적어도 하나의 아미노산이고; W는 CH 또는 N이고; y는 적어도 1이고; n은 적어도 1이며; X는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이다. 일부 구현예에서, R_1 및 R_2는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편의 아미노산 둘다이다. 일부 구현예에서, n은 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3이다. 특정 구현예에서, n은 1, 2, 또는 3이다. 일부 구현예에서, W 둘다는 CH이다. 일부 구현예에서, W 둘다는 N이다. 일부 구현예에서, 하나의 W는 N이고, 하나의 W는 CH이다. 일부 구현예에서, n은 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4 또는 적어도 5이다. 특정 구현예에서, n은 1, 2, 3, 4 또는 5이다. 일부 구현예에서, 화학식 I의 X, 및 -NH-는 이소우레아 모이어티의 일부이다.

[0137] **[0110]** 본원에 기재된 면역원성 조성물의 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체는 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa의 분자량을 갖는다. 특정 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 평균 분자량이 약 10kDa 내지 약 40kDa; 약 10kDa 내지 약 35kDa; 약 10kDa 내지 약 30kDa; 약 10kDa 내지 약 25kDa; 약 10kDa 내지 약 20kDa; 약 10kDa 내지 약 15kDa; 15kDa 내지 약 40kDa; 약 15kDa 내지 약 35kDa; 약 15kDa 내지 약 30kDa; 약 15kDa 내지 약 25kDa; 약 15kDa 내지 약 20kDa; 20kDa 내지 약 40kDa; 약 20kDa 내지 약 35kDa; 약 20kDa 내지 약 30kDa; 약 20kDa 내지 약 25kDa; 25kDa 내지 약 40kDa; 약 25kDa 내지 약 35kDa; 약 25kDa 내지 약 30kDa; 약 30kDa 내지 약 40kDa; 약 30kDa 내지 약 35kDa; 또는 약 35kDa 내지 약 40kDa이다. 일부 구현예에서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드는 평균 분자량이 약 10kDa, 약 15kDa, 약 20kDa, 약 25kDa, 약 30kDa, 약 35kDa, 또는 약 40kDa이다. 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에는 면역우성 N-아세틸글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여되어 있다.

[0138] **[0111]** 보다 긴 폴리사카라이드를 갖는 것 외에도, 본원에 기재된 면역원성 조성물의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 증가된 평균 분자량을 가질 수 있다. 본원에 기재된 임의의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 일부 구현예에서, 평균 분자량은 약 185 kDa 또는 190 kDa 초과이다. 일부 구현예에서, 평균 분자량은 약 185 kDa 내지 약 700 kDa, 약 185 kDa 내지 약 600 kDa, 약 185 kDa 내지 약 500 kDa, 약 185 kDa 내지 약 400 kDa, 약 185kDa 내지 약 300kDa, 및 약 185kDa 내지 약 200kDa이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 분자량 또는 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa, 약 185 kDa 내지 약 650 kDa, 약 185 kDa 내지 약 600 kDa, 약 185 kDa 내지 약 550 kDa, 약 185 kDa 내지 약 500 kDa, 약 185 kDa 내지 약 450 kDa, 약 185 kDa 내지 약 400 kDa, 약 185 kDa 내지 약 350 kDa, 약 185 kDa 내지 약 300 kDa, 약 185 kDa 내지 약 250 kDa, 약 185 kDa 내지 약 200 kDa, 약 200 kDa 내지 약 700 kDa, 약 200 kDa 내지 약 650 kDa, 약 200 kDa 내지 약 600 kDa, 약 200 kDa 내지 약 550 kDa, 약 200 kDa 내지 약 500 kDa, 약 200 kDa 내지 약 450 kDa, 약 200 kDa 내지 약 400 kDa, 약 200 kDa 내지 약 350 kDa, 약 200 kDa 내지 약 300 kDa, 약 200 kDa 내지 약 250 kDa, 약 250 kDa 내지 약 700 kDa, 약 250 kDa 내지 약 650 kDa, 약 250 kDa 내지 약 600 kDa, 약 250 kDa 내지 약 550 kDa, 약 250 kDa 내지 약 500 kDa, 약 250 kDa 내지 약 450 kDa, 약 250 kDa 내지 약 400 kDa, 약 250 kDa 내지 약 350 kDa, 약 250 kDa 내지 약 300 kDa, 약 300 kDa 내지 약 700 kDa, 약 300 kDa 내

지 약 650 kDa, 약 300 kDa 내지 약 600 kDa, 약 300 kDa 내지 약 550 kDa, 약 300 kDa 내지 약 500 kDa, 약 300 kDa 내지 약 450 kDa, 약 300 kDa 내지 약 400 kDa, 약 300 kDa 내지 약 350 kDa, 약 350 kDa 내지 약 700 kDa, 약 350 kDa 내지 약 650 kDa, 약 350 kDa 내지 약 600 kDa, 약 350 kDa 내지 약 550 kDa, 약 350 kDa 내지 약 500 kDa, 약 350 kDa 내지 약 450 kDa, 약 350 kDa 내지 약 400 kDa, 약 400 kDa 내지 약 700 kDa, 약 400 kDa 내지 약 650 kDa, 약 400 kDa 내지 약 600 kDa, 약 400 kDa 내지 약 550 kDa, 약 400 kDa 내지 약 500 kDa, 약 400 kDa 내지 약 450 kDa, 약 450 kDa 내지 약 700 kDa, 약 450 kDa 내지 약 650 kDa, 약 450 kDa 내지 약 600 kDa, 약 450 kDa 내지 약 550 kDa, 약 450 kDa 내지 약 500 kDa, 약 500 kDa 내지 약 700 kDa, 약 500 kDa 내지 약 650 kDa, 약 500 kDa 내지 약 600 kDa, 약 500 kDa 내지 약 550 kDa, 약 550 kDa 내지 약 700 kDa, 약 550 kDa 내지 약 650 kDa, 약 550 kDa 내지 약 600 kDa, 약 600 kDa 내지 약 700 kDa, 약 600 kDa 내지 약 650 kDa, 또는 약 650 kDa 내지 약 700 kDa일 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 약 185, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650 또는 700 kDa의 분자량 또는 평균 분자량을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체에는 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여되어 있다.

[0139] **[0112]** 본원에 기재된 긴 폴리사카라이드를 사용하면 감소된 양의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 면역원성 조성물의 생산이 가능해질 수 있다. 예를 들어, 면역원성 조성물은 약 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% 또는 5% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 약 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% 또는 5%의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함한다.

[0140] **[0113]** 본원에 기재된 면역원성 조성물은 본원에 기재된 임의의 면역원성 조성물을 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는데 적합할 수 있다. 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는다. 일부 구현에에서, 본원의 개시내용은 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 본원에 기재된 면역원성 조성물의 용도를 제공한다. 또한 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 본원에 기재된 임의의 면역원성 조성물의 용도가 제공된다. 일부 구현예에서, 대상체는 18세 이상이다. 일부 구현예에서, 대상체는 18세 미만이다. 일부 구현예에서, 대상체는 5세 내지 17세 연령, 6개월 및 9세 연령, 또는 5세 내지 9세 연령이다.

[0141] **[0114]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 다음을 포함한다: (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체. 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된다. 추가로, 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185 kDa 내지 약 700 kDa이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185 kDa 초과이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 190 kDa 초과이다.

[0142] **[0115]** 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은 다음을 포함할 수 있다: (a) 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이들로 이루어진 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; (b) 서열번호 53의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이들로 이루어진 GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 (c) (i) 서열번호 34의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이들로 이루어진 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(SpyAD) 접합체 폴리펩타이드, 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체. 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185 kDa 내지 약 700 kDa이다. 일부 구현예에서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 200 kDa 내지 약 700 kDa이다. 특정 구현예에서, 평균 분자량은 약 300 kDa 내지 약 600 kDa이다. 특정 구현예에서, 평균 분자량은 약 400 kDa 내지 약 500 kDa이다. 일부 구현예에서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체는 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 구현예에서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드는 서열번호 34의 아미노산 서열의 단편이고, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진다.

[0143] **[0116]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 (a) 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; (b) GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 (c) (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185 kDa 내지 약 700 kDa이다.

[0144] **[0117]** 일부 구현예에서, 면역원성 조성물은(a) 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; (b) GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 (c). (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고. 상기 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8 몰% 내지 약 20 몰%가 링커에 의해 유도체화된다.

[0145] **[0118]** 일부 구현예에서, 본원에 기재된 면역원성 조성물은 (a) 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원; (b) GAS 스트렙토리신 O(SLO) 폴리펩타이드 항원; 및 (c) (i) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(SpyAD) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편으로서, 여기서 적어도 하나의 nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는 폴리펩타이드 또는 이의 단편; 및 (ii) 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고, 상기 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량은 약 185 kDa 내지 약 700 kDa이다.

[0146] 열거된 구현예

[0147] **[0119]** 구현예 I-1. 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법으로서, 상기 방법이 다음 단계를 포함하는, 방법:

[0148] (a) 염기 및 환원제를 포함하는 용액 중에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계; 및

[0149] (b) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계.

[0150] **[0120]** 구현예 I-2. 구현예 I-1에 있어서, 세균 세포가 슈도모나스(*Pseudomonas*) 세균 세포, 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 세균 세포, 스타필로코커스(*Staphylococcus*) 세균 세포, 나이세리아(*Neisseria*) 세균 세포, 해모필러스(*Haemophilus*) 세균 세포, 리스테리아(*Listeria*) 세균 세포, 엔테로코커스(*Enterococcus*) 세균 세포 또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 세균 세포인, 방법.

[0151] **[0121]** 구현예 I-3. 구현예 I-1 또는 I-2에 있어서, 상기 세균 세포가 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스트렙토코커스 비리단스(*Streptococcus viridans*), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*), 또는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 등으로부터 선택되는, 방법.

[0152] **[0122]** 구현예 I-4. 구현예 I-3에 있어서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 또는 M92로부터 선택된 혈청형을 갖는, 방법.

[0153] **[0123]** 구현예 I-5. 구현예 I-3에 있어서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 생산하는, 방법.

[0154] **[0124]** 구현예 I-6. 구현예 I-1에 있어서, 세균 세포로부터 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법.

[0155] **[0125]** 구현예 I-7. 구현예 I-1 내지 I-6 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH, KOH, 또는 LiOH인, 방법.

[0156] **[0126]** 구현예 I-8. 구현예 I-1 내지 I-7 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH인, 방법.

[0157] **[0127]** 구현예 I-9. 구현예 I-1 내지 I-8 중 어느 하나에 있어서, 염기의 농도가 약 2M 내지 약 8M인, 방법.

[0158] **[0128]** 구현예 I-10. 구현예 I-1 내지 I-9 중 어느 하나에 있어서, 염기 및 환원제를 포함하는 용액이 약 pH 14인, 방법.

[0159] **[0129]** 구현예 I-11. 구현예 I-1 내지 I-10 중 어느 하나에 있어서, 환원제가 수소화붕소나트륨, 시아노수소화붕소나트륨, 트리아세톡시수소화붕소나트륨, 디티오트레이톨 또는 베타-머캅토에탄올인, 방법.

[0160] **[0130]** 구현예 I-12. 구현예 I-1 내지 I-11 중 어느 하나에 있어서, 환원제가 수소화붕소나트륨인, 방법.

[0161] **[0131]** 구현예 I-13. 구현예 I-1 내지 I-12 중 어느 하나에 있어서, 환원제의 농도가 약 1 mM 내지 500 mM인, 방법.

[0162] **[0132]** 구현예 I-14. 구현예 I-1 내지 I-13 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 30 ° C 내지 약 100 ° C에서 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0163] **[0133]** 구현예 I-15. 구현예 I-1 내지 I-14 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 0.5 내지 약 20시간 동안 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0164] **[0134]** 구현예 I-16. 구현예 I-1 내지 I-15 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 하나 이상의 pH 조정 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0165] **[0135]** 구현예 I-17. 구현예 I-16에 있어서, 하나 이상의 pH 조정 단계가 다음으로부터 독립적으로 선택되는, 방법:

[0166] (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 상승시키는 단계, 또는

[0167] (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 저하시키는 단계.

[0168] **[0136]** 구현예 I-18. 구현예 I-17에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 7.0으로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0169] **[0137]** 구현예 I-19. 구현예 I-17 또는 I-18에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 6.5로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0170] **[0138]** 구현예 I-20. 구현예 I-17 또는 I-18에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 4로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0171] **[0139]** 구현예 I-21. 구현예 I-16 또는 I-17에 있어서,

[0172] (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 저하시키는 단계;

[0173] (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3으로 저하시키는 단계; 및

[0174] (iii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 상승시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0175] **[0140]** 구현예 I-22. 구현예 I-16 내지 I-21 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 대략 실온(r.t.)에서 항온처리되는, 방법.

[0176] **[0141]** 구현예 I-23. 구현예 I-17 내지 I-20 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 약 4℃ 내지 약 30℃에서 항온처리되는, 방법.

[0177] **[0142]** 구현예 I-24. 구현예 I-1 내지 I-23 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체를 제거하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0178] **[0143]** 구현예 I-25. 구현예 I-24에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체의 제거가 여과, 원심분리 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0179] **[0144]** 구현예 I-26. 구현예 I-25에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0180] **[0145]** 구현예 I-27. 구현예 I-25 또는 I-26에 있어서, 여과가 심층 여과에 이어 TFF를 포함하는, 방법.

[0181] **[0146]** 구현예 I-28. 구현예 I-24 또는 I-25에 있어서, 고체가 원심분리에 의해 폴리사카라이드를 포함하는 용

해물로부터 제거되는, 방법.

[0182] **[0147]** 구현예 I-29. 구현예 I-1 내지 I-28 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 뮤라용해 효소가 뮤타노리신, 리소자임 또는 박테리오파아지 하이드롤라제인, 방법.

[0183] **[0148]** 구현예 I-30. 구현예 I-1 내지 I-29 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)가 프로테아제로 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0184] **[0149]** 구현예 I-31. 구현예 I-30에 있어서, 프로테아제가 프로테이나제 K, 트립신, 키모트립신, 엔도프로테이나제 Asp-N, 엔도프로테이나제 Arg-C, 엔도프로테이나제 Glu-C, 엔도프로테이나제 Lys-C, 펩신, 써모리신, 엘라스타제, 파파인, 서브스틸리신, 클로스트리파인, 카복시펩티다제 A, 카복시펩티다제 B, 카복시펩티다제 P, 카복시펩티다제 Y, 카텝신 C, 아실아미노산 방출 효소 또는 피로글루타메이트인, 방법.

[0185] **[0150]** 구현예 I-32. 구현예 I-1 내지 I-31 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)가 뮤라용해 효소와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 약 30 ° C 내지 약 65 ° C로 가온시킴을 추가로 포함하는, 방법.

[0186] **[0151]** 구현예 I-33. 구현예 I-30 내지 I-32 중 어느 하나에 있어서, 프로테아제와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 약 45° C 내지 약 55 ° C로 가온되는, 방법.

[0187] **[0152]** 구현예 I-34. 구현예 I-32 또는 I-33에 있어서, 용해물이 약 6 내지 약 20시간 가온되는, 방법.

[0188] **[0153]** 구현예 I-35. 구현예 I-1 내지 I-34 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 핵산, 효소, 숙주 세포 단백질(HCP), 또는 이들의 조합의 농도를 감소시키기 위해 추가로 정제되는, 방법.

[0189] **[0154]** 구현예 I-36. 구현예 I-1 내지 I-35 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 침전에 의해 추가로 정제되는, 방법.

[0190] **[0155]** 구현예 I-37. 구현예 I-1 내지 I-36 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)로 처리되는, 방법.

[0191] **[0156]** 구현예 I-38. 구현예 I-37에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 CTAB의 농도가 약 0.1% 내지 약 10%인, 방법.

[0192] **[0157]** 구현예 I-39. 구현예 I-37 또는 I-38에 있어서, CTAB의 농도가 약 0.5% 내지 약 3%인, 방법.

[0193] **[0158]** 구현예 I-40. 구현예 I-37 내지 I-39 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 요오드화칼륨 (KI)로 처리되는, 방법.

[0194] **[0159]** 구현예 I-41. 구현예 I-32에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 KI의 농도가 약 20 mM 내지 약 400 mM인, 방법.

[0195] **[0160]** 구현예 I-42. 구현예 I-1 내지 I-41 중 어느 하나에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액이 여과, 원심분리, 크로마토그래피 또는 이의 조합에 의해 추가로 정제되는, 방법.

[0196] **[0161]** 구현예 I-43. 구현예 I-42에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0197] **[0162]** 구현예 I-44. 구현예 I-42에 있어서, 크로마토그래피가 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 음이온 교환 크로마토그래피(AEX), 세라믹 하이드록시애퍼타이트형 크로마토그래피, 또는 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 포함하는, 방법.

[0198] **[0163]** 구현예 I-45. 다음을 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체:

[0199] (a) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드; 및

[0200] (b) 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa의 분자량을 갖는 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드.

[0201] **[0164]** 구현예 I-46. 구현예 I-45에 있어서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드에 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0202] **[0165]** 구현예 I-47. 구현예 I-45 내지 I-46에 있어서, 폴리펩타이드 항원이 전장 GAS 폴리펩타이드 항원 또는

전장 GAS 폴리펩타이드 항원의 단편인 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0203] **[0166]** 구현예 I-48. 구현예 I-45 내지 I-47 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드에서 리신, 류신, 이소류신 또는 아르기닌으로 치환되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0204] **[0167]** 구현예 I-49. 구현예 I-45 내지 I-48 중 어느 하나에 있어서, nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0205] **[0168]** 구현예 I-50. 구현예 I-45 내지 I-49 중 어느 하나에 있어서, nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0206] **[0169]** 구현예 I-51. 구현예 I-45 내지 I-50 중 어느 하나에 있어서, nnAA가 pAMF인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0207] **[0170]** 구현예 I-52. 구현예 I-45 내지 I-51 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제, 스트렙토리신 O (SLO), SpyAD, Sib35, 및 Sfb1로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0208] **[0171]** 구현예 I-53. 구현예 I-45 내지 I-52 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드 항원이 SLO인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0209] **[0172]** 구현예 I-54. 구현예 I-53에 있어서, SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0210] **[0173]** 구현예 I-55. 구현예 I-53에 있어서, SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0211] **[0174]** 구현예 I-56. 구현예 I-53 내지 I-55 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 3 또는 4개 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0212] **[0175]** 구현예 I-57. 구현예 I-53 내지 I-56 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0213] **[0176]** 구현예 I-58. 구현예 I-53 내지 I-56 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0214] **[0177]** 구현예 I-59. 구현예 I-53 내지 I-55 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 5, 6, 7 또는 8개 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0215] **[0178]** 구현예 I-60. 구현예 I-53 내지 I-55 또는 59 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0216] **[0179]** 구현예 I-61. 구현예 I-53 내지 I-55 또는 59-60 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0217] **[0180]** 구현예 I-62. 구현예 I-45 내지 I-52 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드 항원이 SpyAD 폴리펩타이드인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0218] **[0181]** 구현예 I-63. 구현예 I-62에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산

서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0219] **[0182]** 구현예 I-64. 구현예 I-62에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0220] **[0183]** 구현예 I-65. 구현예 I-62 내지 I-64 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0221] **[0184]** 구현예 I-66. 구현예 I-62 내지 I-65 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0222] **[0185]** 구현예 I-67. 구현예 I-62 내지 I-65 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0223] **[0186]** 구현예 I-68. 구현예 I-45 내지 I-45 또는 48-51 중 어느 하나에 있어서, 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 ADI, 페리틴, 단백질 D 및 eCRM197로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0224] **[0187]** 구현예 I-69. 구현예 I-68에 있어서, 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 eCRM197인 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0225] **[0188]** 구현예 I-70. 구현예 I-69에 있어서, eCRM197이 서열번호 25의 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0226] **[0189]** 구현예 I-71. 구현예 I-45 내지 I-50 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 표 1에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0227] **[0190]** 구현예 II-1. 다음을 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체:

[0228] (a) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드로서, nnAA가 클릭 화학 반응성 그룹을포함하는, 항원 또는 폴리펩타이드; 및

[0229] (b) 적어도 약 10 kDa 내지 적어도 약 40 kDa의 분자량을 갖는 정제된 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드.

[0230] **[0191]** 구현예 II-2. 구현예 II-1에 있어서, 정제된 세포벽 폴리사카라이드에 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0231] **[0192]** 구현예 II-3. 구현예 II-1 내지 II-2에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원이 전장 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 전장 GAS 폴리펩타이드 항원의 단편인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0232] **[0193]** 구현예 II-4. 구현예 II-1 내지 II-3 중 어느 하나에 있어서, 세포벽 폴리사카라이드가 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0233] **[0194]** 구현예 II-5. 구현예 II-4에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0234] **[0195]** 구현예 II-6. 구현예 II-4 내지 II-5 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 10몰% 및 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0235] **[0196]** 구현예 II-7. 구현예 II-4 내지 II-6 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 10몰% 내지 약 18몰%가 링커에 의해 유도체화된, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0236] **[0197]** 구현예 II-8. 구현예 II-1 내지 II-6 중 어느 하나에 있어서, 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0237] **[0198]** 구현예 II-9. 구현예 II-1 내지 II-7 중 어느 하나에 있어서, 평균 분자량이 약 200 kDa 내지 약 700 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0238] **[0199]** 구현예 II-10. 구현예 II-1 내지 II-9 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의

평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 600 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0239] **[0200]** 구현예 II-11. 구현예 II-1 내지 II-10 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 400 kDa 내지 약 500 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0240] **[0201]** 구현예 II-12. 구현예 II-1 내지 II-11 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드에서 리신, 류신, 이소류신 또는 아르기닌으로 치환되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0241] **[0202]** 구현예 II-13. 구현예 II-1 내지 II-12 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0242] **[0203]** 구현예 II-14. 구현예 II-1 내지 II-13 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 pAMF인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0243] **[0204]** 구현예 II-15. 구현예 II-1 내지 II-14 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원이 C5a 펩티다제, 스트렙토리신 O (SLO), SpyAD, Sib35, 및 Sfb1로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0244] **[0205]** 구현예 II-15a. 구현예 II-1 내지 II-15 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원이 SLO인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0245] **[0206]** 구현예 II-15b. 구현예 II-15a에 있어서, SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0246] **[0207]** 구현예 II-15c. 구현예 II-15b에 있어서, SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0247] **[0208]** 구현예 II-15d. 구현예 I-15a 내지 II-15c 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 3 또는 4개 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0248] **[0209]** 구현예 II-15e. 구현예 II-15a 내지 15d 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0249] **[0210]** 구현예 II-15f. 구현예 II-15a 내지 II-15d 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 또는 서열번호 64의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0250] **[0211]** 구현예 II-15g. 구현예 II-15a 내지 II-15c 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 K98, K112, R151, K189, K272, K323, K357, K375, K407, 또는 K464로부터 선택되는 위치에서 5, 6, 7 또는 8개 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0251] **[0212]** 구현예 II-15h. 구현예 II-15a 내지 II-15c 또는 II-22 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0252] **[0213]** 구현예 II-15i. 구현예 II-15a 내지 II-15c 또는 II-15g 내지 II-15f 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드가 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 또는 서열번호 76의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0253] **[0214]** 구현예 II-16. 구현예 II-1 내지 II-15 또는 II-15a 내지 II-15i 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원이 SpyAD 폴리펩타이드 또는 이의 단편인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0254] **[0215]** 구현예 II-17. 구현예 II-16에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0255] **[0216]** 구현예 II-18. 구현예 II-16에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33과 적어도 95% 동일한, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0256] **[0217]** 구현예 II-19. 구현예 II-16 내지 II-18 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0257] **[0218]** 구현예 II-20. 구현예 II-16 내지 II-19 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0258] **[0219]** 구현예 II-21. 구현예 II-16 내지 II-19 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0259] **[0220]** 구현예 II-22. 구현예 II-16 내지 II-19 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0260] **[0221]** 구현예 II-23. 구현예 II-16 내지 II-19 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 폴리펩타이드가 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0261] **[0222]** 구현예 II-24. 구현예 II-1 내지 II-2 또는 II-4 내지 II-14 중 어느 하나에 있어서, 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 ADI, 페리틴, 단백질 D 및 eCRM197로부터 선택되는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0262] **[0223]** 구현예 II-25. 구현예 II-24에 있어서, 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 eCRM197인 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0263] **[0224]** 구현예 II-26. 구현예 II-25에 있어서, eCRM197이 서열번호 25의 서열을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0264] **[0225]** 구현예 II-27. 구현예 II-1 내지 II-13 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 표 1에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0265] **[0226]** 구현예 II-28. 구현예 II-1 내지 II-13 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드가 표 1A에 열거된 폴리펩타이드의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0266] **[0227]** 구현예 II-29. 면역원성 조성물로서,

[0267] (a) 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;

[0268] (b) GAS 스트렙토리신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및

[0269] (c) 적어도 하나의 비천연 아미노산(nnAA)을 포함하는 스트렙토코커스 피오게네스 접착 및 분열(Streptococcus pyogenes Adhesion and Division(SpyAD)) 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편, 및

[0270] 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고;

[0271] GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화되고;

[0272] 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0273] **[0228]** 구현예 II-30. 구현예 II-29에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0274] **[0229]** 구현예 II-31. 구현예 II-29 또는 II-30에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0275] **[0230]** 구현예 II-32. 구현예 II-29 내지 II-31 중 어느 하나에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 29 또는 서열번호 30의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

[0276] **[0231]** 구현예 II-33. 구현예 II-29 내지 II-32 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0277] **[0232]** 구현예 II-34. 구현예 II-29 내지 II-33 중 어느 하나에 있어서, SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0278] **[0233]** 구현예 II-35. 구현예 II-29 내지 II-34 중 어느 하나에 있어서, 상기 SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 31, 서열번호 32, 서열번호 44, 서열번호 45, 서열번호 46, 서열번호 47, 서열번호 48, 서열번호 49, 서열번호 50, 서열번호 51, 서열번호 52, 또는 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

[0279] **[0234]** 구현예 II-36. 구현예 II-29 내지 II-35 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 2-아미노-3-(4-아지도페닐)프로판산(pAF), 2-아미노-4-아지도부탄산, 2-아지도-3-페닐프로피온산, 2-아미노-3-아지도프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)페닐)프로판산 (pAMF), 2-아미노-3-(5-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(4-(아지도메틸)피리딘-2-일)프로판산, 2-아미노-3-(6-(아지도메틸)피리딘-3-일)프로판산, 및 2-아미노-5-아지도펜탄산으로부터 선택되는, 면역원성 조성물.

[0280] **[0235]** 구현예 II-37. 구현예 II-29 내지 II-36 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 nnAA가 pAMF인, 면역원성 조성물.

[0281] **[0236]** 구현예 II-38. 구현예 II-29 내지 II-37 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편이 서열번호 33과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0282] **[0237]** 구현예 II-39. 구현예 II-29 내지 II-38 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0283] **[0238]** 구현예 II-40. 구현예 II-29 내지 II-38 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 단편인 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

[0284] **[0239]** 구현예 II-41. 구현예 II-29 내지 II-40 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 33의 위치 K64, K287, K386, 및 K657에서 pAMF 치환을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0285] **[0240]** 구현예 II-42. 구현예 II-29 내지 II-41 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0286] **[0241]** 구현예 II-43. 구현예 II-29 내지 II-42 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0287] **[0242]** 구현예 II-44. 구현예 II-29 내지 II-43 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

[0288] **[0243]** 구현예 II-45. 구현예 II-29 내지 II-44 중 어느 하나에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 30과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34와 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

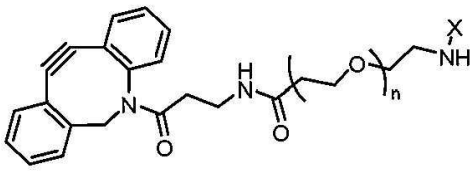
[0289] **[0244]** 구현예 II-46. 구현예 II-29 내지 II-45 중 어느 하나에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서열번호 30의 아미노산 서열을 포함하고; SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53의 아미노산 서열을 포함하고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함하는, 면역원성 조성물.

[0290] **[0245]** 구현예 II-47. 구현예 II-29 내지 II-46 중 어느 하나에 있어서, C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원이 서

열번호 30의 아미노산 서열을 갖고; SLO 폴리펩타이드 항원이 서열번호 53의 아미노산 서열을 갖고; SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열을 갖는, 면역원성 조성물.

[0291] **[0246]** 구현예 II-48. 구현예 II-29 내지 II-47 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 15몰% 및 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화된, 면역원성 조성물.

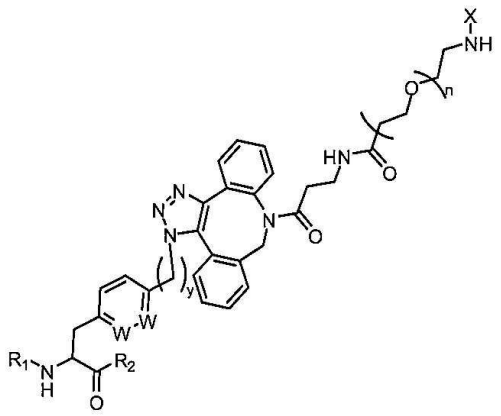
[0292] **[0247]** 구현예 II-49. 구현예 II-29 내지 II-48에 있어서, nnAA의 클릭 화학 반응성 그룹과의 반응 전에 링커가 하기 화학식 I의 구조를 포함하는, 면역원성 조성물:



[0293] (화학식 I)

[0294] 상기식에서, X는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 단편의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이고 n은 적어도 1이다.

[0295] **[0248]** 구현예 II-50. 구현예 II-29 내지 II-49 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드 또는 이의 단편이 화학식 II에 따른 GAS 폴리사카라이드에 연결된, 면역원성 조성물.



[0296] (화학식 II)

[0297] 상기식에서,

[0298] R_1은 H, 포밀 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산이고;

[0299] R_2는 OH 또는 SpyAD 접합체 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산이고;

[0300] W는 CH 또는 N이고;

[0301] y는 적어도 1이고;

[0302] n은 적어도 1이고;

[0303] X는 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 적어도 하나의 폴리사카라이드 반복체 유닛이다.

[0304] **[0249]** 구현예 II-51. 구현예 II-29 내지 II-50 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체가 적어도 약 10 KDa 내지 적어도 약 40 KDa의 평균 분자량을 갖는, 면역원성 조성물.

[0305] **[0250]** 구현예 II-52. 구현예 II-29 내지 II-51 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0306] **[0251]** 구현예 II-53. 구현예 II-29 내지 II-52 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 200 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0307] **[0252]** 구현예 II-54. 구현예 II-29 내지 II-53 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0308] **[0253]** 구현예 II-55. 구현예 II-29 내지 II-54 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 600 kDa인, 면역원성 조성물.

[0309] **[0254]** 구현예 II-56. 구현예 II-29 내지 II-55 중 어느 하나에 있어서, 약 60% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[0310] **[0255]** 구현예 II-57. 구현예 II-29 내지 II-56 중 어느 하나에 있어서, 적어도 50% 미만의 유리된 GAS 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[0311] **[0256]** 구현예 II-58. 구현예 II-29 내지 II-57 중 어느 하나에 있어서, 적어도 25% 미만의 유리된 GAS 폴리펩타이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[0312] **[0257]** 구현예 II-59. 구현예 II-29 내지 II-58 중 어느 하나에 있어서, 약 15% 만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[0313] **[0258]** 구현예 II-60. 구현예 II-29 내지 II-59 중 어느 하나에 있어서, 약 10% 미만의 유리된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 추가로 포함하는, 면역원성 조성물.

[0314] **[0259]** 구현예 II-61. 구현예 II-29 내지 II-60 중 어느 하나의 면역원성 조성물을 대상체에게 투여함을 포함하는, 상기 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 방법.

[0315] **[0260]** 구현예 II-62. 구현예 II-61에 있어서, 면역원성 조성물이 대상체에서 그룹 A 스트렙토코커스 (GAS) 세균에 대한 항체 반응을 유도하고 대상체에서 사람 조직에 대한 항체 반응을 유도하지 않는, 방법.

[0316] **[0261]** 구현예 II-63. 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 약물의 제조에서 구현예 II-29 내지 II-60 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.

[0317] **[0262]** 구현예 II-64. 대상체에서 GAS 세균에 대한 보호 면역 반응을 유도하기 위한 구현예 II-29 내지 II-60 중 어느 하나의 면역원성 조성물의 용도.

[0318] **[0263]** 구현예 II-65. 세균 세포로부터 세포벽 폴리사카라이드 또는 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법으로서, 상기 방법이 다음 단계를 포함하는, 방법:

[0319] (a) 염기 및 환원제를 포함하는 용액 중에서 세균 세포를 가수분해하여 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 형성하는 단계; 및

[0320] (b) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 뮤라용해 효소와 항온처리하여 유리된 폴리사카라이드 용액을 형성하는 단계.

[0321] **[0264]** 구현예 II-66. 구현예 II-65에 있어서, 세균 세포가 슈도모나스(*Pseudomonas*) 세균 세포, 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 세균 세포, 스타필로코커스(*Staphylococcus*) 세균 세포, 나이세리아(*Neisseria*) 세균 세포, 해모필러스(*Haemophilus*) 세균 세포, 리스테리아(*Listeria*) 세균 세포, 엔테로코커스(*Enterococcus*) 세균 세포 또는 클로스트리디움(*Clostridium*) 세균 세포인, 방법.

[0322] **[0265]** 구현예 II-67. 구현예 II-65 또는 II-66에 있어서, 상기 세균 세포가 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스트렙토코커스 비리단스(*Streptococcus viridans*), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*), 또는 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 로부터 선택되는, 방법.

[0323] **[0266]** 구현예 II-68. 구현예 II-67에 있어서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11, M12, M13, M18, M22, M25, M28, M62, M71, M72, M74, M75, M77, M80, M81, M83, M87, M89, 또는 M92로부터 선택된 혈청형을 갖는, 방법.

[0324] **[0267]** 구현예 II-69. 구현예 II-68에 있어서, 스트렙토코커스 피오게네스 세균 세포가 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 생산하는, 방법.

[0325] **[0268]** 구현예 II-70. 구현예 II-65에 있어서, 세균 세포로부터 펩티도글리칸 결합된 협막 폴리사카라이드를 정제하기 위한 방법.

[0326] **[0269]** 구현예 II-71. 구현예 II-65 내지 II-70 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH, KOH, 또는 LiOH인, 방법.

[0327] **[0270]** 구현예 II-72. 구현예 II-65 내지 II-71 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 염기가 NaOH인, 방법.

[0328] **[0271]** 구현예 II-73. 구현예 II-65 내지 II-72 중 어느 하나에 있어서, 염기의 농도가 약 2M 내지 약 8M인, 방법.

[0329] **[0272]** 구현예 II-74. 구현예 II-65 내지 II-73 중 어느 하나에 있어서, 염기 및 환원제를 포함하는 용액이 약 pH 14인, 방법.

[0330] **[0273]** 구현예 II-75. 구현예 II-65 내지 II-72 중 어느 하나에 있어서, 환원제가 수소화붕소나트륨, 시아노수소화붕소나트륨, 트리아세톡시수소화붕소나트륨, 디티오트레이톨 또는 베타-머캅토에탄올인, 방법.

[0331] **[0274]** 구현예 II-76. 구현예 II-65 내지 II-73 중 어느 하나에 있어서, 환원제가 수소화붕소나트륨인, 방법.

[0332] **[0275]** 구현예 II-77. 구현예 II-65 내지 II-76 중 어느 하나에 있어서, 환원제의 농도가 약 1 mM 내지 500 mM인, 방법.

[0333] **[0276]** 구현예 II-78. 구현예 II-65 내지 II-75 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 30 ° C 내지 약 100 ° C에서 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0334] **[0277]** 구현예 II-79. 구현예 II-65 내지 II-78 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 용액을 약 0.5 내지 약 20시간 동안 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0335] **[0278]** 구현예 II-80. 구현예 II-65 내지 II-79 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 하나 이상의 pH 조정 단계를 추가로 포함하는, 방법.

[0336] **[0279]** 구현예 II-81. 구현예 II-80에 있어서, 하나 이상의 pH 조정 단계가 다음으로부터 독립적으로 선택되는, 방법:

[0337] (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 상승시키는 단계, 또는

[0338] (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 저하시키는 단계.

[0339] **[0280]** 구현예 II-82. 구현예 II-81에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 7.0으로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0340] **[0281]** 구현예 II-83. 구현예 II-81 또는 II-82에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 6.5로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0341] **[0282]** 구현예 II-84. 구현예 II-81 또는 II-82에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3 내지 4로 저하시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0342] **[0283]** 구현예 II-85. 구현예 II-80 또는 II-81에 있어서,

[0343] (i) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 저하시키는 단계;

[0344] (ii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 3으로 저하시키는 단계; 및

[0345] (iii) 폴리사카라이드를 포함하는 용해물의 pH를 약 5.5 내지 7.0으로 상승시키는 단계를 포함하는, 방법.

[0346] **[0284]** 구현예 II-86. 구현예 II-80 내지 II-85 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 대략 실온(r.t.)에서 항온처리되는, 방법.

[0347] **[0285]** 구현예 II-87. 구현예 II-81 내지 II-84 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 하나 이상의 pH 조정 단계 후에 약 4℃ 내지 약 30℃에서 항온처리되는, 방법.

[0348] **[0286]** 구현예 II-88. 구현예 II-65 내지 II-87 중 어느 하나에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체를 제거하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0349] **[0287]** 구현예 II-89. 구현예 II-88에 있어서, 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 고체의 제거가 여과, 원심분리 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0350] **[0288]** 구현예 II-90. 구현예 II-89에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0351] [0289] 구현예 II-91. 구현예 II-89 또는 II-90에 있어서, 여과가 심층 여과에 이어 TFF를 포함하는, 방법.

[0352] [0290] 구현예 II-92. 구현예 II-88 또는 II-89에 있어서, 고체가 원심분리에 의해 폴리사카라이드를 포함하는 용해물로부터 제거되는, 방법.

[0353] [0291] 구현예 II-93. 구현예 II-65 내지 II-92 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)의 뮤라용해 효소가 뮤타노리신, 리소자임 또는 박테리오파아지 하이드롤라제인, 방법.

[0354] [0292] 구현예 II-94. 구현예 II-65 내지 II-93 중 어느 하나에 있어서, 단계 (a)가 프로테아제로 항온처리함을 추가로 포함하는, 방법.

[0355] [0293] 구현예 II-95. 구현예 II-94에 있어서, 프로테아제가 프로테이나제 K, 트립신, 키모트립신, 엔도프로테이나제 Asp-N, 엔도프로테이나제 Arg-C, 엔도프로테이나제 Glu-C, 엔도프로테이나제 Lys-C, 펩신, 써모리신, 엘라스타제, 파파인, 서브스틸리신, 클로스트리파인, 카복시펩티다제 A, 카복시펩티다제 B, 카복시펩티다제 P, 카복시펩티다제 Y, 카텝신 C, 아실아미노산 방출 효소 또는 피로글루타메이트인, 방법.

[0356] [0294] 구현예 II-96. 구현예 II-65 내지 II-95 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)가 뮤라용해 효소와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물을 약 30 ° C 내지 약 65 ° C로 가온시킴을 추가로 포함하는, 방법.

[0357] [0295] 구현예 II-97. 구현예 II-94 내지 II-96 중 어느 하나에 있어서, 프로테아제와 함께 폴리사카라이드를 포함하는 용해물이 약 45° C 내지 약 55 ° C로 가온됨을 추가로 포함하는, 방법.

[0358] [0296] 구현예 II-98. 구현예 II-96 또는 II-97에 있어서, 용해물이 약 6 내지 약 20시간 가온되는, 방법.

[0359] [0297] 구현예 II-99. 구현예 II-65 내지 II-98 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 핵산, 효소, 숙주 세포 단백질(HCP), 또는 이들의 조합의 농도를 감소시키기 위해 추가로 정제되는, 방법.

[0360] [0298] 구현예 II-100. 구현예 II-65 내지 II-99 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 침전에 의해 추가로 정제되는, 방법.

[0361] [0299] 구현예 II-101. 구현예 II-65 내지 II-100 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)로 처리되는, 방법.

[0362] [0300] 구현예 II-102. 구현예 II-101에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 CTAB의 농도가 약 0.1% 내지 약 10%인, 방법.

[0363] [0301] 구현예 II-103. 구현예 II-101 또는 II-102에 있어서, CTAB의 농도가 약 0.5% 내지 약 3%인, 방법.

[0364] [0302] 구현예 II-104. 구현예 II-101 내지 II-103 중 어느 하나에 있어서, 단계 (b)의 유리된 폴리사카라이드 용액이 요오드화칼륨 (KI)로 처리되는, 방법.

[0365] [0303] 구현예 II-105. 구현예 II-104에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액 중 KI의 농도가 약 20 mM 내지 약 400 mM인, 방법.

[0366] [0304] 구현예 II-106. 구현예 II-65 내지 II-105 중 어느 하나에 있어서, 유리된 폴리사카라이드 용액이 여과, 원심분리, 크로마토그래피 또는 이의 조합에 의해 추가로 정제되는, 방법.

[0367] [0305] 구현예 II-107. 구현예 II-106에 있어서, 상기 여과가 심층 여과, 접선 유동 여과(TFF), 멸균 여과, 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

[0368] [0306] 구현예 II-108. 구현예 II-106에 있어서, 크로마토그래피가 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 음이온 교환 크로마토그래피(AEX), 세라믹 하이드록시애퍼타이트형 크로마토그래피, 또는 양이온 교환 크로마토그래피(CEX)를 포함하는, 방법.

[0369] [0307] 구현예 II-109. 면역원성 조성물로서,

[0370] (a) 서열번호 30의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 이루어진 그룹 A 스트렙토코커스(GAS) C5a 펩티다제 폴리펩타이드 항원;

[0371] (b) 서열번호 53의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 이루어진 GAS 스트렙토리신 O (SLO) 폴리펩타이드 항원; 및

[0372] (c) 서열번호 34의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하거나 이로 이루어진 스트렙토코커스 피오게네스 접착

및 분열 (SpyAD) 접합체 폴리펩타이드, 및

[0373] 면역우성 N-아세틸 글루코사민(GlcNAc) 측쇄가 결여된 GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체를 포함하는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 포함하고;

[0374] GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체의 폴리사카라이드 반복체 유닛의 약 8몰% 내지 약 20몰%가 링커에 의해 유도체화되는, 면역원성 조성물.

[0375] **[0308]** 구현예 II-110. 구현예 II-109에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 185 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0376] **[0309]** 구현예 II-111. 구현예 II-109 내지 II-110 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 200 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0377] **[0310]** 구현예 II-112. 구현예 II-109 내지 II-111 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 700 kDa인, 면역원성 조성물.

[0378] **[0311]** 구현예 II-113. 구현예 II-109 내지 II-112 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 평균 분자량이 약 300 kDa 내지 약 600 kDa인, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0379] **[0312]** 구현예 II-114. 구현예 II-109 내지 II-113 중 어느 하나에 있어서, GAS 폴리사카라이드 또는 이의 변이체가 적어도 약 10 KDa 내지 적어도 약 40 KDa의 분자량을 갖는, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0380] **[0313]** 구현예 II-115. 구현예 II-109 내지 II-114 중 어느 하나에 있어서, SpyAD 접합체 폴리펩타이드가 서열번호 34의 아미노산 서열의 단편이고, 서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79, 서열번호 81, 서열번호 82, 또는 서열번호 83의 아미노산 서열을 포함하거나 이들로 이루어진, 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체.

[0381] 실시예

[0382] **합성 실시예 1: 고분자량 (긴) 폴리사카라이드의 정제**

[0383] **[0314]** GAS 세균 배양물로부터 GAS 폴리사카라이드를 추출하고 정제하기 위한 실험을 수행하였다. 도 1은 본원에 기재된 샘플 정제의 단순화된 흐름도를 보여준다.

[0384] **[0315]** *염기 가수분해:* 제조된 GAS 세포 펠릿은 50 mM NaCl 용액 중에 재현탁시켰다. 혈청학적 피펫을 사용하여 50mL NaCl을 첨가하고 재현탁될 때까지 와동시켰다. 10N 수산화나트륨 및 1M 붕소수소화나트륨을 4N NaOH 및 25mM $NaBH_4$의 최종 농도에 도달하도록 첨가하였다. 재현탁된 펠릿을 1L 발효 용적당 160mL의 최종 표적 용적으로 원심분리기 병 사이에 분할하였다. 용액을 분할할 때 균질성을 보장하기 위해 일정한 소용돌이가 사용되었다. 병을 65° C에서 2시간 동안 예열된 항온처리기의 진탕기에 위치시켰다. 항온처리 후, 가수분해 용액을 25° C에서 14,000 x g에서 30분 동안 원심분리하여 임의의 세포 잔해를 펠릿화하고, 원심분리 전에 가수분해 샘플이 확실하게 실온으로 냉각되도록 하였다. 펠릿이 파괴되지 않도록 하기 위해 원심분리가 중단된 후 상등액을 수거하고 상등액을 pH 6.5 ± 0.3으로 중화시켰다. 중화시키는 경우, 병을 37% HCl을 사용하여 pH를 조정하고 필요한 경우 추가 조정을 위해 1M NaOH를 사용하여 4° C 빙욕조에 위치시켰다. 이어서 샘플은 4° C에서 밤새 항온처리한다.

[0385] **[0316]** *여과:* 항온처리 후, 백색 침전물이 형성된다. 용액은 30분동안 10,000xg에서 원심분리하였다. 숙주 세포 단백질(HCP)을 포함하는 용적이 큰 흰색 펠릿이 형성된다. 투명한 상등액을 수거하였다. 37% HCl을 사용하여 pH를 3.0으로 조정하고, 용액을 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. Clarisolve 필터 μPod -40Ms를 사용하여, 샘플을 여과하였다. 예를 들어: 23mL/min의 펌프 유속에서, 물은 프라이밍될때까지 필터를 통해 세정하고, 밸브는 이어서 개방하고 120mL 용적으로 세정하고, 120 mL의 용적에 대해 15mM NaCl을 사용하여 평형화시켰다. 추출물은 23mL/min의 동일한 펌프 유속에서 필터를 통해 전개하고, 필터로부터 나오는 투명한 투과물을 수거하였다. 필터는 60mL의 15mM NaCl로 세척하고, 튜브 및 필터 내용물을 세정 제거하였다. 필터는 버렸다. 샘플 pH는 6.5 ± 0.3으로 재조정하였다. 이어서 접선 유동 여과(TFF-10k)를 수행하여 염을 제거하고, 농축시키고 (한외여과하고) 이어서 완충액은 10 mM NaCl 중에서 교환(정용여과하고)하였다.

[0386] **[0317]** 뮤타노리신 처리: 1M $MgCl_2$ 최종 농도에 도달하도록 1M $MgCl_2$를 첨가하고, pH 6.8에서 20mM 인산나트륨의 최종 농도에 도달하도록 200mM 인산나트륨(10x)을 첨가함에 의해 뮤타노리신 처리를 위한 용액을 제조하였다. 120 IU/mL을 도달하도록 뮤타노리신 용액(5000 IU/mL). 샘플은 진탕과 함께 밤새 37° C에서 항온처

리하였다.

[0387] **[0318]** *프로테이나제-K 처리*: 이어서 샘플은 프로테이나제-K 용액을 첨가하여 40 IU/mL의 최종 농도 (45u/mg에서 프로테이나제-K)를 달성함에 의해 프로테이나제-K로 처리하였다. 혼합물은 약하게 혼합하면서 밤새 50° C에서 항온처리하였다.

[0388] **[0319]** *침전 및 여과*: 샘플 중에 효소, 핵산 및 HCP를 침전시키기 위해, 30 ° C에서 1시간동안 진탕시키면서 pH 6.8에서 20mM의 인산나트륨 완충액 중의 CTAB를 첨가하였다. 사용되는 용액은 모두 예비 가온하였다: PS 샘플, 5% CTAB 스톡 용액 및 200mM Na 포스페이트 pH 6.8. PS 용액을 가열하면서 혼합(자기 교반 막대)하고 가열된 교반 플레이트에 내부 온도계를 설치하여 용액의 온도를 항상 모니터링하였다. 200mM의 인산나트륨 (pH 6.8) 용액은 PS 용액에 첨가하여 20 mM 인산나트륨의 최종 농도에 도달하게 하였다. 5% CTAB는 1% CTAB 농도에 도달하도록 PS 용액에 첨가하였다. 용액은 1시간동안 혼합되도록 방치하였다. 40MS 필터를 사용하여 침전 용액에 대해 심층 여과를 수행한다. 예를 들어, 시스템은 23 mL/min의 펌프 유속에서 200 mL MilliQ H20로 세정하고, 벤트에서 물이 나오기 시작하면 폐쇄하여 용액이 출구에서 강제로 나오게 한다(프라이밍). 이어서 시스템은 20 mM 인산나트륨 (pH 6.8) 및 15 mM NaCl의 75 mL의 용액으로 세정하였다. 샘플은 23 mL/min으로 여과하고, 20 mL/min에서 60 mL의 20 mM 인산나트륨(pH 6.8) 및 15 mM NaCl 용액으로 세정하였다. 투과물은 기포가 용출될때까지 수거하였다. 필터는 버렸다.

[0389] **[0320]** PS 용액 및 274 mM KI를 30℃로 가온하였다. 27.4 mM KI의 최종 농도를 달성하기 위해 충분한 274 mM KI를 혼합 PS 용액에 첨가하였다. 혼합물은 1시간동안 혼합하면서 30° C에서 항온처리하였다. 용액은 30° C에서 항온처리 후, 30분 동안 10,000xg에서 원심분리하였다. 상등액을 수거하고 펠릿을 버리고 펠릿이 쉽게 부서지므로 주의한다. 상등액은 이어서 0.45μm 필터를 통해 진공 여과하였다.

[0390] **[0321]** 샘플을 먼저 TFF-10k로 농축시키고 이어서 350mM NaCl의 9DV 및 최종적으로 MilliQ 물을 사용한 2Dv로 정용여과하였다. 예를 들어, TFF 시스템 용적은 약 35mL이고, 펌프 유속은 200mL/min으로 설정되고, 정용여과는 완충액 TMP: 7-8 psi의 9 DV (50 mL)로 수행한다.

[0391] **[0322]** 이어서 폴리사카라이드 용액은 3 M 염화나트륨 및 50 mM 인산나트륨 pH 6.8로 예비 평형화된 HiPrep™ 부틸 패스트 플로우 16/10을 사용하는 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 염화나트륨 및 포스페이트 완충액을 폴리사카라이드 용액에 첨가하여 3 M 염화나트륨 및 50mM 인산칼륨 (pH 6.8)에 도달하도록 하였다. 폴리사카라이드 용액을 HIC 수지 상에 통과시키고 통류 모드로 작동시켰다. 수지를 동일한 평형 완충액으로 세척하고 통류물 및 세척액 둘다를 추가 가공을 위해 수거하였다.

[0392] **[0323]** 15 mM NaCl 또는 WFI의 9Dv에 대해 정용여과함에 의한 PS 샘플 중에서 높은 NaCl 내용물을 제거하기 위해 최종 TFF 10kDa/3kDa를 수행하였다. 정제된 PS 용액은 이어서 0.22 um 여과하였다.

[0393] **[0324]** 도 2a, 도 2b 및 도 2c는 GlcNAc가 부재인 PS를 발현하는 GAS 세균 균주로부터 기원하는, 합성 실시예 1에 의해 생성된 정제된 폴리사카라이드의 NMR 분석을 보여준다(PCT/US2012/049604 참조). NMR은 폴리람노스의 존재 및 GlcNAc의 부재를 확인시켜 준다. 샘플 제조를 위해, 정제된 폴리사카라이드 용액은 동결건조시키고 내부 표준물로서 첨가된 TSP와 함께 D_2O로 교환하였다. 양성자 NMR 스펙트럼은 400 MHz 장비 상에서 50 ° C에서 수득하고, 40 스캔에 대해 신호를 평균화한다. 0.2Hz의 라인 확장이 적용되었다. 정제 프로토콜은 또한 도 3의 웨스턴 블롯에 의해 입증된 바와 같이 M-단백질이 없는 정제된 폴리사카라이드를 생성할 수 있었다. 도 도 4a 및 4b는 대안적인 예시적인 폴리사카라이드 정제 방법의 개요를 설명하는 흐름도를 보여준다.

[0394] **합성 실시예 2: 고분자량의 폴리사카라이드의 유도체화를 위한 일반 프로토콜**

[0395] **[0325]** 정제된 폴리사카라이드, 예를 들어 실시예 1의 방법에 의해 생성된 폴리사카라이드는 DBCO-PEG 링커로 기능성화될 수 있다.

[0396] **[0326]** 일반적으로, 물 중의 폴리사카라이드의 용액(모든 시약을 첨가한 후 최종 농도 5.5mM)에 붕산염 완충액 (1M, pH 8.5)을 첨가하여 최종 용적에서 붕산염의 최종 농도가 100 mM이 되도록 하였다. 이어서 물을 첨가하여 임의의 여분의 반응 용적을 채웠다. 2.5 당량(폴리사카라이드 반복 단위에 대하여)의 1-시아노-4-디메틸아미노피리디늄 테트라 플루오로보레이트(CDAP; 아세토니트릴 중 100 mg/mL 용액으로부터)를 격렬하게 교반하면서 첨가하였다. CDAP는 -20 ℃에서 저장하고 용액은 사용 직전에 제조해야만 한다. CDAP를 첨가한 후 5분(상기 타이밍이 중요하다-5분을 초과하면 DBCO-PEG-아민 혼입이 감소됨)에, 0.5몰 당량의 디벤조사이클로옥틴-아민 링커(DMSO 스톡 용액에서, DMSO의 최종 농도는 5% v/v이다)가 첨가되었다. DBCO-PEG4-아민 링커는 -20 ℃에서 저장

하고, 사용 직전에 사용되어야만 한다. 1시간의 추가 반응 후, 글라이신(2M, pH 8.35)을 1:10 용적으로 첨가하여 200mM 글라이신의 최종 농도를 수득하여 임의의 미반응 시아네이트 에스테르를 켄칭하였다. 1시간 켄칭 후, 유도체화된 폴리사카라이드는 이어서 Zeba 회전 컬럼을 통해 정제하였다. 2-3 mL의 용액은 각각 10mL의 Zeba 컬럼에 첨가하였다. 정제된 폴리사카라이드를 결합된/유리된 DBCO HPLC 방법으로 분석하여 잔류 DBCO-PEG4-아민 링커 및 DMAP가 컬럼 정제에 의해 완전히 제거되었는지 결정하였다. 물질은 필요한 경우 추가로 정제할 수 있다. 폴리사카라이드 농도는 안트론 검정(anthron assay)을 사용하여 측정하였고, 디벤조사이클로옥틴 농도는 309 nm에서의 흡광도를 이용하여 측정하였다. 이들 2개의 값을 조합하여 디벤조사이클로옥틴 기능성 그룹으로 유도체화된 폴리사카라이드의 퍼센트를 추정하였다. 퍼센트 DBCO는 CDAP 반응을 위해 5-10%이어야만 한다.

[0397] **[0327]** *GAS 폴리사카라이드의 DBCO-PEG4 유도체화:* 100 mM 붕산염 완충액 pH 8.5 중 GAS 폴리사카라이드의 6 mM 용액에 1-시아노-4-디메틸아미노피리디늄 테트라플루오로보레이트(CDAP; 아세토니트릴 중 100mg/mL 용액)의 3당량(폴리사카라이드 반복 단위에 대해)을 격렬하게 교반하면서 첨가하여 반응성 하이드록실 그룹에서 시아닐화를 촉진시켰다. CDAP의 첨가 5분 후, DMSO 중 2몰 당량의 디벤조시클로옥틴-아민 링커 스톡을 최종 DMSO 농도가 5%(v/v)가 되도록 첨가하였다. DBCO-유도체화 후, 200mM 글라이신을 반응에 첨가하여 미반응 시아네이트 에스테르를 켄칭하였다. DBCO 유도체화된 폴리사카라이드를 zeba 회전 탈염 컬럼을 통해 정제하고 회수된 물질의 순도를 역상으로 평가하였다. 309 nm에서 흡광도를 모니터링할 때 HPLC의 단일 피크는 과잉 DBCO 링커 및 기타 반응 부산물의 완전한 제거를 확인하였다. 최종적으로 폴리사카라이드 농도는 안트론 검정(anthron assay)을 사용하여 측정하였고(하기 참조), 디벤조사이클로옥틴 농도는 309 nm에서의 흡광도를 사용하여 측정하였다. 이들 2개의 값을 조합하여 디벤조사이클로옥틴 기능성 그룹으로 유도체화된 폴리사카라이드의 퍼센트를 추정하였다. 접합의 경우, GAS 폴리사카라이드의 % DBCO 유도체화는 5-10% 사이로 유지시켰다.

[0398] **[0328]** *총 폴리사카라이드 농도에 대한 안트론 검정:* 2 mg/ml의 안트론 시약(Sigma-Aldrich, CAS#90-44-8)의 스톡을 냉각 황산에서 제조한 반면 2x 람노스를 포함하는 1mM의 폴리사카라이드 반복 단위(PSRU) 스톡을 표준물로서 물에서 제조하였다. 3중 웰에서 PSRU 스톡(참조 표준으로 연속 희석) 100 μl 또는 미지 샘플(1:3 희석)을 플레이팅(96웰 플레이트)한 다음 안트론 시약 스톡 200 μl/웰을 첨가하였다. 모든 반응은 완전히 혼합하고, 10분동안 95℃에서 항온처리를 위해 플레이트 커버로 밀봉하였다. UV/VIS 플레이트 판독기를 사용하여 흡광도를 620 nm에서 측정하기 전에 플레이트를 빙상에 잠시 놓아 주위 온도로 냉각시켰다. 미지의 샘플의 농도를 결정하기 위해 PSRU 표준 농도 및 흡광도를 사용하여 최소 제곱 피트 회귀를 생성하였다.

[0399] **합성 실시예 3: pAMF-변형된 접합체 폴리펩타이드의 발현 및 정제**

[0400] **[0329]** 무세포 단백질 합성 추출물로부터 pAMF-변형된 접합체 폴리펩타이드를 발현하고 정제하기 위한 실험을 수행한다.

[0401] **[0330]** nnAA를 함유하는 폴리펩타이드 (예를 들어, pAMF)는 앰버 정지 코돈에서 nnAA의 삽입을 위한 직교 tRNA를 생성하도록 가공된 이. 콜리로부터 유래된 추출물 (XtractCF^{+})을 사용하여 무세포 단백질 합성 (CFPS) 반응에서 발현시킨다. 이들 변형된 접합체 폴리펩타이드의 클로닝, 발현 및 정제를 위해 사용되는 샘플 프로토콜은 예를 들어, 문헌(참조: Kapoor *et al., Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519)에 찾을 수 있다.

[0402] **합성 실시예 4: 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체를 형성하기 위한 고분자량 폴리사카라이드와 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드의 접합을 위한 일반적인 프로토콜**

[0403] **[0331]** 일반적으로, 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드는 DBCO 그룹의 시클로옥틴 모이어티를 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드에 혼합된 nnAA 측쇄의 아지드 모이어티와 반응시킴으로써 실시예 2의 정제된 DBCO-유도체화된 폴리사카라이드에 접합된다. DBCO와 아지드 그룹 간의 접합 반응을 위한 샘플 프토토콜은 예를 들어, 문헌(참조: Zimmerman *et al., Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(2), 351-361 and Kapoor *et al., Biochemistry*, 2018, 57(5), 516-519)에서 찾을 수 있다.

[0404] **[0332]** *pAMF-유도체화된 GAS 폴리사카라이드의 SpyAD로의 접합:* SpyAD[4pAMF] (서열번호 34)는 1:1의 비율 [각각 0.5 mg/ml]로 DBCO-유도체화된 GAS 폴리사카라이드와 혼합하여 클릭 화학을 통한 접합을 촉진시켰다. 접합 후, 반응 혼합물은 50 kDa 컷오프 막에 대해 투석하여 과량의 미반응된 유리된 폴리사카라이드를 제거하였다. 회수된 접합체는 SEC (다각도 광 산란) MALS에 의해 분석하고, 농도는 안트론 검정을 사용하여 평가하였다. 도 5는 DBCO-$(PEG)_4$-NH_2를 사용한 GAS 폴리사카라이드의 유도체화 및 pAMF-유도체화된 SpyAD로의 후속 접합의 개요를 설명하는 도식이다. 도 6은 접합 반응 3.5시간 후 및 투석 후 SpyAD[4pAMF] 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 SEC MALS 분석을 보여준다. 3.5 시간 후, 1 MDa 초과의 접합체가 관찰되었다. 투석 후, 단리된 접합체

크기 분포는 대략 186 kDa에서 피크를 보여주었다. 도 7은 본 실시예와 동일한 SpyAD 폴리펩타이드를 사용한 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 SEC-MALS 분석을 보여주지만, 여기서 불화수소산 기반 PS 정제가 활용되었다(문헌참조: 예를 들어, van Sorge, N.M. et al. 2014, *Cell Host Microbe.* 15(6): 729-740 for a sample protocol). 이전 방법으로 정제된 PS를 사용하면 현재 기재된 정제된 폴리사카라이드의 경우 ~186kDa에 비해 피크 분자량은 153kDa였다.

[0405] **[0333]** SEC MALS-UV-RI는 DAWN-HELEOS 다각도 레이저 광산란 검출기 및 Optilab T-rEX 차등 굴절 간섭계(Wyatt Technology, Santa Barbara, CA)가 직렬로 연결된 3개의 TOSOH 컬럼과 함께 Agilent HPLC 1100 탈기기, 온도 제어식 자동 샘플러(4℃), 컬럼 구획(25℃) 및 UV-VIS 다이오드 어레이 검출기(Agilent, Santa Clara, CA)로 수행되었다: TSKgel 가드 PWXL 6.0 mm ID x 4.0 cm 길이, 12 μm 입자; TOSOH TSKgel 6000 PWXL 7.8 mm ID x 30 cm 길이, 13 μm 입자; 및 TSKgel 3000 PWXL 7.8 mm ID x 30 cm 길이, 7μm 입자. 5% (v/v) 아세토니트릴과 함께 0.2 μm 여과된 1x PBS로 이루어진 이동상은 0.5 mL/min 유속으로 사용하였고, 50-100 μg의 샘플은 분석을 위해 주사하였다. Agilent 오픈 랩 소프트웨어를 사용하여 HPLC를 제어하고 Wyatt Astra 7 소프트웨어를 데이터 수집 및 분자량 분석에 사용하였다.

[0406] **합성 실시예 5: 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 nnAA를 갖는 절단된 SLO(ΔC101) 폴리펩타이드가 발현되고 정제되고 접합된다**

[0407] **[0334]** nnAA를 함유하는 절단된 SLO(ΔC101) 변이체는 예를 들어, 상기 방법에 따라 발현시켰다(문헌참조: 예를 들어, 합성 실시예 3). 변이체는 서열번호 55, 서열번호 56, 서열번호 57, 서열번호 58, 서열번호 59, 서열번호 60, 서열번호 61, 서열번호 62, 서열번호 63, 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 67, 서열번호 68, 서열번호 69, 서열번호 70, 서열번호 71, 서열번호 72, 서열번호 73, 서열번호 74, 서열번호 75, 및 서열번호 76에 상응하는 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개 pAMF 잔기들을 포함한다. 도 8a는 22개의 SLO(ΔC101) 변이체(var1-var22) 및 이들의 pAMF 혼입 부위의 도식을 보여준다. 도 8b는 전체 및 가용성 단백질 농도 둘다에서 이들 22 pAMF 변이체(3pAMF-8pAMF)의 발현 수준을 보여준다. 도 8c는 발현을 위해 상응하는 겔을 보여준다(서열번호 65-76은 var11-var22에 상응한다). 8d는 DBCO-TAMRA 표지화(var1, 5, 6, 10, 11, 12, 14 및 15)에 의해 확인된 바와 같이 정제된 변이체의 서브세트에서 성공적인 pAMF 혼입을 나타내는 겔을 보여준다. 간단히 말해서, 정제를 위해, 0.75ml/min으로 미리 평형화된 hisTRAP excel 1ml 컬럼상에 부하하기 전에 CFPS를 수거하고, 회전 하강시키고, 여과하고 6ml의 최종 용적에서 250mM 이미다졸의 단일 단계로 용출시켰다. 5 ul의 각각의 단계 분획물은 SDS-PAGE 안전한 블루 염색(safe blue staining)을 사용하여 분석하였다. 그 후, 용출물을 3배 희석하고, 최종 정제를 위해 CaptoQ 컬럼에 부하하고 안전한 블루 염색 및 DBCO TAMRA 표지화를 사용하여 분석하였다. FT 분획물은 농축시키고 200 μl 분취액으로 -80° C에서 저장하였다. 정제된 변이체의 서브세트에 대한 분자 질량 추정치를 제공하는 SEC-MALS 분석을 보여준다. 상기 분석은 5-pAMF(var11) 및 6-pAMF(var14) 변이체가 용액에서 고차(higher-order) 올리고머 상태를 나타냄을 보여준다.

[0408] **[0335]** *5, 6, 7, 또는 8개 nnAA를 갖는 SLO (ΔC101) 폴리펩타이드의 접합:* 5, 6, 7, 또는 8개 nnAA를 함유하는 폴리펩타이드는 합성 실시예 4에서의 방법을 포함하는, 상기된 방법을 사용하여 GAS 폴리사카라이드에 접합시킨다. 상기 방식에서, 서열번호 65, 서열번호 66, 서열번호 68 및 서열번호 69의 pAMF-함유 SLO (ΔC101) 변이체는 긴 DBCO-유도체화된 GAC에 접합시켰다(합성 실시예 1). 접합 반응은 도 29a에 나타낸 바와 같이 SDS page에 의해 분석하였다. 각각의 변이체에 대한 제1 레인은 접합 전 단백질을 보여준다. 최종 접합체 크기는 SEC-MALS에 의해 결정하였고, 이의 결과는 도 10에 나타낸다.

[0409] **[0336]** 3- 및 5-pAMF SLO 변이체를 운반체 단백질로 사용하여 생성된 접합체의 생물리학적 특징 분석 및 면역원성 평가. 정제된 SLO(ΔC101) 변이체를 사용하여 접합체를 생성하기 위해 SLO(ΔC101) 변이체를 포함하는 3개의 pAMF(var1 및 var5) 및 4개의 pAMF(var6 및 var10)를 막 고정된 GAS 탄수화물(GAC^{PR}), 즉 GAC^{PR}-DBCO를 한정하는 종의 DBCO 유도체화 폴리람노스가 풍부한 코어와 구리가 없는 클릭 화학 반응에 사용되었다. 각 단백질을 DBCO-GAC^{PR}과 실온에서 4시간 동안 계속 교반하면서 혼합하였다. 이 후, 반응물을 수거하고 접합체를 완충액에 대해 투석하여 과량의 유리된 PS를 제거하였다. 다음으로, 정제된 접합체에 대해 SEC-MALS 분석을 수행하였고, 이는 3개의 pAMF를 함유하는 SLO(ΔC101) 변이체를 사용하여 생성된 접합체에 대해 97 또는 116kDa(도 9B) 및 4개의 pAMF를 함유하는 SLO(ΔC101)를 사용하여 생성된 접합체에 대해 68 또는 74kDa의 평균 몰 질량을 추정하였다(도 9c). 최종적으로, 정제된 접합체의 SDS-PAGE 분석에 이어 SafeBlue™ 염색을 통해 결과가 확증되었고 각 클릭 화학 반응 후 접합체의 생성을 위한 운반체 단백질의 완전한 소비를 확인하였다(도 9b-9c).

[0410] **합성 실시예 6: 폴리사카라이드 반복체 유닛에 링커 혼입의 최적화**

[0411] [0337] 상기 기재된 바와 같이, 정제된 폴리사카라이드(예를 들어, GAS 폴리사카라이드), 예를 들어 실시예 1의 방법에 의해 생성된 것들은 링커(예를 들어, DBCO-PEG)에 의해 유도체화될 수 있다. DBCO-PEG4-아민에 의해 유도체화된 GAS 폴리사카라이드의 폴리사카라이드 반복체 유닛(PSRU)의 몰%는 여러 관련된 방식으로 정의될 수 있다(예를 들어, PSRU 몰당 링커의 몰로 측정된 DBCO-PEG4-아민의 혼입 %; 링커에 의해 유도체화된 PSRU의 몰%).

[0412] [0338] 면역우성 N-아세틸 글루코사민 측쇄가 결여된 그룹 A 탄수화물(GAC) 폴리사카라이드, 붕산나트륨(pH 8.8) 및 디메틸 설폭사이드를 함유하는 수용액에 아세토니트릴 중의 1-시아노-4-디메틸아미노피리디늄 테트라플루오로보레이트(GDAP, GAC 폴리사카라이드 반복체 유닛에 상대적으로 0.5-4 몰 당량)를 첨가하였다. 5분 후, 디메틸 설폭사이드 중의 DBCO-PEG4-아민(0.5-2 몰 당량) 용액을 첨가하였다. 반응 성분의 최종 농도는 다음과 같다: GAC, 4 mg/mL; 붕산나트륨, 0.1 M; 디메틸 설폭사이드, 10% v/v. 1시간 후, 글리신을 최종 농도 0.2M까지 첨가하였다. 2시간 후, 반응 혼합물을 겔 여과 크로마토그래피 또는 정용여과 완충제로서 식염수 및 물을 사용하는 접선 유동 여과에 의해 정제하였다. 활성화된 GAC(APS, 활성화된 폴리사카라이드라고도 지칭됨)를 폴리 농도에 대해 분석하고 %DBCO-PEG4-아민을 혼입하였다.

[0413] [0339] 반응 조건을 변경함에 의해, 상기 프로토콜을 사용하여 DBCO-PEG4-아민의 6-15%(PSRU 대비 몰%)가 혼입된 GAS 폴리사카라이드를 제조하였다. 표 2는 주지된 % 혼입을 유도하는 예를 보여준다.

[0414] **표 2: 샘플 PS 활성화 조건 및 기능성화 결과**

APS 로트	CDAP 몰 당량	DBCO 몰 당량	% 혼입된 DBCO-PEG4-아민 (몰 DBCO / 몰 PSRU)
A	1	1	6
B	2	1	11
C	3	1	15
D	1	1	6
E	2	1	12
F	1.4	1	7

[0415]

[0416] **합성 실시예 7: 긴 폴리사카라이드와 SpyAD의 접합 조건의 최적화**

[0417] [0340] 본원에 기재된 긴 폴리사카라이드의 접합 효율은 링커의 몰% 혼입(예를 들어, 합성 실시예 6 참조)뿐만 아니라 폴리펩타이드의 반응 농도 및 폴리펩타이드에 대한 활성화된 폴리사카라이드의 양에 의존한다.

[0418] [0341] *샘플 접합 프로토콜:* 활성화된 폴리사카라이드(합성 실시예 6 참조) 및 포스페이트 완충 식염수를 함유한 수용액에 SpyAD-4pAMF(서열번호 34)를 첨가하였다. 반응 성분의 최종 농도는 다음과 같았다: DBCO 링커를 갖는 활성화된 PS, 0.075-1.35 mg/mL; SpyAD-4pAMF, 0.5-3.7mg/mL. 16 내지 20시간 후, 아지드화나트륨 (폴리사카라이드 반복체 유닛에 상대적인 4 당량)을 첨가하였다. 2시간 후, 반응 혼합물을 투석 또는 정용여과 완충제로서 포스페이트 완충 식염수를 사용하는 접선 유동 여과에 의해 정제하였다. 접합체를 0.22 마이크론 등급 필터(Pall KM2EKVS)를 통해 여과한 후 폴리사카라이드 농도, 단백질 농도, 유리된 사카라이드 및 분자량을 분석하였다. 생성된 접합체의 예는 표 3에 나타낸다.

[0419] 표 3: 샘플 PS 활성화 조건 및 기능성화 결과

접합체 로트 번호	활성화된 PS에서 혼입된 DBCO-PEG4-아민%	SpyAD 농도 (mg/mL)	인풋 비율 APS:SpyAD 질량 비율	접합체 Mw (kDa)	유리된 사카라이드 (FS) %	정제된 접합체에서 아웃풋 비율 (PS:SpyAD)	% FS를 위해 조정된 아웃풋 비율
CNJ-A	6%	0.5	1	144	30%	0.28	0.19
CNJ-B	6%	0.5	0.5	166	25%	0.22	0.17
CNJ-C	6%	0.5	0.15	157	7%	0.12	0.11
CNJ-D	6%	1	0.3	182	13%	0.17	0.15
CNJ-E	11%	0.5	1	145	35%	0.31	0.20
CNJ-F	11%	0.5	0.5	156	14%	0.18	0.16
CNJ-G	11%	0.5	0.3	175	5%	0.17	0.16
CNJ-H	11%	0.5	0.15	176	8%	0.14	0.13
CNJ-I	11%	1	0.3	205	11%	0.16	0.14
CNJ-J	15%	0.5	1	179	24%	0.26	0.20
CNJ-K	15%	0.5	0.5	177	16%	0.18	0.15
CNJ-L	15%	0.5	0.3	263	0%	0.22	0.22
CNJ-M	15%	0.5	0.15	214	21%	0.12	0.09
CNJ-N	15%	1	0.3	213	13%	0.22	0.19
CNJ-O	11%	2.76	0.3	247	49%	0.21	0.11
CNJ-P	11%	2.76	0.15	374	14%	0.14	0.12
CNJ-Q	11%	2.76	0.15	381	14%	0.12	0.10
CNJ-R	11%	2.76	0.075	319	14%	0.09	0.08
CNJ-S	15%	2.76	0.3	273	36%	0.18	0.11
CNJ-T	15%	2.76	0.15	412	6%	0.13	0.12

[0420]

접합체 로트 번호	활성화된 PS에서 혼입된 DBCO-PEG4-아민%	SpyAD 농도 (mg/mL)	인풋 비율 APS:SpyAD 질량 비율	접합체 Mw (kDa)	유리된 사카라이드 (FS) %	정제된 접합체에서 아웃풋 비율 (PS:SpyAD)	% FS를 위해 조정된 아웃풋 비율
CNJ-U	15%	2.76	0.15	372	8%	0.14	0.13
CNJ-V	15%	2.76	0.075	445	14%	0.09	0.08
CNJ-W	11%	2.76	0.15	342	14%	0.11	0.10
CNJ-X	6%	3.7	0.15	246	24%	0.10	0.08
CNJ-Y	11%	3.7	0.15	429	14%	0.10	0.09
CNJ-Z	15%	3.7	0.15	476	15%	0.12	0.10
CNJ-AA	15%	3.7	0.1	556	13%	0.10	0.09
CNJ-AB	6%	1.8	0.75	201	52%	0.42	0.20
CNJ-AC	11%	1.8	0.75	221	52%	0.34	0.17
CNJ-AD	15%	1.8	0.75	244	60%	0.39	0.16
CNJ-AE	6%	0.5	0.5	172	51%	0.26	0.13
CNJ-AF	6%	0.5	0.5	171	15%	0.19	0.16
CNJ-AG	15%	3.7	0.14	469	8%	0.13	0.12
CNJ-AH	7%	0.5	0.5	184	35%	0.23	0.15
CNJ-AI	12%	2.5	0.15	318	10%	0.10	0.09

[0421]

[0422] **[0342]** 하기 생물학적 실시예에서 추가로 논의되는 바와 같이, 본원 개시내용의 긴 폴리사카라이드로 제조된 접합체 중 더 높은 분자량의 SpyAD-GAC 접합체(예를 들어, 합성 실시예 7의 방법에 의해 제조된 것)는 저분자량의 접합체 보다 SpyAD 및 GAC에 대해 더 강한 역가를 유도하였다. 고분자량의 접합체의 생산에는 몇 가지 인자가 중요하다. 첫째, 활성화된 폴리사카라이드(예를 들어, 합성 실시예 4)에 DBCO-PEG4-아민이 혼입된 퍼센트는 접합체 크기에 영향을 미친다. 6-15% 범위에서 DBCO 혼입 정도(몰%)가 높을수록 일반적으로 더 큰 접합체가 생성된다. 둘째, GAC:SpyAD의 더 높은 질량비는 일반적으로 더 작은 접합체를 생성하는 반면, 더 낮은 비율은 접합되지 않은 SpyAD 폴리펩타이드를 생성한다. 0.10-0.15의 질량비는 일반적으로 접합되지 않은 SpyAD 및 활성화된 폴리사카라이드의 양을 제한하고 더 큰 접합체를 생성한다. 최종적으로, 소정의 GAC:SpyAD 비율로, 반응물 둘다의 농도가 보다 높으면 일반적으로 보다 큰 접합체를 생성한다.

[0423] **[0343]** 활성화된 폴리사카라이드에 혼입된 DBCO-PEG4-아민 퍼센트는 몰비(총 DBCO-PEG4-아민)*(결합된 DBCO-PEG4-아민 %)/(PSRU 농도)로 보고되었다. 수득된 값들은 다음과 같다: 전체 DBCO-PEG4-아민에 대해 APS 샘플의 흡광도는 307 nm에서 측정되었다. 샘플 내 총 DBCO-PEG4-아민 농도는 DBCO-PEG4-아민에 대해 결정된 흡광 계수를 사용하여 결정되었다. 결합된 DBCO-PEG4-아민 퍼센트는 HPLC 분석에 의해 측정하였다. 샘플을 Sepax Zenix-C SEC-300 컬럼에 주입하고 50 mM 염화칼륨, 15% v/v 아세토니트릴 및 0.1% v/v 트리플루오로아세트산을 함유하는 이동상으로 용출하였다. 결합된 DBCO-PEG4 아민 퍼센트는 310 nm에서 (APS)/(APS + 유리된 DBCO-PEG4-아민)의 피크 면적 비율로서 결정하였다.

[0424] **[0344]** 폴리사카라이드 농도는 이전에 기재한 바와 같이 안트론(Anthrone) 검정을 사용하여 측정하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라 피어스 변형된 로우리(Pierce Modified Lowry) 검정 키트를 사용하여 단백질 농도에 대해 샘플을 검정하였다. 유리된 폴리사카라이드를 측정하기 위해 나트륨 데옥시콜레이트 용액(물 중 1% w/v)을 제조하고 HCl을 사용하여 pH를 6.8로 조정하였다. 접합체 용액에 0.1 용적의 데옥시콜레이트 스톡 용액 및 0.05 용적의 HCl(1 M)을 첨가하였다. 샘플을 회전시키고 상등액을 회수하였으며, 이러한 과정을 1회 더 반복하였다. 상등액의 폴리사카라이드 함량을 안트론 검정(이전에 기재된 바와 같음)으로 측정하고, 접합체의 유리된 폴리사카라이드 함량을 데옥시콜레이트 상등액의 폴리사카라이드 농도 대 접합체의 폴리사카라이드 농도의 비로서 결정하였다. 접합체 분자량은 이전에 기재한 바와 같이 SEC-MALS에 의해 결정하였다.

[0425] **[0345]** 예를 들어, SpyAD 접합체 CNJ-AE, CNJ-AF 및 CNJ-AG는 상기 기재한 바와 같은 파라미터를 변화시킴에 의해 생성되었다. 특히, 접합체 CNJ-AG는 대략 469kDa의 평균 분자량(SEC-MALS에 의해 결정됨)을 갖는 반면, CNJ-AE 및 CNJ-AF 둘 다의 평균 분자량은 대략 170kDa이다(도 13 참조). 이는 활성화된 폴리사카라이드에서 더 높은 정도의 DBCO 혼입(15% 대 6%), 반응 혼합물 중 SpyAD 폴리펩타이드의 보다 높은 농도, 및 활성화된 폴리사카라이드 대 폴리펩타이드의 보다 낮은 인풋 질량 비율에 기인할 수 있다. 추가로, CNJ-AG는 보다 적은 양의 유리된 폴리사카라이드로 생산되었고, 이는 정제 절차를 단순화하고 본원에 기재된 면역원성 조성물에 사용하기 위한 보다 일관된 활성 약제학적 성분을 만든다. 이는 또한 생산이 보다 효율적이고 저렴하며 시약을 절약한다는 것을 의미한다.

[0426] **합성 실시예 8: SpyAD 단편의 발현**

[0427] **[0346]** 서열번호 34(서열번호 77, 서열번호 78, 서열번호 79 및 서열번호 81)의 SpyAD 폴리펩타이드 단편을 합성 실시예 3의 방법에 따라 발현시켰다. 2x6-his태그 리더 서열(예를 들어, 서열번호 80의 것과 같은)을 갖는 폴리펩타이드를 암호화하는 작제물은 정제 및 리더 태그의 절단 후의 서열에 상응하는 서열번호 77, 78, 79 및 81을 갖는 각각의 단편을 발현시키기 위해 사용하였다.

[0428] **[0347]** SpyAD의 단편은 고유 또는 전장 SpyAD 서열과 비교하여 발현, 정제 및/또는 면역원성을 개선하는 데 유용할 수 있다. 목적하는 폴리펩타이드 단편의 생성을 모니터링하기 위해, ^{14}C-류신 (GE Life Sciences, Piscataway, Nj)을 CFPS 반응물에 첨가하여 서열번호 77, 78, 79, 및 81을 합성하였고, 해독 폴리펩타이드에 혼입하였다. 23℃에서 10시간 동안 진탕시킨 후, 4,500rpm에서 10분간 회전시켜 상등액을 회수하였다. 총 단백질과 가용성 단백질의 발현 역가를 ^{14}C 수로 추정하였다. 총 4 μl의 상등액을 비환원 4-12% SDS-PAGE 겔에 부하하였다. 단백질 겔을 80°C에서 2시간 동안 탈수시킨 후, 고유 SpyAD(서열번호 33), SpyAD(4pAMF)(서열번호 34) 및 단편(서열번호 77, 78, 79 및 81)은 Storm 820 PhosphoImager를 사용하여 자동방사선 촬영으로 분석하였다.

[0429] **[0348]** 도 14는 고유 SpyAD, SpyAD(4pAMF) 및 4개의 단편의 발현에 대한 자동방사선 촬영 결과와 각 시료의 총 단백질과 수용성 단백질의 발현 역가를 보여준다. 특히, 고유 SpyAD 및 SpyAD(4pAMF) 발현 혼합물은 50 내지 75 kDa 사이의 6개 밴드의 오염 단편을 갖는 반면, 서열번호 77-79 및 81의 SpyAD 단편은 동일한 영역 내에서 더 적은 밴드를 보여준다. CFPS 반응에서 단백질 발현 수준이 개선되어 회수율이 보다 높아진다. 이는 폴리펩타이드의 정제 절차를 단순화하고 유도체화된 폴리사카라이드에 대한 접합을 통해 더 청결한 물질을 생성한다.

[0430] **생물학적 실시예 1: 폴리사카라이드 또는 폴리사카라이드 접합체를 사용한 마우스의 능동 면역화**

[0431] **[0349]** 마우스는 피하 및 IP 주사에 의해 챌린지하기 전에 능동으로 면역화시켰다.

[0432] **표 4: 샘플 면역화 실험 일정 - 피하 및 IP 챌린지**

피하 챌린지 - 단계들	IP 챌린지 - 단계들
1일째: 제1 면역화	1일: 제1 면역화
14일: 제2 면역화	14일: 제2 면역화
28일: 제3 면역화	28일: 제3 면역화
42일: 감염 챌린지	41일: 마우스 면도
49일: 최종 실험	42일: 감염 챌린지
	45일: 마우스 안락사 및 병변 수거

[0433]

[0434] **[0350]** *제1, 제2, 및 제3 면역화 - 피하 및 IP 챌린지:* 항원/보조제 혼합물은 50 μL 알룸 (알하이드로겔)을 10 μg의 항원(들) 또는 5 μg의 접합체와 배합하고 왕성하게 혼합하여 항원이 알룸 상에 흡착되도록 방치함에 의해 제조하였다. 각 항원/보조제 혼합물을 26 ½ 게이지 바늘이 장착된 1mL 주사기에 넣었다. 각각의 마우스는 이소플루란을 흡입시켜 마취시키고, 100 μL의 제조된 백신을 뒷다리 근육에 주사하였다.

[0435] **[0351]** *챌린지를 위한 마우스의 제조 - 피하 챌린지*: 마우스는 이소플루란으로 마취시켰다. 마우스의 등은 피부에 흠집이 나지 않도록 주의하면서 전기 면도기로 면도한다. 제모 크림을 면도한 등에 바르고 젖은 종이 타월로 완전하게 닦아내기 전에 몇 분 동안 그대로 방치하였다. 마우스를 가볍게 두드려 건조시키고 이소플루란 처리로

부터 회복되도록 하였다.

[0436] **[0352]** *챌린지를 위한 물질의 제조 - 피하 및 IP 챌린지*: GAS 배양물은 중간 대수 단계까지 성장시킨다. 세포 농도를 멸균 포스페이트 완충 식염수로 조정하고, 세균 용량을 확인하기 위해 세균을 연속으로 희석하고 한천상에 도말하였다. 피하 챌린지의 경우 마우스당 10㎕당 표적화된 CFU는 $1x10^6$이었고 세균은 26½ 게이지 바늘이 장착된 500㎕ Hamilton 주사기에 넣었다. 35일째의 IP 챌린지의 경우 마우스당 100㎕당 표적화된 CFU는 $1x10^7$이고 세균을 26½ 게이지 바늘이 장착된 1mL 주사기에 넣었다. 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취시키고 이어서 복강에 M1 89155 세균 200㎕를 주사하였다. 마우스는 정상 공기에서 마취로부터 회복되게 하였다. 마우스의 생존률은 하루에 여러 번 확인하면서 1주 과정 동안 추적하였다.

[0437] **[0353]** *피하 챌린지 및 병변 수거*: 35일째의 피하 챌린지를 위해 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취시키고 이어서 Hamilton 주사기용 반복 분배기를 사용하여 10 ㎕의 GAS 세균을 면도한 등에 주사하였다. 병변 크기는 눈금자를 따라 이소플루란 마취된 마우스를 촬영하여 3일 동안 매일 추적하였다. 3일째에 병변을 수집하기 전에 각 피부 병변에 대해 1.0mm 실리카 비드 및 1mL PBS가 있는 멸균 2mL 나사 캡 튜브를 준비하였다. 각각의 튜브의 중량을 기록하였다. 3일째에, 병변이 완전하게 발병된 경우 마우스는 CO_2 및 경추 탈구로 안락사시켰다. 청결한 수술 기구를 사용하여, 각각의 피부 병변을 절단해내고 칭량 전 튜브에 위치시켰다. 튜브 중량은 조직 질량 계산을 위해 기록한다. 튜브는 MagnaLyser 비드 비터(bead beater)에 위치시키고, 튜브는 60s 동안 6000 rpm에서 비팅하였다. 튜브는 이어서 빙상에 위치시켜 비팅 사이클을 반복하기 전 60s 동안 냉각시켰다. 샘플을 연속적으로 희석하고 용해물을 한천 상에 위치시켜 세균 부하를 정량하였다.

[0438] **[0354]** 백신 접종 후 항원 특이적 항체 역가를 시험하기 위해 한 세트의 동물에서 실험 전체에 걸쳐 채혈하는 2개의 병행 실험을 수행하였다. 다른 아암에서 마우스는 실험 과정 동안에 채혈하지 않았다. 동물의 세트 둘다는 결국에 유사하게 챌린지하여 병변 크기 및 CFU/mg 분석을 수행하였다.

[0439] **생물학적 실시예 2: 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드 및 이들의 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 면역원성을 뮤린 모델에서 평가하였다.**

[0440] **[0355]** 합성 실시예 2 및 3의 폴리펩타이드 항원 또는 비-GAS 운반체 폴리펩타이드 및 이들의 폴리사카라이드 접합체를 생물학적 실시예 1에서 상기된 방법에 의해 뮤린 모델에서 평가하였다. 마우스를 0, 7 및 14일째에 면역화시키고, 희생 후 21일에 최종 채혈을 수행하였다.

[0441] **[0356]** 5 ㎍의 각각의 폴리사카라이드 접합체를 사용하여 마우스를 면역화시켰다. 폴리펩타이드 및 폴리사카라이드에 대한 항체 역가는 최종 채혈 후에 측정하였다. 실시예 1의 방법에 따라 생산된 긴 폴리사카라이드는 이들 면역원성 실험의 ELISA 분석에서 코팅 항원으로 사용될 수 있다. 도 11a는 pAMF-치환된 SLO(ΔC101)-var1, SLO(ΔC101)-var5, SLO(ΔC101)-var6, 및 SLO(ΔC101)-var10(서열번호 55, 59, 60, 및 64에 상응하는)의 각각의 폴리사카라이드 접합체 5 ㎍을 사용하여 마우스를 면역화시킨 후의 ELISA를 보여준다. 이들 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 짧은 폴리사카라이드를 사용했지만, 도 11a의 첫 번째 플롯은 최종 채혈 후 측정된 항체 역가를 보여주고, 여기서 ELISA는 코팅 항원으로서 긴 폴리사카라이드(실시예 1의 방법에 의해 생산됨)를 사용하였다. 도 11a의 두 번째 플롯은 폴리펩타이드 코팅 항원을 활용한 ELISA에서의 항체 역가를 보여준다.

[0442] **[0357]** 상기 실험은 마우스의 상이한 코호트를 사용하여 반복하였고, 도 11b에 도시된 바와 같이 단백질 단독 또는 접합체 그룹의 항혈청을 분석했을 때 SLO에 대한 항체 역가($>10^6$)가 기록되었다. 이는 부위 선택적 접합을 위한 pAMF 혼입 잔기의 신중한 선택이 운반체 단백질로서 SLO상의 중요한 면역원성 에피토프를 방해하지 않는다는 것을 확인시켜 준다. 최종적으로, GAC^{PR}에 대한 강력한 항체 반응($>10^6$)도 기록되었다(도 11b). 전반적으로, 이는 CFPS가 면역원성 접합체를 생성하는 데 성공적으로 활용될 수 있는 nnAA 함유 병원체 특이적 단백질 항원을 발현하고 정제하기 위한 효과적인 플랫폼을 제공한다는 것을 보여준다.

[0443] **생물학적 실시예 3: 폴리사카라이드 및 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체의 안정성**

[0444] **[0358]** 실시예 1의 폴리사카라이드 및 이들의 접합체의 안정성을 측정하기 위해 실험을 수행하였다. 폴리사카라이드 또는 폴리펩타이드-폴리사카라이드 접합체는 적어도 6개월 동안 -20 ° C, 5 ° C, 및 25 ° C에서 유지하였다. 6개월, 12개월, 24개월에 샘플을 채취하고 각각의 pH와 분자량을 분석하여 안정성을 결정한다.

[0445] **생물학적 실시예 4: M1 GAS 챌린지에서 SLO 변이체 접합체와 SLO 변이체 및 eCRM197-폴리사카라이드 접합체의 공동 투여 비교**

[0446] **[0359]** 마우스(그룹당 N=10)를 모의, SLO(ΔC101)var1-GAC^{PR} 접합체 또는 조합 백신[SLO(ΔC101)var1 + eCRM-GAC^{PR}]으로 면역화하였다. 야생형 암컷 CD-1 마우스(Charles River)를 5주령부터 시작하여 총 3회 용량으로 14일마다 면역화시켰다. 전달된 근육내 면역화는 제조업체의 지침에 따라 제조된 Alhydrogel 2% 수산화알루미늄 보조제(Invivogen) 50μl를 포함하여 용량당 마우스당 총 용적 100μl로 이루어졌다. 최종 면역화 14일 후, 마우스를 1x10^{7} CFU M1 89155 GAS로 i.p. 주사하여 감염시키고 생존에 대해 추적하였다. 캐플란-메이어(Kaplan-Meier) 생존 곡선의 통계는 로그 순위 Mantel-Cox 시험을 사용하여 계산하였다. 도 12에 나타낸 바와 같이, 조합 백신 그룹과 달리 SLO(ΔC101)var1-GAC^{PR} 단독 접종이 모의 그룹에 비해 유의하게 높은 보호를 제공하였다(p=0.012). 이는 관련되지 않은 운반체 단백질을 사용하여 접합체를 생성하는 기존 방법과 달리, 생성된 GAS 특이적 단백질 항원에 대한 GAC^{PR}의 부위 특이적 접합이 생체 내에서 보다 양호한 보호를 제공한다는 것을 보여준다.

[0447] **생물학적 실시예 5: NZW 토끼에서 면역원성 조성물을 사용한 SpyAD-PS 접합체의 면역원성 평가**

[0448] **[0360]** 동량의 폴리펩타이드 항원 C5a(서열번호 30) 및 SLO(서열번호 50)와 조합하여 다양한 양의 SpyAD-PS 접합체를 함유하는 시험 제품(표 5에 나타냄)을 제조하였다. 접합체 CNJ-AE, CNJ-AF, 및 CNJ-AG (합성 실시예 6 및 7 참조)를 시험하였다.

[0449] **표 4: 샘플 면역화 실험 일정 - 피하 및 IP 챌린지**

시험 제품	아암	항원의 수
0.062 μg의 접합체 (CNJ-AE) 및 각각의 단백질 항원	1	3
0.25 μg의 접합체 (CNJ-AE) 및 각각의 단백질 항원	2	3
1.0 μg의 접합체 (CNJ-AE) 및 각각의 단백질 항원	3	3
4.0 μg의 접합체 (CNJ-AE) 및 각각의 단백질 항원	4	3
0.062 μg의 접합체 (CNJ-AG) 및 각각의 단백질 항원	5	3
0.25 μg의 접합체 (CNJ-AG) 및 각각의 단백질 항원	6	3
1.0 μg의 접합체 (CNJ-AG) 및 각각의 단백질 항원	7	3
4.0 μg의 접합체 (CNJ-AG) 및 각각의 단백질 항원	8	3
0.25 μg의 접합체 (CNJ-AF) 및 각각의 단백질 항원	9	3

[0450]

[0451] **[0361]** 모든 시험 제품은 5mM 나트륨 숙시네이트(pH 5.8), 150mM 염화나트륨 및 0.02% 폴리소르베이트 80을 함

유하는 완충액에서 제형화하였다. 각 용량에는 31.2㎍의 인산알루미늄이 존재한다. 접합체를 암컷 뉴질랜드 백색 토끼에게 0.25 mL/용량 양측 (0.125 mL/다리)으로 근육내 투여하였다. 용량은 0, 21, 42일에 투여되었고 혈액은 -1, 14, 35, 56일에 채취하였다. 10마리의 토끼는 아암 당 투여하였다. 각 항원에 대한 역가는 SLO, C5A, SpyAD, SpyAD-GAC 및 eCRM-GAC를 코팅 항원으로 사용하여 ELISA에 의해 측정하였다.

[0452] **[0362]** 각 ELISA 실험에서 관심 대상의 항원을 함유한 코팅 용액을 멸균 여과된 PBS(총 100㎕), pH 7.4 ± 0.2로 희석하고 각 웰에 0.5㎍/mL로 첨가하였다. 플레이트는 밀봉된 컨테이너에서 16 내지 24시간 동안 2° C 내지 8° C로 유지하였다. 이어서 플레이트를 플레이트 세척 완충액(350 ㎕/웰)으로 3회 세척한 후 200 ㎕의 PBS + 3% 소 혈청 알부민(BSA)을 첨가하여 플레이트를 차단하고 실온에서 60~65분 동안 항온처리하였다. 플레이트 세척 완충액으로 플레이트를 3회 세척한 후, 시험 제품 처리 동물로부터의 혈청 샘플(50 ㎕)을 1:10 농도에서 시작하여 5배 연속 희석하여 지정된 웰에 첨가하였다. 대조군(샘플 희석제, 1X PBS + 3% BSA, 상업용 정상 혈청[Jackson ImmunoResearch] 음성 대조군; 및 3배 또는 5배 희석으로 연속 희석한 양성 대조군)도 지정된 웰에 첨가하였다. 시험 제품 혈청 샘플은 이중으로 부하하였고, 대조군은 단일, 바람직하게는 하나의 플레이트에 부하하였고 35° C 내지 39° C에서 60 내지 65분 동안 항온처리하였다. 플레이트를 플레이트 세척 완충액으로 6회 세척하고, 당나귀 항-토끼 IgG(H+L) 퍼옥시다제 접합체를 첨가하고, 플레이트를 실온에서 60내지 65분 동안 항온처리한 후 다시 6회 세척하였다. ABTS 기질을 첨가하고, 플레이트를 실온에서 30분동안 항온처리하였다. 플레이트는 415 및 570 nm에서 판독하였다.

[0453] **[0363]** 도 15, 16, 17, 18 및 19(각각 C5a, SLO, SpyAD, SpyAD-GAC 및 eCRM-GAC 코팅 항원)에 나타낸 각 ELISA의 결과는 고분자량의 SpyAD-GAC 접합체(CNJ-AG)가 저분자량 접합체(CNJ-AE 및 CNJ-AF)보다 SpyAD 및 GAC 2개 모두에 대해 더 강한 역가를 유도함을 보여준다. 일부 경우에, 고분자량 접합체는 35일차에 등가 용량(예를 들어, 0.062 및 0.25㎍, 아암 6 대 2)에서 저분자량 접합체(CNJ-AE)보다 3~30배 더 높은 역가를 유도한다.

[0454] **[0364]** 접합체의 안정성을 다양한 완충액에서 측정하여 25° C에서 저장하거나 여러 번의 동결/해동 주기를 진행할 때 질량 회수율, 접합체 분자량 및 입자 형성의 변화를 평가한다. 이러한 4개의 완충액은 (i) 20mM 인산칼륨 pH 7.4, 10% 소르비톨; (ii) 20mM 인산칼륨 pH 7.4, 10% 소르비톨, 10mM 염화나트륨; (iii) 20mM 인산칼륨 pH 7.4, 10% 소르비톨, 10mM 염화나트륨, 0.02% 폴리소르베이트 80; 및 (iv) 20mM 트리스(하이드록시메틸)아미노메탄 pH 8.0, 10% 소르비톨, 50mM 염화나트륨이다.

[0455] **[0365]** 생체 내 면역원성 연구도 상기와 같이 다양한 분자량의 접합체를 사용하여 1회 또는 2회 용량으로 가속 안정성(예를 들어, 제조된 백신 생성물에 사용되는 온도보다 높은 온도) 조건 또는 동결/해동 주기에 적용하기 전후에 수행된다. 예를 들어, 접합체는 250kDa 미만, 250 내지 400kDa 및/또는 400kDa 초과이다. 이들 실험은 수율 및 면역원성에 대한 접합 조건의 효과를 추가로 평가하고, 여기에 기재된 접합체를 동결/해동 주기에 적용하여 면역원성의 변화를 어떻게 초래할 수 있는지를 평가하고, 하나 이상의 용량 수준에서 이들 변수 둘다를 평가한다.

[0456] **생물학적 실시예 6: 사람 단계 I 및 단계 IIA 임상 시험 디자인**

[0457] **[0366]** 초기 단계 I 임상 연구는 건강한 성인 18 내지 29세 연령 (N=96)에서 무작위 배정되고 위약 제어된 상승 용량 연구이다(표 3). 상기 초기 임상 연구의 대상은 안전성, 용량 반응 및 면역원성(IgG 항체)이다. 상기 연령 범위에서 많은 개체는 GAS에 대해 기존의 노출 및 면역력을 가질 것이기 때문에, 기준 면역력은 백신 반응에 대한 기존 면역 전의 영향을 이해하기 위해 완벽하게 평가된다. 각 백신 성분에 대한 IgG 반응 및 상이한 M 혈청형의 현대의 GAS 단리물에 대한 OPK 항체 역가가 평가된다.

[0458] **표 5. 단계 I 임상 시험 그룹**

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

[0459]

[0460] [0367] 단계 2A 임상 연구는 10 내지 17세 연령에 이어서 어린이 5 내지 9세 연령(N=96)의 개체의 연속 코호트에서 백신을 평가하기 위해 무작위 배정되고, 위약 제어된 멀티-센터 연구이다(표 4). 본 연구의 대상은 안전성, 면역원성(혈청의 IgG 항체 반응 및 옵소노식세포작용 활성), 및 예비 효능의 평가(GAS 인두염 발생률)이다. 각각의 환자는 12개월 동안 모니터링하여 치료 그룹에서 스트렙(step) 인두염의 발생률을 결정한다.

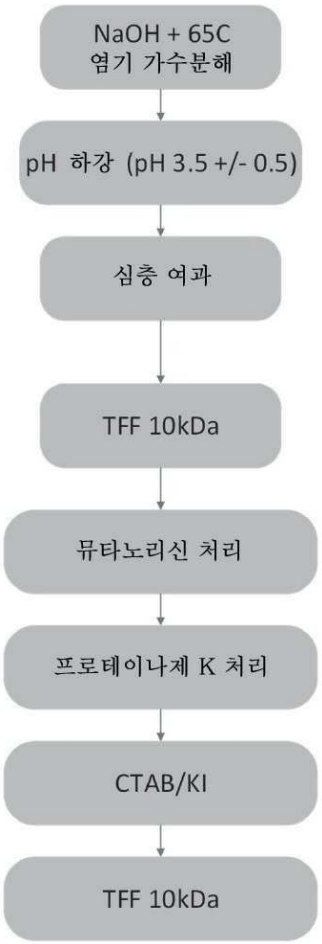
[0461] **표 6. 단계 IIA 임상 시험 그룹**

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

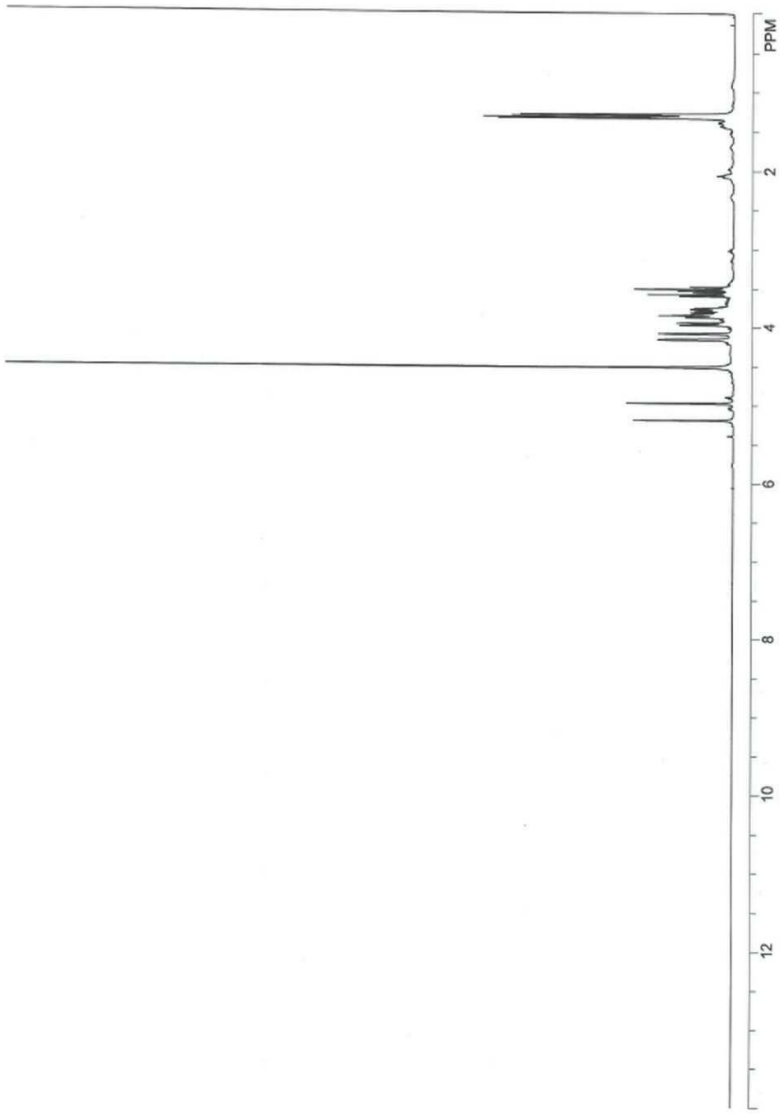
[0462]

도면

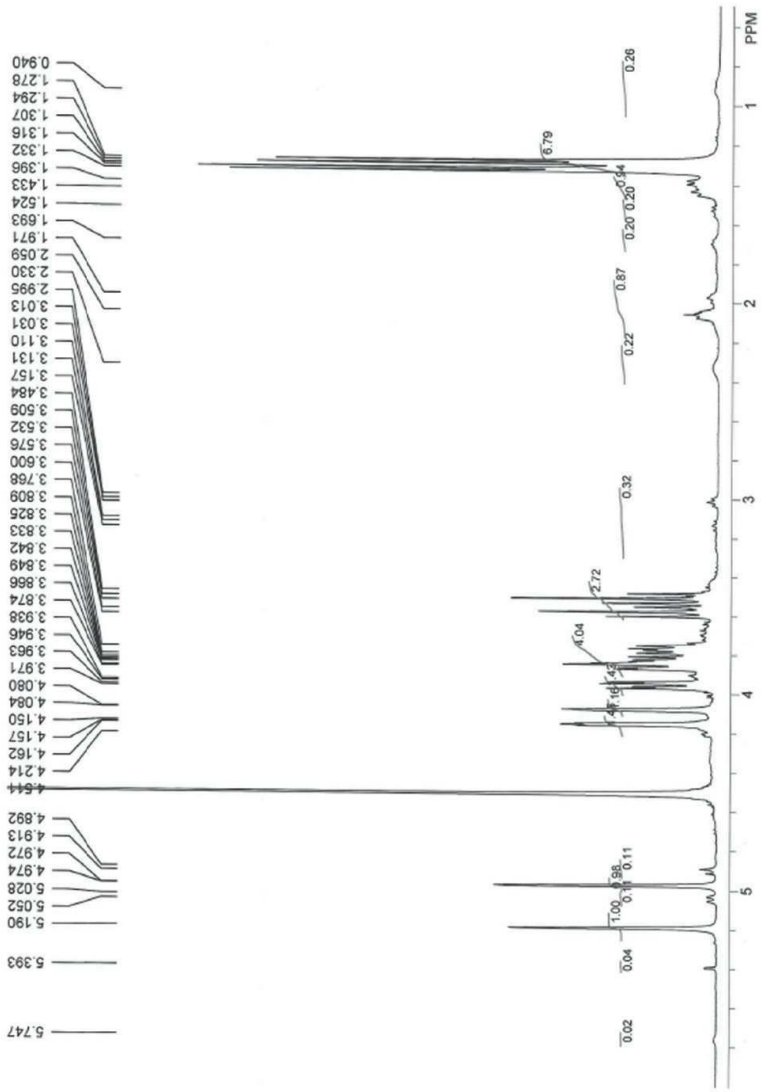
도면1


NaOH + 65C
염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
뮤타노리신 처리
프로테이나제 K 처리
CTAB/KI
TFF 10kDa

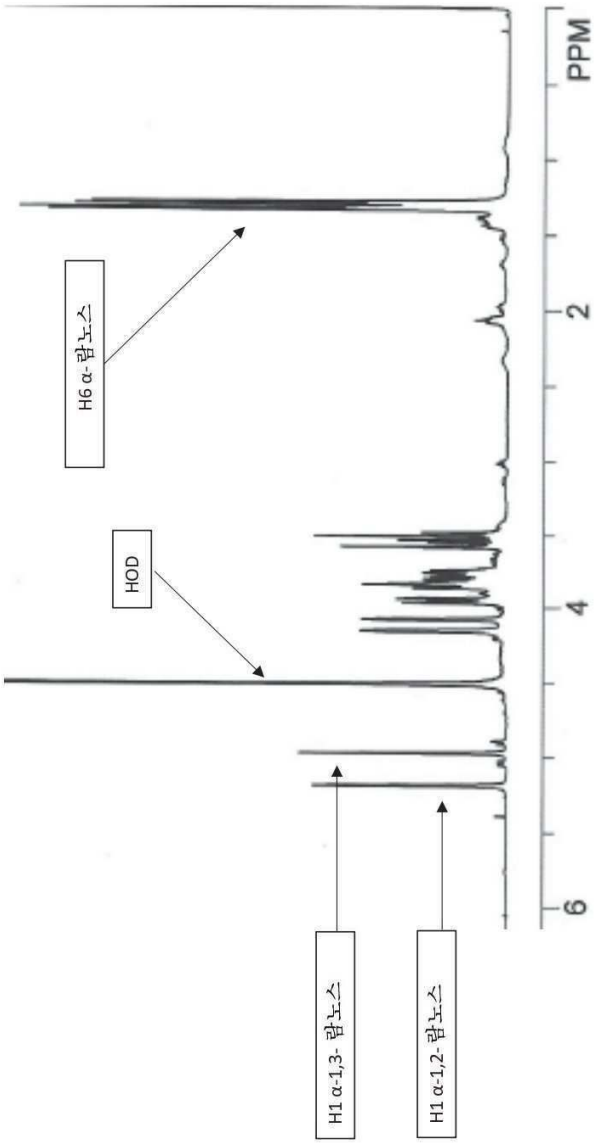
도면2a



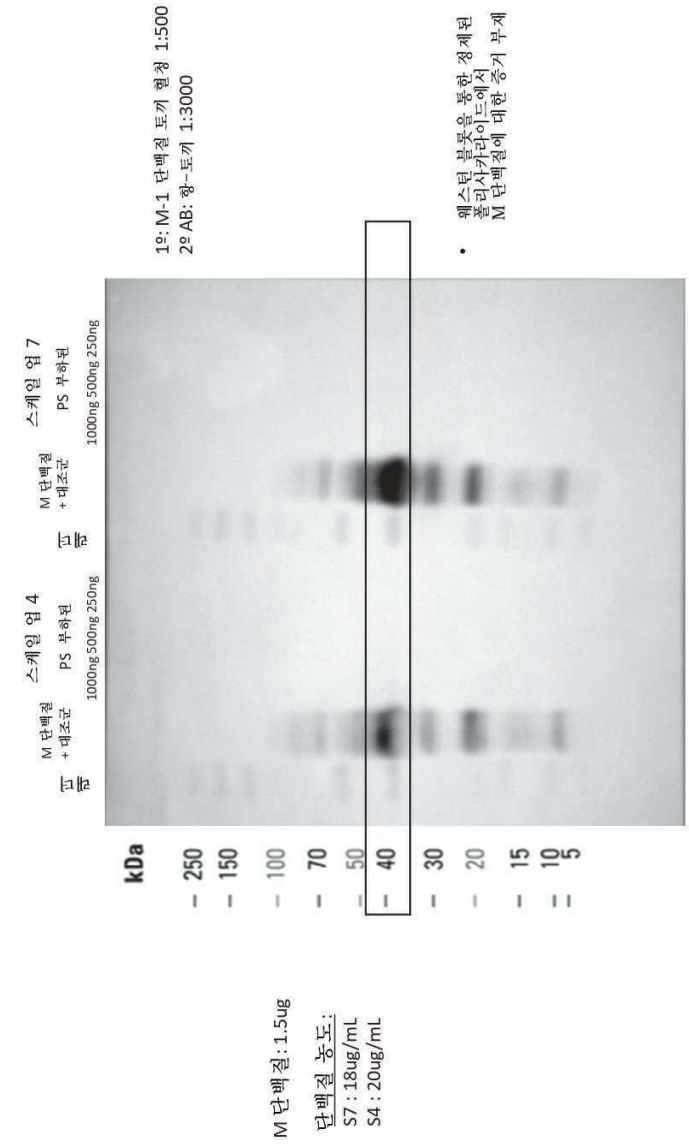
도면2b


0.940
1.278
1.294
1.307
1.316
1.332
1.396
1.433
1.524
1.693
1.971
2.059
2.330
2.995
3.013
3.031
3.110
3.131
3.157
3.484
3.509
3.532
3.576
3.600
3.768
3.809
3.825
3.833
3.842
3.849
3.866
3.874
3.938
3.946
3.963
3.971
4.080
4.084
4.150
4.157
4.162
4.214
4.892
4.913
4.972
4.974
5.028
5.052
5.190
5.393
5.747
6.79
0.26
0.94
0.20
0.20
0.87
0.22
0.32
2.72
4.04
1.43
1.16
1.00
0.98
0.11
0.04
0.02
PPM
1
2
3
4
5

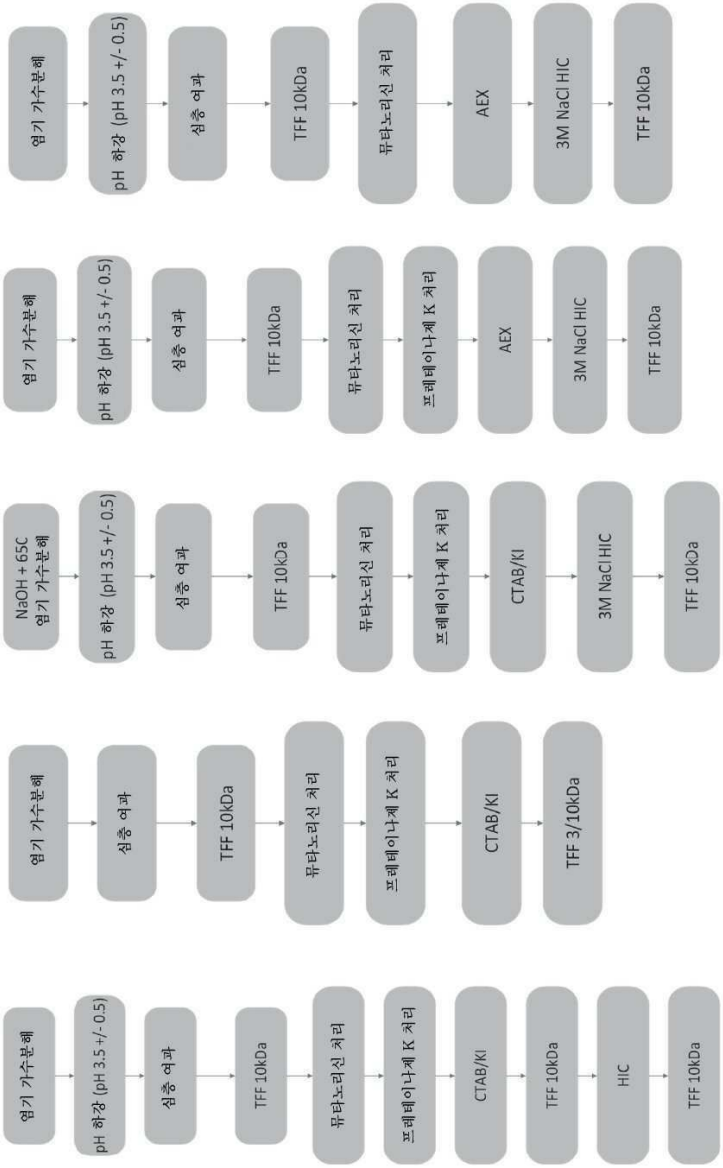
도면2c



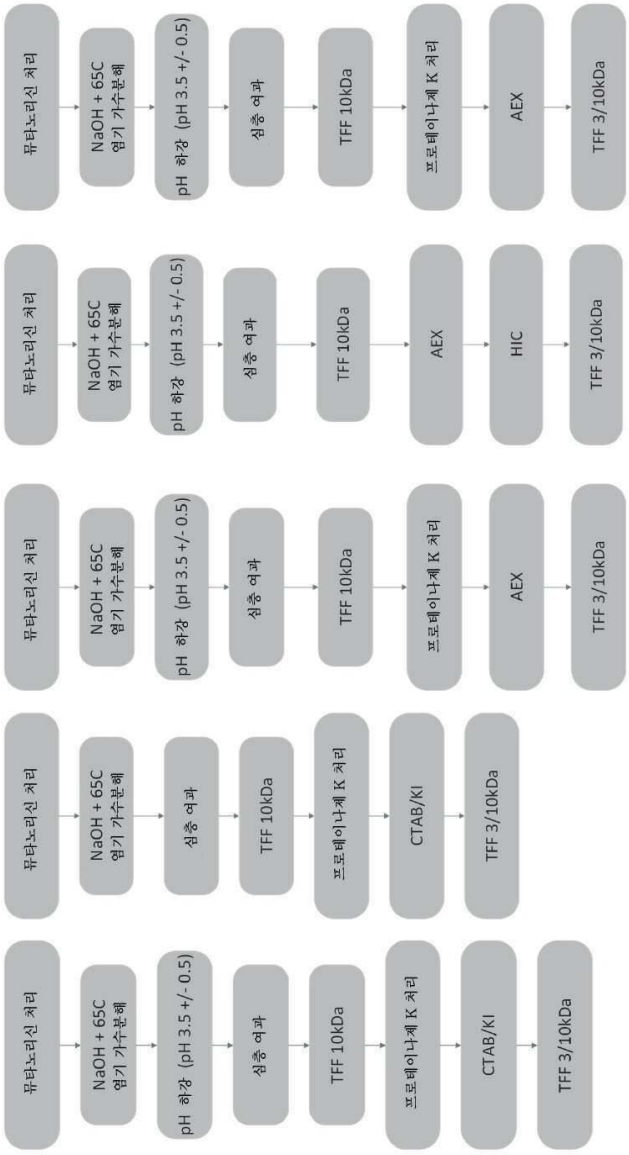
도면3


1º: M-1 단백질 토끼 혈청 1:500
2º AB: 항-토끼 1:3000
• 웨스턴 블롯을 통한 정제된 폴리사카라이드에서 M 단백질에 대한 증거 부재
스케일 업 7
PS 부하된
1000ng 500ng 250ng
M 단백질 + 대조군
스케일 업 4
PS 부하된
1000ng 500ng 250ng
M 단백질 + 대조군
kDa
250
150
100
70
50
40
30
20
15
10
5
M 단백질 : 1.5ug
단백질 농도 :
S7 : 18ug/mL
S4 : 20ug/mL

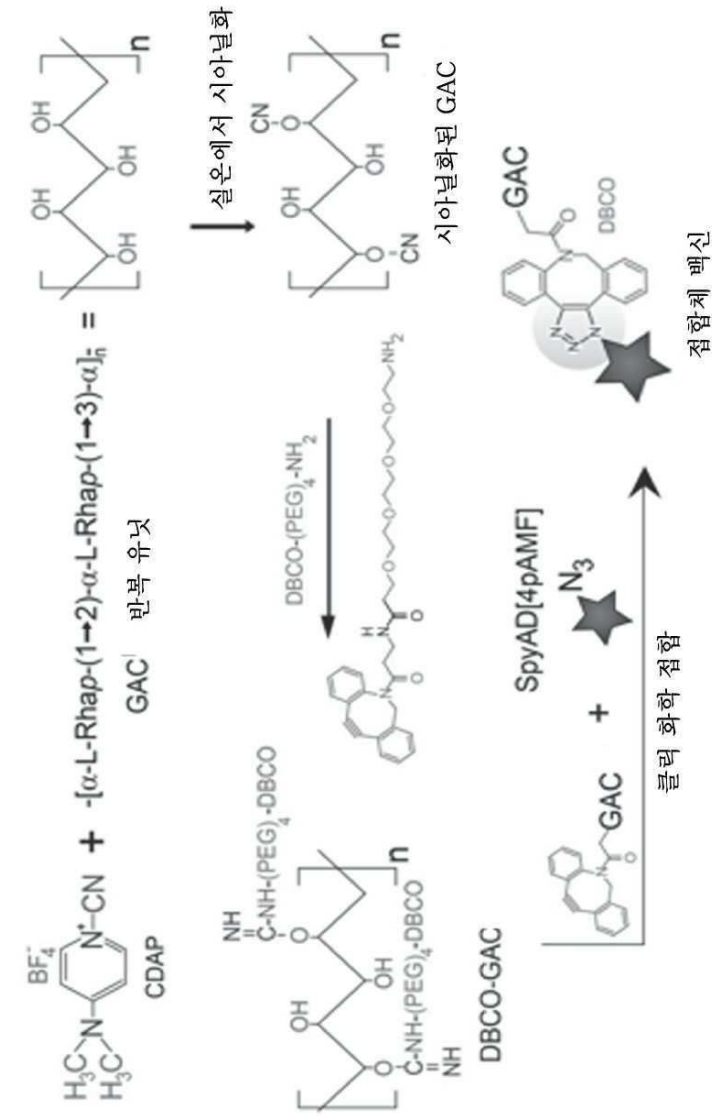
도면4a


염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
퓨타노리신 처리
AEX
3M NaCl HIC
TFF 10kDa
염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
퓨타노리신 처리
프레테이나제 K 처리
AEX
3M NaCl HIC
TFF 10kDa
NaOH + 65C
염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
퓨타노리신 처리
프레테이나제 K 처리
CTAB/KI
3M NaCl HIC
TFF 10kDa
염기 가수분해
심층 여과
TFF 10kDa
퓨타노리신 처리
프레테이나제 K 처리
CTAB/KI
TFF 3/10kDa
염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
퓨타노리신 처리
프레테이나제 K 처리
CTAB/KI
TFF 10kDa
HIC
TFF 10kDa

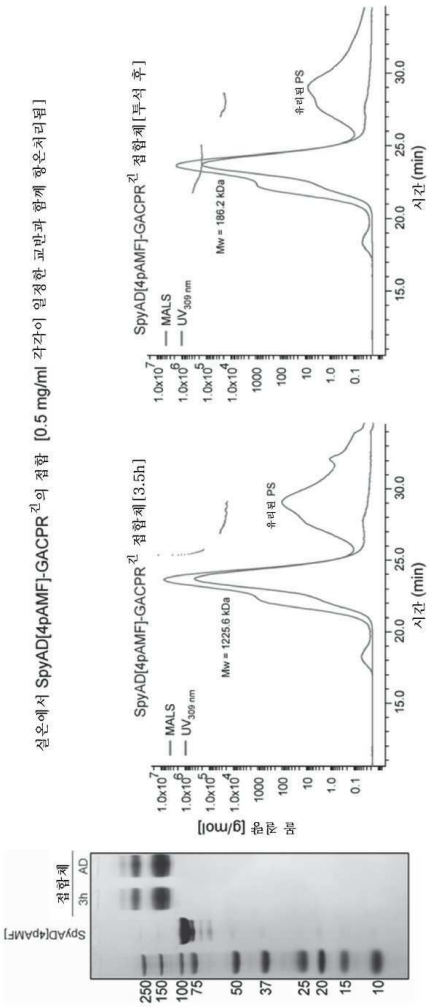
도면4b


뮤타노리신 처리
NaOH + 65C 염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
프로테이나제 K 처리
AEX
TFF 3/10kDa
뮤타노리신 처리
NaOH + 65C 염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
AEX
HIC
TFF 3/10kDa
뮤타노리신 처리
NaOH + 65C 염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
프로테이나제 K 처리
AEX
TFF 3/10kDa
뮤타노리신 처리
NaOH + 65C 염기 가수분해
심층 여과
TFF 10kDa
프로테이나제 K 처리
CTAB/KI
TFF 3/10kDa
뮤타노리신 처리
NaOH + 65C 염기 가수분해
pH 하강 (pH 3.5 +/- 0.5)
심층 여과
TFF 10kDa
프로테이나제 K 처리
CTAB/KI
TFF 3/10kDa

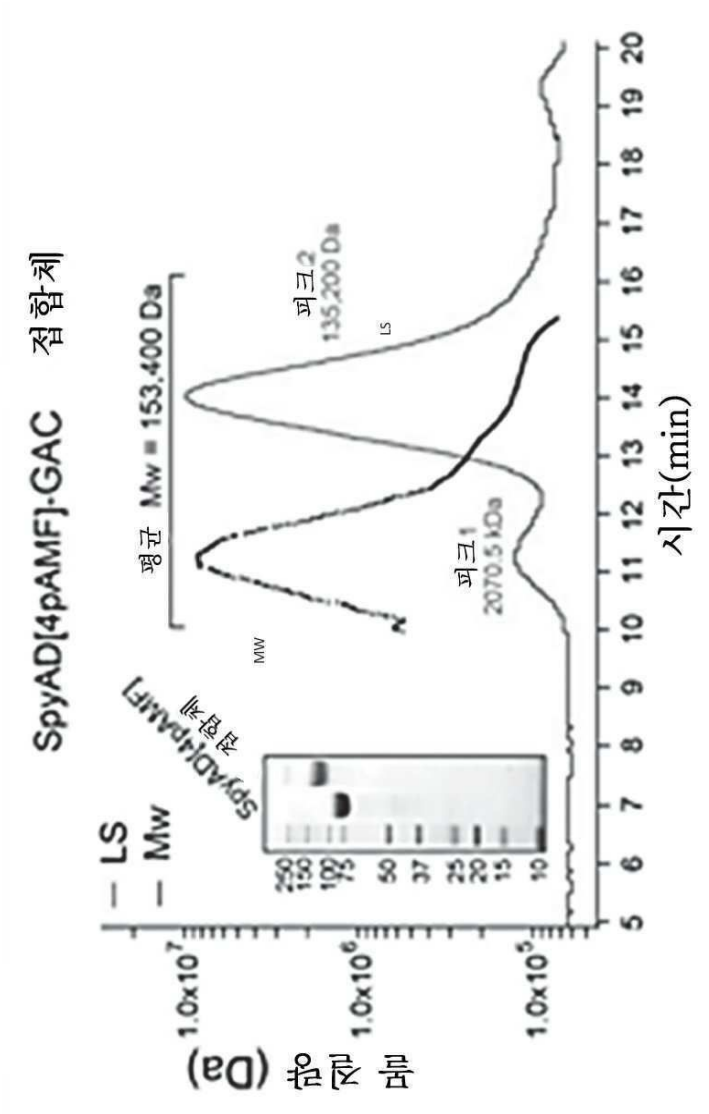
도면5


CDAP
GAC 반복 유닛
실온에서 시아닐화
시아닐화된 GAC
DBCO-(PEG)4-NH2
DBCO-GAC
SpyAD[4pAMF]
클릭 화학 접합
접합체 백신

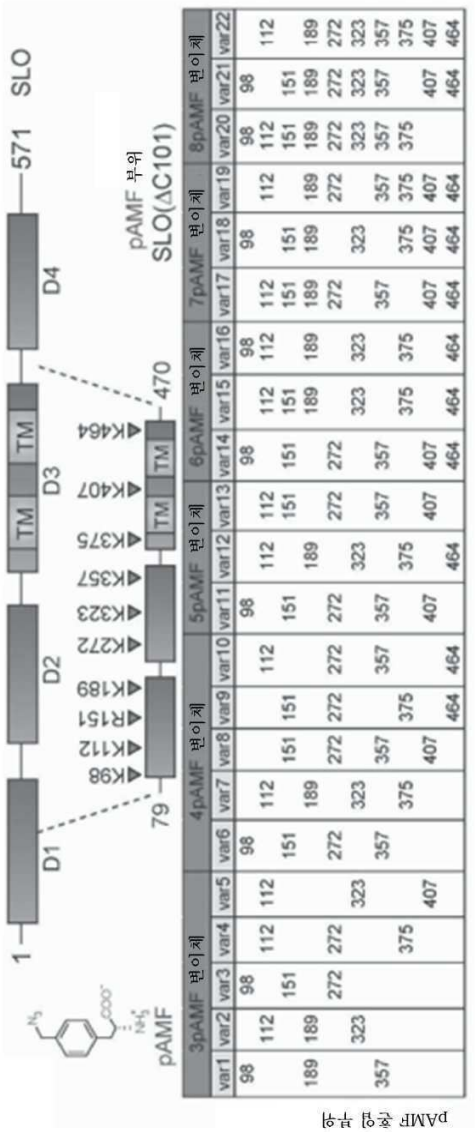
도면6


실온에서 SpyAD[4pAMF]-GACPR긴의 접합 [0.5 mg/ml 각각이 일정한 교반과 함께 항온처리됨]
SpyAD[4pAMF]
접합체
3h
AD
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
몰 질량 [g/mol]
SpyAD[4pAMF]-GACPR긴 접합체[3.5h]
MALS
UV309 nm
Mw = 1225.6 kDa
유리된 PS
시간 (min)
SpyAD[4pAMF]-GACPR긴 접합체[투석 후]
MALS
UV309 nm
Mw = 186.2 kDa
유리된 PS
시간 (min)

도면7


SpyAD[4pAMF]-GAC 접합체
LS
Mw
SpyAD[4pAMF] 단량체
MW
평균 Mw = 153,400 Da
피크 2
135,200 Da
LS
피크 1
2070.5 kDa
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
1.0x10^7
1.0x10^6
1.0x10^5
몰 질량 (Da)
5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
시간(min)

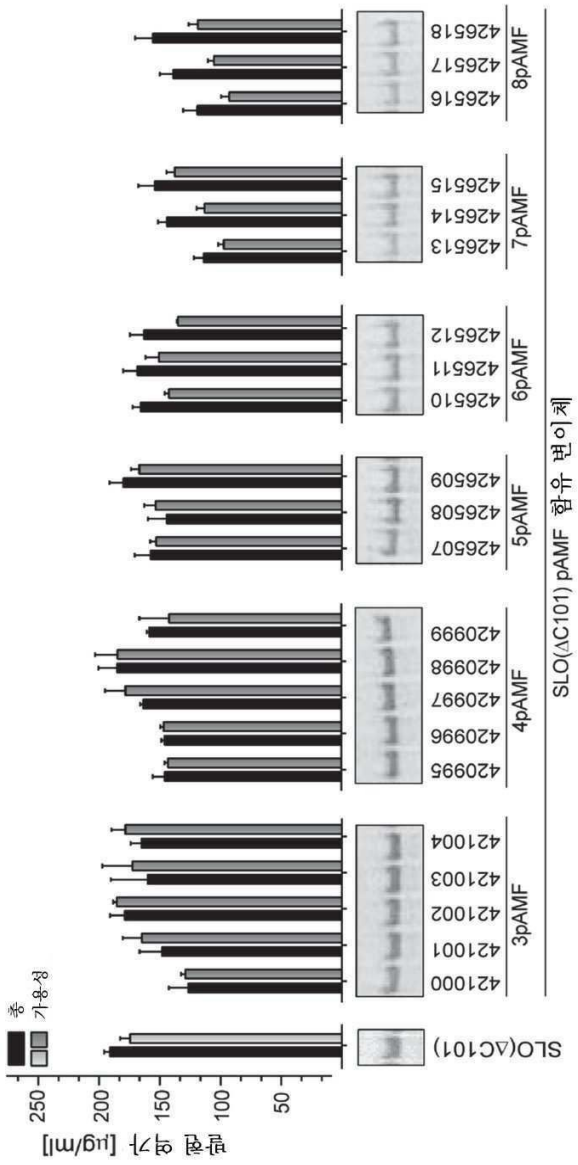
도면8a



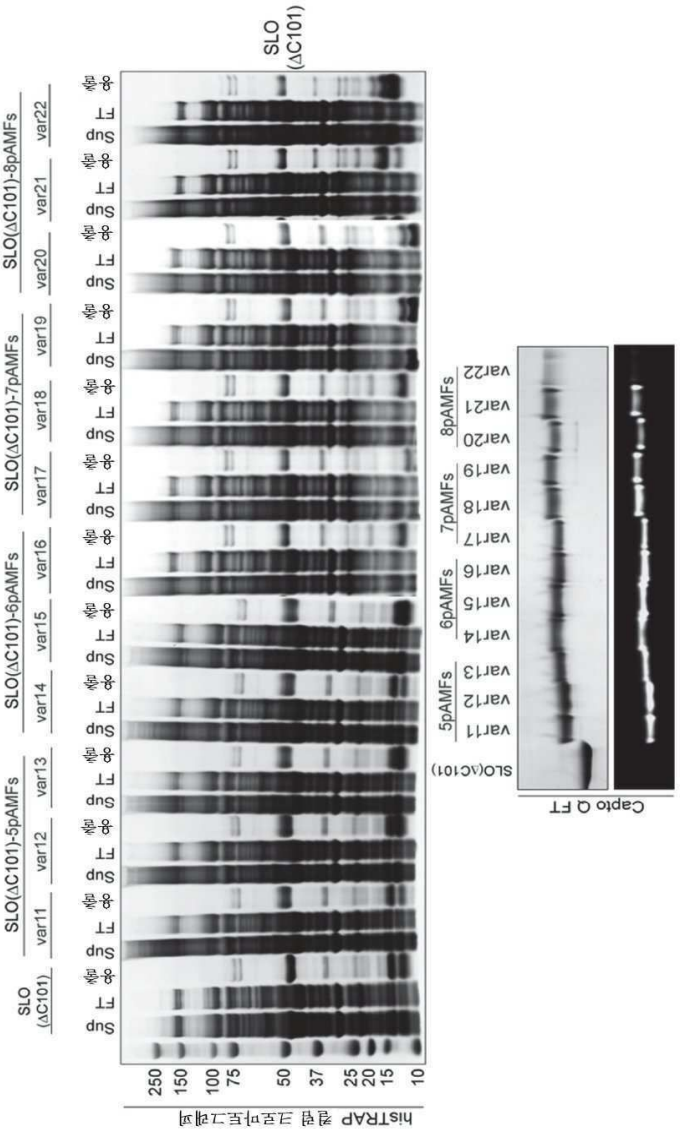
pAMF 종류 부위

	3pAMF 변이체						4pAMF 변이체						5pAMF 변이체						6pAMF 변이체						7pAMF 변이체						8pAMF 변이체					
	var1	var2	var3	var4	var5	var6	var7	var8	var9	var10	var11	var12	var13	var14	var15	var16	var17	var18	var19	var20	var21	var22														
var1	98		98			98					98			98		98		98		98	98	112														
var2		112		112	112		112			112		112	112		112	112	112		112	112															
var3			151			151		151	151		151		151	151	151		151		151	151															
var4	189	189	272	272		272	189	272	272	272		189	272	272	189	189	272		189	189	189	189														
var5					323	323	323	357	357	357	357	323	357	357	323	323	357	323	357	357	323	323														
var6	357			375	407	357	375	407	375	407	407	375	407	407	375	375	407	375	375	375	407	407														
var7						407			464	464	464	464	464	464	464	464	464	464	464	464	464	464														
var8																																				
var9																																				
var10																																				
var11																																				
var12																																				
var13																																				
var14																																				
var15																																				
var16																																				
var17																																				
var18																																				
var19																																				
var20																																				
var21																																				
var22																																				

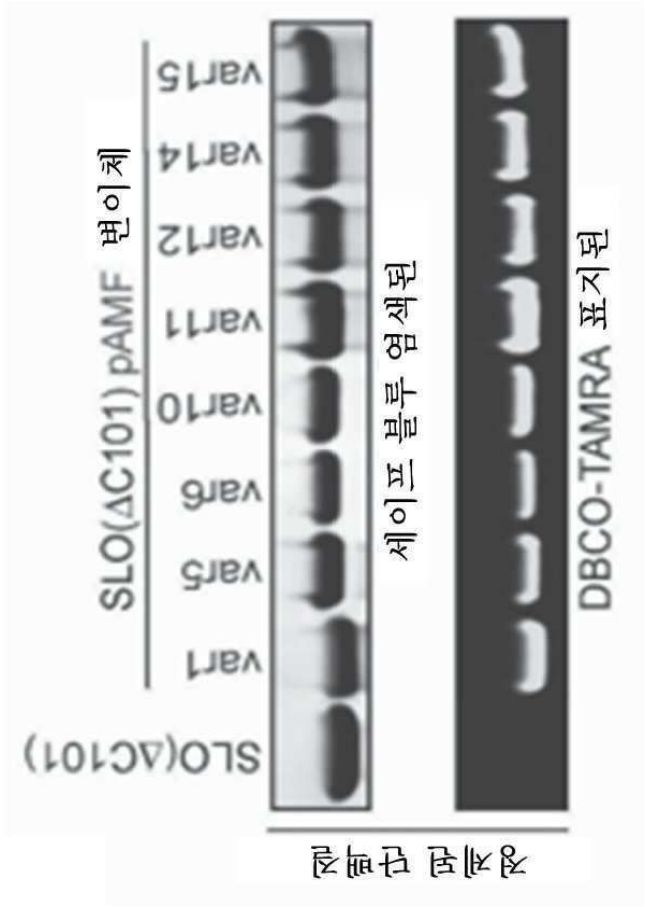
도면8b


발현 역가 [μg/ml]
250
200
150
100
50
총
가용성
SLO(ΔC101)
3pAMF
421000
421001
421002
421003
421004
4pAMF
420995
420996
420997
420998
420999
5pAMF
426507
426508
426509
6pAMF
426510
426511
426512
7pAMF
426513
426514
426515
8pAMF
426516
426517
426518
SLO(ΔC101) pAMF 함유 변이체

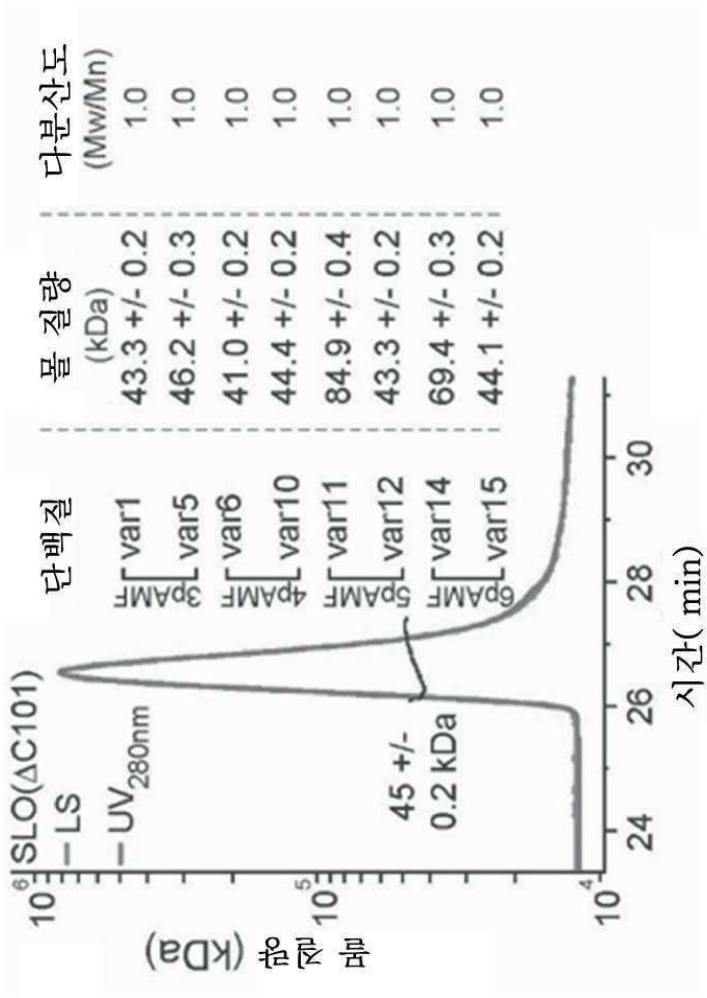
도면8c


SLO (ΔC101)
SLO (ΔC101)-5pAMFs
SLO (ΔC101)-6pAMFs
SLO (ΔC101)-7pAMFs
SLO (ΔC101)-8pAMFs
var11
var12
var13
var14
var15
var16
var17
var18
var19
var20
var21
var22
용출
FT
Sup
hisTRAP 컬럼 크로마토그래피
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
SLO(ΔC101)
5pAMFs
6pAMFs
7pAMFs
8pAMFs
Capto Q FT

도면8d


정제된 단백질
SLO(ΔC101)
SLO(ΔC101) pAMF 변이체
var1
var5
var6
var10
var11
var12
var14
var15
쿠마시 블루 염색된
DBCO-TAMRA 표지된

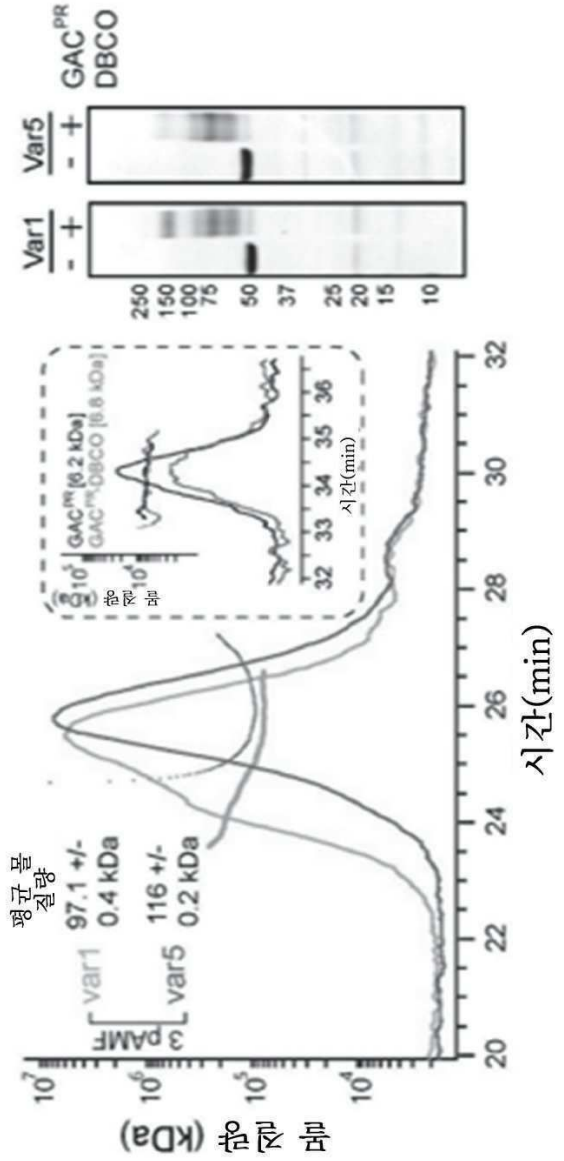
도면8e


SLO(ΔC101)
LS
UV280nm
45 +/- 0.2 kDa
단백질
var1
var5
var6
var10
var11
var12
var14
var15
3pAMF
4pAMF
5pAMF
6pAMF
몰 질량 (kDa)
43.3 +/- 0.2
46.2 +/- 0.3
41.0 +/- 0.2
44.4 +/- 0.2
84.9 +/- 0.4
43.3 +/- 0.2
69.4 +/- 0.3
44.1 +/- 0.2
다분산도 (Mw/Mn)
1.0
1.0
1.0
1.0
1.0
1.0
1.0
1.0
몰 질량 (kDa)
시간(min)
24
26
28
30

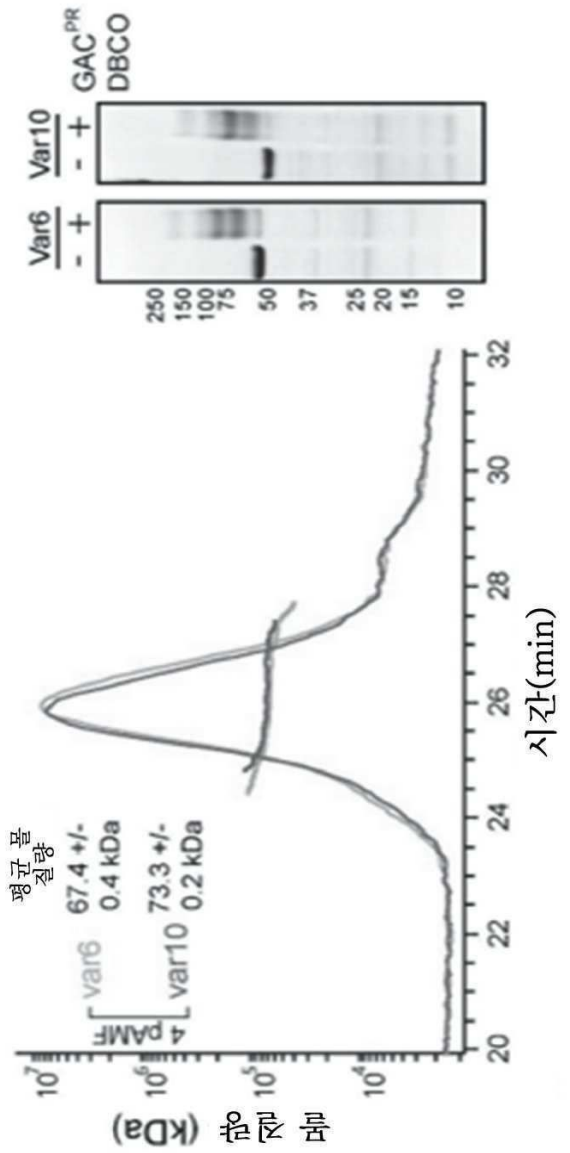
도면9a


GAC 긴 :SLO – 0.5:0.5
반응은 밤새 진행하였다, 650 RPM 22C
샘플 부하 : 10uL
단백질 부하: 5ug
GAC-SLO (426511)
SLO (426511)
GAC-SLO (426510)
SLO (426510)
GAC-SLO (426508)
SLO (426508)
GAC-SLO (426507)
SLO (426507)
kD
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10

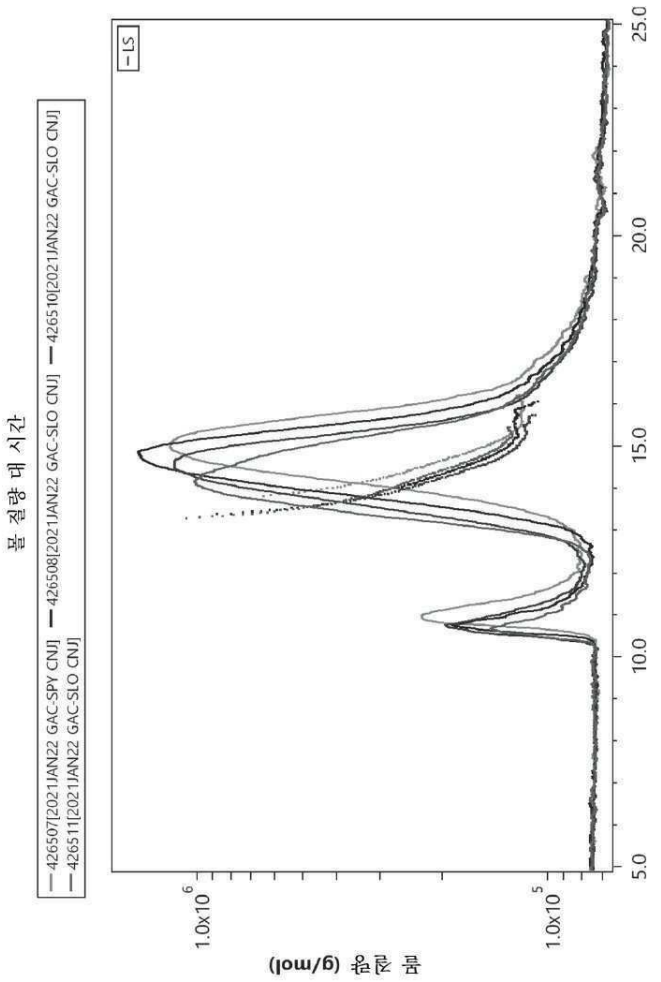
도면9b


GAC^PR
DBCO
Var5
Var1
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
pAMF
var1
var5
평균 몰 질량
97.1 +/- 0.4 kDa
116 +/- 0.2 kDa
몰 질량 (kDa)
시간(min)
GAC^PR [6.2 kDa]
GAC^PR-DBCO [6.6 kDa]
32
33
34
35
36

도면9c

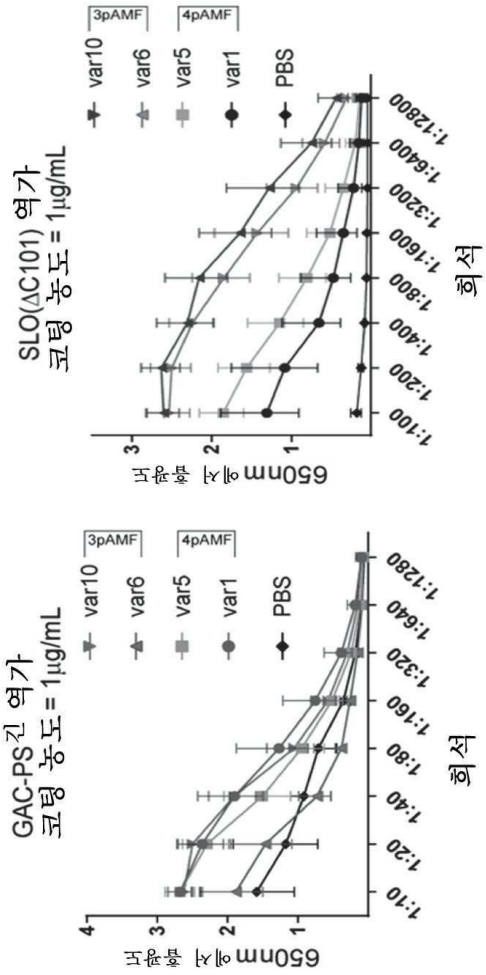

GAC^PR
DBCO
Var10
- +
Var6
- +
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
pAMF
var6
67.4 +/- 0.4 kDa
var10
73.3 +/- 0.2 kDa
평균 몰 질량
몰 질량 (kDa)
시간(min)
20
22
24
26
28
30
32

도면10

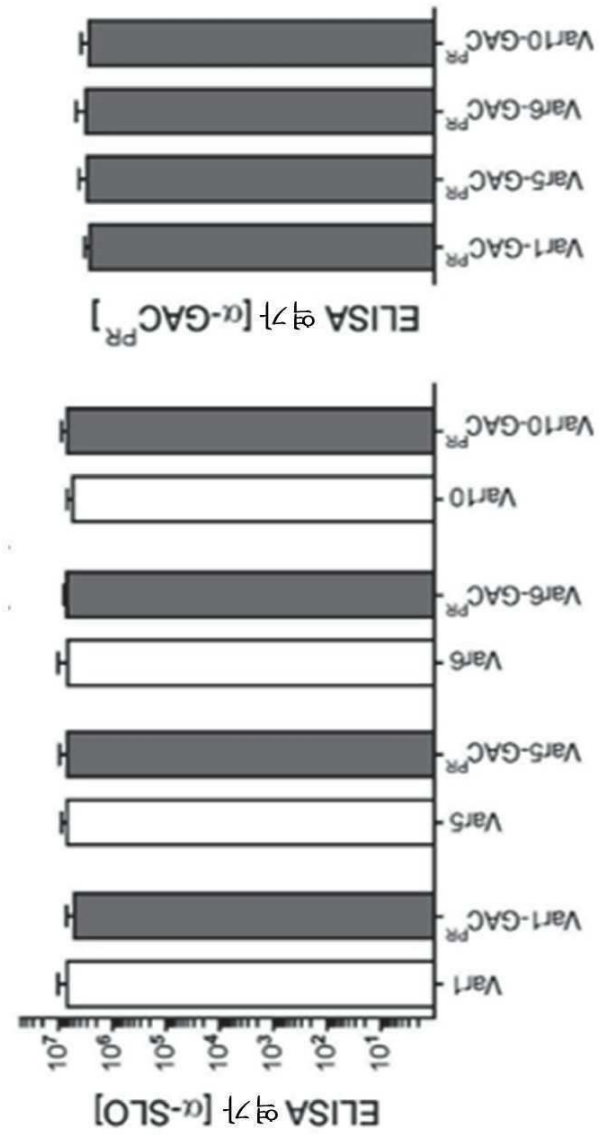


샘플 ID	Mw (kDa)
426507SLO(ΔC101)-GAC 접합체	161.1
426508 SLO(ΔC101)-GAC 접합체	162.2
426510 SLO(ΔC101)-GAC 접합체	159.1
4265011 SLO(ΔC101)-GAC 접합체	208.9

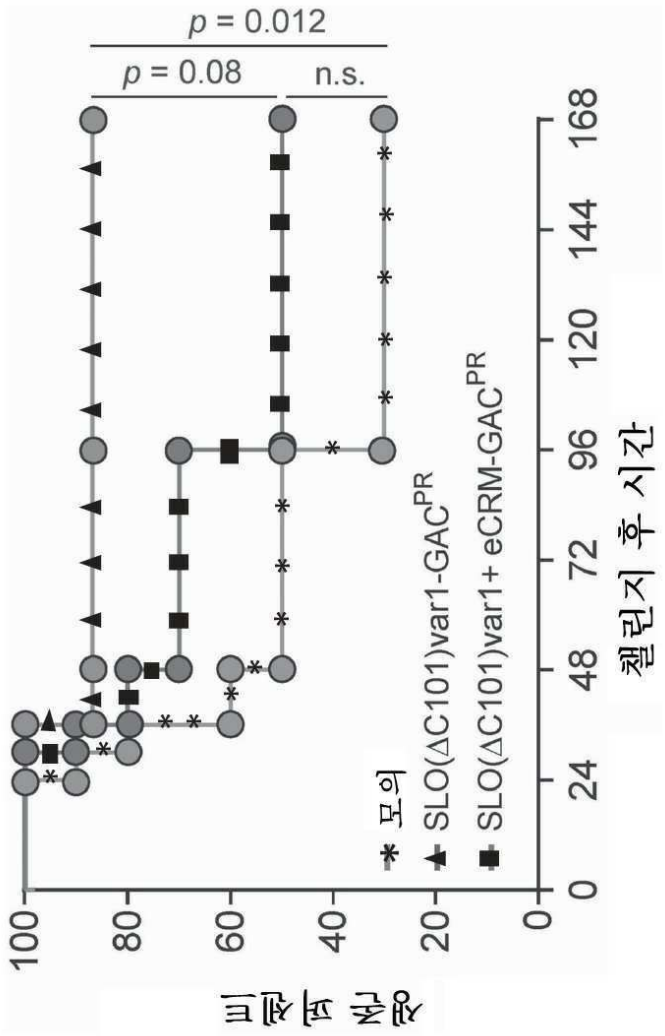
도면11a


SLO(ΔC101) 역가
코팅 농도 = 1μg/mL
3pAMF
4pAMF
var10
var6
var5
var1
PBS
650nm 에서 흡광도
희석
1:100
1:200
1:400
1:800
1:1600
1:3200
1:6400
1:12800
GAC-PS긴 역가
코팅 농도 = 1μg/mL
1:10
1:20
1:40
1:80
1:160
1:320
1:640
1:1280

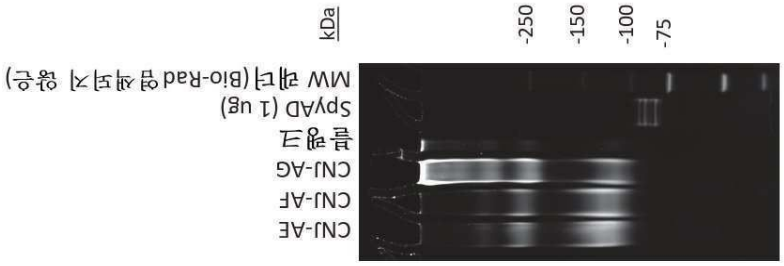
도면11b


ELISA 역가 [α-SLO]
Var1
Var1-GAC^PR
Var5
Var5-GAC^PR
Var6
Var6-GAC^PR
Var10
Var10-GAC^PR
ELISA 역가 [α-GAC^PR]
Var1-GAC^PR
Var5-GAC^PR
Var6-GAC^PR
Var10-GAC^PR

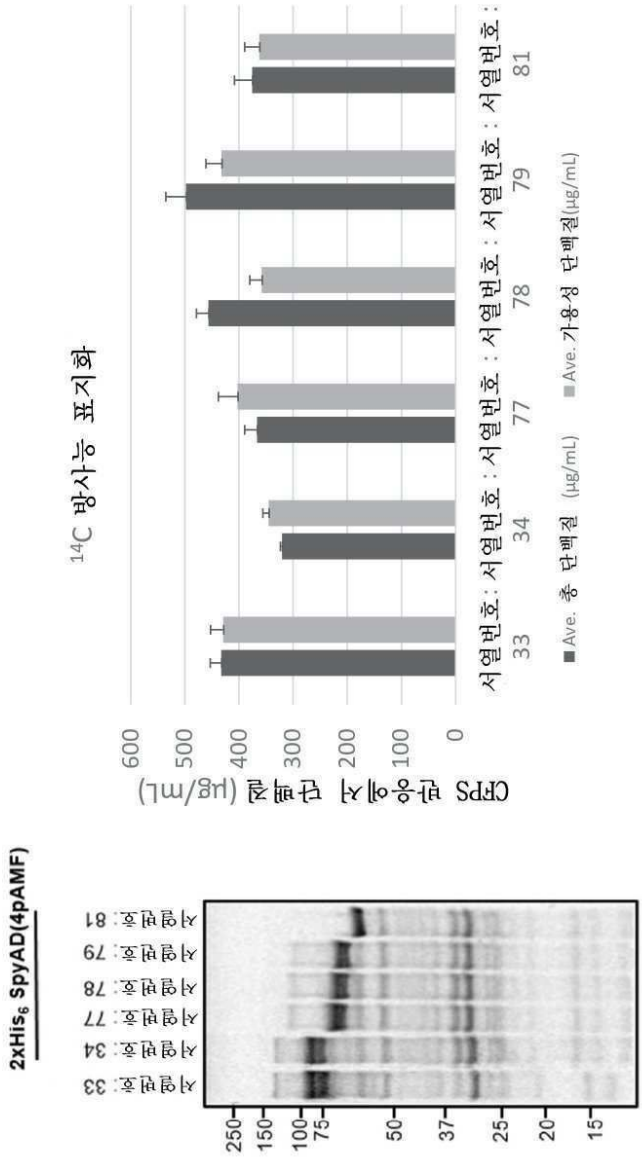
도면12


p = 0.012
p = 0.08
n.s.
생존 T세포 (%)
100
80
60
40
20
0
0
24
48
72
96
120
144
168
챌린지 후 시간
모의
SLO(ΔC101)var1-GAC^PR
SLO(ΔC101)var1+ eCRM-GAC^PR

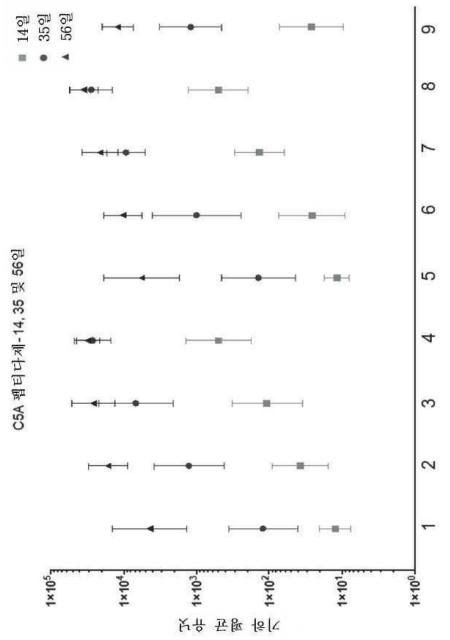
도면13


kDa
-250
-150
-100
-75
CNJ-AE
CNJ-AF
CNJ-AG
블랭크
SpyAD (1 ug)
MW 래더 (Bio-Rad 염색되지 않은)

도면14


CFPS 반응액 단백질 (μg/mL)
600
500
400
300
200
100
0
서열번호: 서열번호 : 서열번호 : 서열번호 : 서열번호 : 서열번호 :
33
34
77
78
79
81
Ave. 총 단백질 (μg/mL)
Ave. 가용성 단백질(μg/mL)
14C 방사능 표지화
2xHis6 SpyAD(4pAMF)
서열번호: 33
서열번호: 34
서열번호: 77
서열번호: 78
서열번호: 79
서열번호: 81
250
150
100
75
50
37
25
20
15

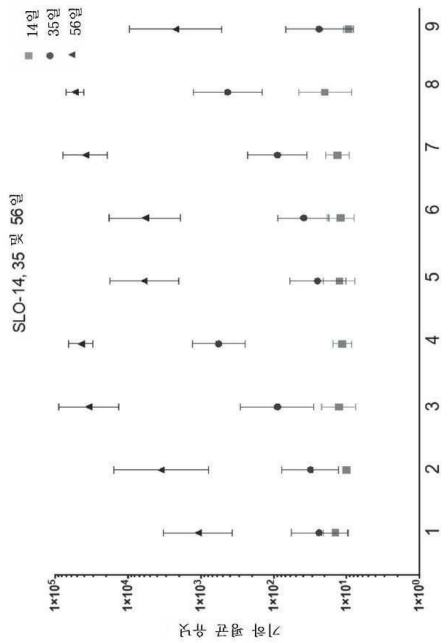
도면15



아암	용량 수준*	SpyAD 접합체
1	0.062ug	CNJ-AE
2	0.25ug	
3	1.0ug	
4	4.0ug	
5	0.062ug	CNJ-AG
6	0.25ug	
7	1.0ug	
8	4.0ug	
9	0.25ug	CNJ-AF

*전달된 실제 용량

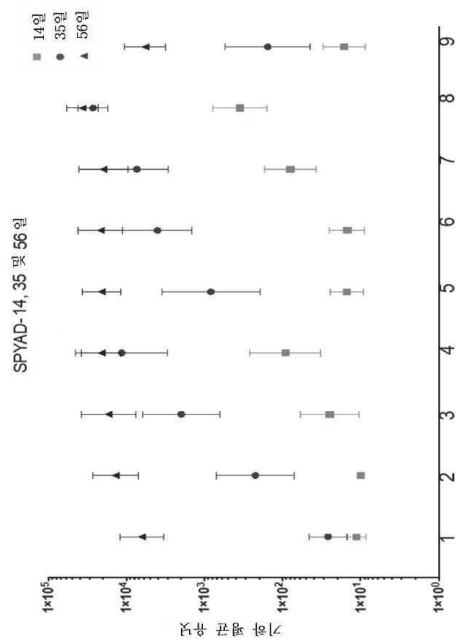
도면16



아암	용량 수준 *	SpyAD 결합체
1	0.062ug	CNJ-AE
2	0.25ug	
3	1.0ug	
4	4.0ug	
5	0.062ug	CNJ-AG
6	0.25ug	
7	1.0ug	
8	4.0ug	
9	0.25ug	CNJ-AF

*전달된 실제 용량

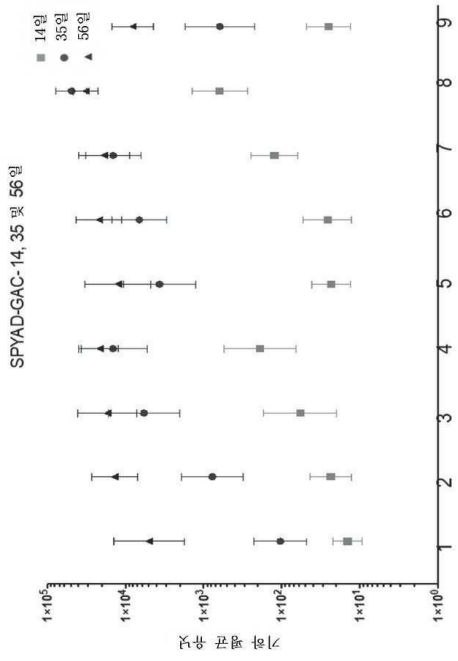
도면17



아암	용량 수준*	SpyAD 접합체
1	0.062ug	CNJ-AE
2	0.25ug	
3	1.0ug	
4	4.0ug	
5	0.062ug	CNJ-AG
6	0.25ug	
7	1.0ug	
8	4.0ug	
9	0.25ug	CNJ-AF

*전달된 실제 용량

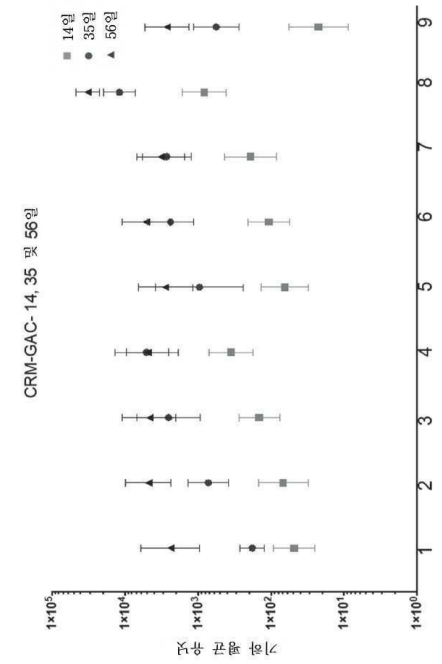
도면18



아암	용량 수준*	SpyAD 접합체
1	0.062ug	CNJ-AE
2	0.25ug	
3	1.0ug	
4	4.0ug	
5	0.062ug	CNJ-AG
6	0.25ug	
7	1.0ug	
8	4.0ug	
9	0.25ug	CNJ-AF

*전달된 실제 용량

도면19



아암	용량 수준 *	SpyAD 접합체
1	0.062ug	CNJ-AE
2	0.25ug	
3	1.0ug	
4	4.0ug	
5	0.062ug	CNJ-AG
6	0.25ug	
7	1.0ug	
8	4.0ug	
9	0.25ug	CNJ-AF

*전달된 실제 용량

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Vaxcyte, Inc.

<120> PURIFICATION OF POLYSACCHARIDES AND POLYPEPTIDE CONJUGATES THEREOF

<130> STRO-015/02WO 331540-2122

<150> US 63/288,387

<151> 2021-12-10

<150> US 63/150,516

<151> 2021-02-17

<160> 83

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 962

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> C5a [90-1035 fragment] - WT w/ leader

<400> 1

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

Gly Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp
20 25 30

Leu Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys
35 40 45

Gly Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Asp Ala Gly Phe Asp Lys Asn
50 55 60

His Glu Ala Trp Arg Leu Thr Asp Lys Thr Lys Ala Arg Tyr Gln Ser
65 70 75 80

Lys Glu Asp Leu Glu Lys Ala Lys Lys Glu His Gly Ile Thr Tyr Gly
85 90 95

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp
100 105 110

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile
115 120 125

Leu Ser Gly Asn Ala Pro Ser Glu Thr Lys Glu Pro Tyr Arg Leu Glu
130 135 140

Gly Ala Met Pro Glu Ala Gln Leu Leu Leu Met Arg Val Glu Ile Val
145 150 155 160

Asn Gly Leu Ala Asp Tyr Ala Arg Asn Tyr Ala Gln Ala Ile Arg Asp
165 170 175

Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala
180 185 190

Ala Leu Ala Tyr Ala Asn Leu Pro Asp Glu Thr Lys Lys Ala Phe Asp
195 200 205

Tyr Ala Lys Ser Lys Gly Val Ser Ile Val Thr Ser Ala Gly Asn Asp
210 215 220
Ser Ser Phe Gly Gly Lys Thr Arg Leu Pro Leu Ala Asp His Pro Asp
225 230 235 240
Tyr Gly Val Val Gly Thr Pro Ala Ala Ala Asp Ser Thr Leu Thr Val
245 250 255
Ala Ser Tyr Ser Pro Asp Lys Gln Leu Thr Glu Thr Ala Thr Val Lys
260 265 270

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

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

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

450 455 460

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

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

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

Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu
660 665 670
Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
675 680 685
Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu
690 695 700

Gly Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr
705 710 715 720

Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr
725 730 735

Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn
740 745 750

Gly Asp Gly Asn Arg Asp Tyr Val Gln Phe Gln Gly Thr Phe Leu Arg
755 760 765

Asn Ala Lys Asn Leu Val Ala Glu Val Leu Asp Lys Glu Gly Asn Val
770 775 780

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn
785 790 795 800

Asp Leu Ala Ser Thr Leu Gly Ser Thr Arg Phe Glu Lys Thr Arg Trp
805 810 815

Asp Gly Lys Asp Lys Asp Gly Lys Val Val Ala Asn Gly Thr Tyr Thr
820 825 830

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

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

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

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

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

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

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

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

945 950 955 960

Asn Lys

<210> 2

<211> 945

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp Gly

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser Arg

370 375 380

Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp Ile

385 390 395 400

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

405 410 415

Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ser Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly Ile

420 425 430

Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met Thr

435 440 445

Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala

450 455 460

Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln

465 470 475 480

Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met

485 490 495

Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn

500 505 510

Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val

565 570 575

Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala Leu

660 665 670

Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu Gly

675 680 685

Val Glu Asn Ile Glu Asp Ile Glu Ser Ser Glu Ile Thr Glu Thr Ile

690 695 700

Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr Ile

705 710 715 720

His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Gly

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn Asp

770 775 780

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

785 790 795 800

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

805 810 815

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

820 825 830

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

835 840 845

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

850 855 860

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

865 870 875 880

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

885 890 895

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

900 905 910

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

915 920 925

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

930 935 940

Lys

945

<210> 3

<211> 962

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp

100 105 110

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser

385 390 395 400

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp

405 410 415

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

420 425 430

Tyr Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly
435 440 445
Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met

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

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

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

645 650 655
Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu
660 665 670
Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

Ile Phe Ala Gly Thr Phe Ala Lys Gln Asp Asp Asp Ser His Tyr Tyr

725 730 735

Ile His Arg His Ala Asn Gly Lys Pro Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

Val Trp Thr Ser Glu Val Thr Glu Gln Val Val Lys Asn Tyr Asn Asn

785 790 795 800

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

805 810 815

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

820 825 830

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

835 840 845

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

850 855 860

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

865 870 875 880

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

885 890 895

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

900 905 910

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

915 920 925

Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala
930 935 940
Gly Asn Ile Thr Tyr Thr Pro Val Thr Lys Leu Leu Glu Gly His Ser
945 950 955 960
Asn Lys

<210> 4
<211> 945
<212
> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> C5a [90-1035 fragment] D131A/S513A mutant w/o leader
<400> 4
Lys Thr Ala Asp Thr Pro Val Thr Ser Lys Ala Thr Ile Arg Asp Leu
1 5 10 15
Asn Asp Pro Ser Gln Val Lys Thr Leu Gln Glu Lys Ala Gly Lys Gly
20 25 30
Ala Gly Thr Val Val Ala Val Ile Ala Ala Gly Phe Asp Lys Asn His
35 40 45

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

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

Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala Ala
165 170 175

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

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

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

Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser Arg
370 375 380
Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp Ile
385 390 395 400
Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys Tyr

405 410 415

Ala Lys Leu Ser Gly Thr Ala Met Ser Ala Pro Leu Val Ala Gly Ile

420 425 430

Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met Thr

435 440 445

Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser Ala

450 455 460

Thr Ala Leu Tyr Asp Glu Asp Glu Lys Ala Tyr Phe Ser Pro Arg Gln

465 470 475 480

Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr Met

485 490 495

Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn Asn

500 505 510

Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser Asp

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr Val

565 570 575

Pro Ile Asp Ala Ser Arg Phe Ser Lys Asp Leu Leu Ala Gln Met Lys

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala Leu
660 665 670
Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu Gly
675 680 685

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

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

Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His Thr
820 825 830
Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr Ser
835 840 845
Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys Pro
850 855 860
Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr Met
865 870 875 880

Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp Gly
885 890 895
Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr Val

900 905 910

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

915 920 925

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

930 935 940

Lys

945

<210> 5

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr
405 410 415
Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
420 425 430

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

Ser Gly Ser Thr Leu Ser Pro Tyr Gly Ser Ile Thr Tyr Lys
500 505 510

<210> 6
<211> 493
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes
<400> 6

Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys Lys
1 5 10 15
Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile Asn
20 25 30
Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala Lys

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

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490

<210> 7

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

<210> 8

<211> 493

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 8

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

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

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

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

210 215 220
Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp Lys
225 230 235 240

Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu Ala
245 250 255
Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe Val
260 265 270
Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe Ser

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

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

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

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

485 490

<210> 9

<211> 834

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] WT w/ leader

<400> 9

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

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
20 25 30

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

Lys Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
50 55 60

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
65 70 75 80

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
85 90 95

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

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
115 120 125

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
130 135 140

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
145 150 155 160

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
165 170 175

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr

275 280 285

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln

290 295 300

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

305 310 315 320

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

325 330 335

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val

340 345 350

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser

355 360 365

Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln

370 375 380

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

385 390 395 400

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn

405 410 415

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly

420 425 430

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

435 440 445

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
450 455 460
Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
465 470 475 480

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

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

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

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

690 695 700

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg

705 710 715 720

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

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

805 810 815

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

820 825 830

Gln Arg

<210> 10

<211> 817

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala
65 70 75 80
Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu

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

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

210 215 220
Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn
225 230 235 240
Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Leu
245 250 255
Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270
Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu

275 280 285
Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300
Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala

305 310 315 320

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

325 330 335

Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr

340 345 350

Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro

355 360 365

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

370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met

385 390 395 400

Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile

465 470 475 480

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

485 490 495

Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala

500 505 510

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

515 520 525

His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu

530 535 540

Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu

545 550 555 560

Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu
565 570 575
Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln
580 585 590
Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr Glu

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

660 665 670
Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr Ile Ala Thr Thr Glu His
675 680 685
Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His
690 695 700
Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro
705 710 715 720
Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro

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

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

805 810 815

Arg

<210> 11

<211> 834

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (49)..(49)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (272)..(272)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (371)..(371)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (642)..(642)

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

<400> 11

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

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
20 25 30

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

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
50 55 60

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa

260 265 270

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr

275 280 285

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln

290 295 300

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

305 310 315 320

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

325 330 335

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
340 345 350
Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
355 360 365

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

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

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

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala

625 630 635 640

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn

645 650 655

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg

705 710 715 720

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

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

805 810 815

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

820 825 830

Gln Arg

<210> 12

<211> 817

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

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

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (255)..(255)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (354)..(354)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (625)..(625)

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

<400> 12

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn
1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa
20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu
35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn
50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu

245 250 255

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys

260 265 270

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

275 280 285

Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro

290 295 300

Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala

305 310 315 320

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

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

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

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

545 550 555 560
Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys

610 615 620

Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn Arg

625 630 635 640

Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu Ala

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His

690 695 700

Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

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

805 810 815

Arg

<210> 13

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

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

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

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

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

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

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
85 90 95

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
115 120 125

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

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
145 150 155 160

Asp Leu Val Glu Ser Asn Tyr Pro Phe Ala Ile Asp Pro Met Pro Asn
165 170 175

Leu Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser
180 185 190

Leu Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly
195 200 205
Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro
210 215 220
Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

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

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

355 360 365
Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380
Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400
Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415
Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 14

<211> 410

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes

<400> 14

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

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

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

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

50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

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

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

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

115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
130 135 140

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

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
225 230 235 240
Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu

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

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

370 375 380
Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg Cys
385 390 395 400
Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
405 410

<210> 15
<211> 427
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ADI [full length] D277A mut w/ leader
<400> 15
Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln

1 5 10 15

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

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

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

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

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys
275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe
290 295 300

Thr Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr
305 310 315 320

Tyr Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Lys Gly Asp Leu Ala
325 330 335

Glu Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg
340 345 350

Cys Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp
355 360 365

Gly Ser Asn Thr Leu Thr Ile Ala Pro Gly Val Val Val Val Tyr Asn
370 375 380

Arg Asn Thr Ile Thr Asn Ala Ile Leu Glu Ser Lys Gly Leu Lys Leu
385 390 395 400

Ile Lys Ile His Gly Ser Glu Leu Val Arg Gly Arg Gly Gly Pro Arg
405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 16

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

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

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met

195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu

210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp

225 230 235 240

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

245 250 255

Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe

260 265 270

Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

405 410

<210> 17

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (209)..(209)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

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

<400> 17

Met His His His His His His Gly Ser Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln
1 5 10 15
Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Xaa Leu

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

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

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

210 215 220
Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu
225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr
245 250 255
Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn
260 265 270
Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

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

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

405 410 415
Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile
420 425

<210> 18
<211> 410
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ADI [full length] WT nnAA (e.g. pAMF) K15/K193/K316 w/o leader
<220><221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (192)..(192)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (315)..(315)

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

<400> 18

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

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

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

Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu Gly
50 55 60

Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val Thr
65 70 75 80

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

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

Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val Gln
115 120 125

Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr Asp
130 135 140

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

Tyr Phe Thr Arg Asp Pro Phe Ala Thr Ile Gly Thr Gly Val Ser Leu
165 170 175

Asn His Met Phe Ser Glu Thr Arg Asn Arg Glu Thr Leu Tyr Gly Xaa
180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met
195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp
225 230 235 240

Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn Leu
245 250 255

Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe
260 265 270

Met His Leu Asp Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr
275 280 285

Ile His Pro Glu Ile Glu Gly Asp Leu Arg Val Tyr Ser Val Thr Tyr
290 295 300

Asp Asn Glu Glu Leu His Ile Val Glu Glu Xaa Gly Asp Leu Ala Glu
305 310 315 320

Leu Leu Ala Ala Asn Leu Gly Val Glu Lys Val Asp Leu Ile Arg Cys
325 330 335

Gly Gly Asp Asn Leu Val Ala Ala Gly Arg Glu Gln Trp Asn Asp Gly
340 345 350

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

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

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

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

<210> 19

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (209)..(209)

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

<220

><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

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

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro

210 215 220

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr

245 250 255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn

260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420 425

<210> 20

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (192)..(192)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (315)..(315)

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

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro Met

195 200 205

Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu Leu

210 215 220

Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr Asp

225 230 235 240

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

245 250 255

Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys Phe

260 265 270

Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe Thr

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

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

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

<210> 21

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

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

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

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

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

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

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175
Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 22
<211> 174
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22
Ser Ser Gln Ile Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15
Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30
Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45
His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

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

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met
130 135 140
Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly
145 150 155 160
Leu Gly Glu Tyr Leu Phe Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
165 170
<210> 23

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

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

<400> 23

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

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

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

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

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

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

180

<210> 24

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

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

<400> 24

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

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

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

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

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

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

165 170

<210> 25

<211> 536

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> eCRM - nnAA (e.g. pAMF) mutant

<220><221> MOD_RES

<222> (34)..(34)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (213)..(213)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (245)..(245)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (265)..(265)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (386)..(386)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (527)..(527)

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

<400> 25

Met Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu
1 5 10 15

Asn Phe Ser Ser Tyr His Gly Thr Lys Pro Gly Tyr Val Asp Ser Ile
20 25 30

Gln Xaa Gly Ile Gln Lys Pro Lys Ser Gly Thr Gln Gly Asn Tyr Asp
35 40 45

Asp Asp Trp Lys Glu Phe Tyr Ser Thr Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Ala
50 55 60

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

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

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

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

Leu Ser Ile Leu Pro Gly Ile Gly Ser Val Met Gly Ile Ala Asp Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Ser Leu Met Val Ala Gln Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu Leu Val

340 345 350

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

355 360 365

Phe Gln Val Val His Asn Ser Tyr Asn Arg Pro Ala Tyr Ser Pro Gly

370 375 380

His Xaa Thr Gln Pro Phe Leu His Asp Gly Tyr Ala Val Ser Trp Asn

385 390 395 400

Thr Val Glu Asp Ser Ile Ile Arg Thr Gly Phe Gln Gly Glu Ser Gly

405 410 415

His Asp Ile Lys Ile Thr Ala Glu Asn Thr Pro Leu Pro Ile Ala Gly

420 425 430

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

435 440 445

Thr His Ile Ser Val Asn Gly Arg Lys Ile Arg Met Arg Cys Arg Ala

450 455 460

Ile Asp Gly Asp Val Thr Phe Cys Arg Pro Lys Ser Pro Val Tyr Val

465 470 475 480

Gly Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser

485 490 495

Ser Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val

500 505 510

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

515 520 525

Ser Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser

530 535

<210> 26

<211> 427

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (139)..(139)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (263)..(263)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (332)..(332)

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

<400> 26

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

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

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

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

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

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
85 90 95

Thr Pro Glu Ile Arg Glu Ala Phe Ile Asp Glu Tyr Leu Ser Glu Ala
100 105 110

Asn Ile Arg Gly Arg Ala Thr Lys Lys Ala Ile Arg Glu Leu Leu Met
115 120 125

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Xaa Thr Met Ala Gly Val
130 135 140

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro

210 215 220

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

225 230 235 240

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr

245 250 255

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Xaa Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn

260 265 270

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

275 280 285

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

420 425

<210> 27

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (123)..(123)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (247)..(247)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

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

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro

195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr

225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Xaa Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn

245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

260 265 270

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

405 410

<210> 28

<211> 157

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sfb1 repeat region with leader

<400> 28

Met His His His His His His Gly Ser Gly Val Glu Thr Glu Asp Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Gln Thr Thr Pro Gln Val

35 40 45

Glu Thr Glu Asp Thr Lys Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser

50 55 60

Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr Lys Asp Thr Gln Thr

100 105 110

Gly Met Ser Gly Gln Thr Thr Pro Gln Val Glu Thr Glu Asp Thr Lys

115 120 125

Glu Pro Gly Val Leu Met Gly Gly Gln Ser Glu Ser Val Glu Phe Thr

130 135 140

Lys Asp Thr Gln Thr Gly Met Ser Gly Phe Ser Glu Thr

145 150 155

<210> 29

<211> 946

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

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

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp

85 90 95

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser

370 375 380

Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met

435 440 445

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr

485 490 495

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn

500 505 510

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser

515 520 525

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

530 535 540

Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr

545 550 555 560

Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr

565 570 575

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

580 585 590

Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro

595 600 605

Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp

610 615 620

Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp

625 630 635 640

Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu

645 650 655

Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala

660 665 670

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

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

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

820 825 830
Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
835 840 845
Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
850 855 860
Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
865 870 875 880
Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp

885 890 895
Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr
900 905 910
Val Pro Leu Lys Met Ser Asp Phe Thr Tyr Val Val Glu Asp Met Ala

915 920 925

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

930 935 940

Asn Lys

945

<210> 30

<211> 946

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Trp Val Asn Asp Lys Val Ala Tyr Tyr His Asp Tyr Ser Lys Asp

85 90 95

Gly Lys Thr Ala Val Asp Gln Glu His Gly Thr His Val Ser Gly Ile

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Val Asn Leu Gly Ala Lys Val Ile Asn Met Ser Phe Gly Asn Ala
165 170 175

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

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

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

Asn Ala Thr Pro Lys Val Leu Pro Thr Ala Ser Gly Thr Lys Leu Ser
370 375 380
Arg Phe Ser Ser Trp Gly Leu Thr Ala Asp Gly Asn Ile Lys Pro Asp
385 390 395 400
Ile Ala Ala Pro Gly Gln Asp Ile Leu Ser Ser Val Ala Asn Asn Lys

405 410 415

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

420 425 430

Ile Met Gly Leu Leu Gln Lys Gln Tyr Glu Thr Gln Tyr Pro Asp Met

435 440 445

Thr Pro Ser Glu Arg Leu Asp Leu Ala Lys Lys Val Leu Met Ser Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

Gln Gln Gly Ala Gly Ala Val Asp Ala Lys Lys Ala Ser Ala Ala Thr

485 490 495

Met Tyr Val Thr Asp Lys Asp Asn Thr Ser Ser Lys Val His Leu Asn

500 505 510

Asn Val Ser Asp Thr Phe Glu Val Thr Val Thr Val His Asn Lys Ser

515 520 525

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

530 535 540

Val Asp Gly Lys His Phe Ala Leu Ala Pro Lys Ala Leu Tyr Glu Thr

545 550 555 560

Ser Trp Gln Lys Ile Thr Ile Pro Ala Asn Ser Ser Lys Gln Val Thr

565 570 575

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

580 585 590

Lys Asn Gly Tyr Phe Leu Glu Gly Phe Val Arg Phe Lys Gln Asp Pro

595 600 605

Thr Lys Glu Glu Leu Met Ser Ile Pro Tyr Ile Gly Phe Arg Gly Asp

610 615 620

Phe Gly Asn Leu Ser Ala Leu Glu Lys Pro Ile Tyr Asp Ser Lys Asp

625 630 635 640

Gly Ser Ser Tyr Tyr His Glu Ala Asn Ser Asp Ala Lys Asp Gln Leu

645 650 655

Asp Gly Asp Gly Leu Gln Phe Tyr Ala Leu Lys Asn Asn Phe Thr Ala
660 665 670
Leu Thr Thr Glu Ser Asn Pro Trp Thr Ile Ile Lys Ala Val Lys Glu
675 680 685

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

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

Tyr Arg Val Arg Tyr Thr Pro Ile Ser Ser Gly Ala Lys Glu Gln His
820 825 830
Thr Asp Phe Asp Val Ile Val Asp Asn Thr Thr Pro Glu Val Ala Thr
835 840 845
Ser Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asp Arg Arg Leu Thr Leu Ala Ser Lys
850 855 860
Pro Lys Thr Ser Gln Pro Val Tyr Arg Glu Arg Ile Ala Tyr Thr Tyr
865 870 875 880

Met Asp Glu Asp Leu Pro Thr Thr Glu Tyr Ile Ser Pro Asn Glu Asp
885 890 895
Gly Thr Phe Thr Leu Pro Glu Glu Ala Glu Thr Met Glu Gly Ala Thr

900 905 910

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

915 920 925

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

930 935 940

Asn Lys

945

<210> 31

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO [79-571 fragment] WT w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

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

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

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

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490

<210> 32

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO [79-571 fragment] W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490

<210> 33

<211> 818

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] WT w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr

260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln

275 280 285

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

290 295 300

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

305 310 315 320

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val

325 330 335

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser

340 345 350

Tyr Lys Lys Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln

355 360 365

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

370 375 380

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn

385 390 395 400

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly

405 410 415

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val

435 440 445

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

450 455 460

Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn

465 470 475 480

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

485 490 495

Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile

500 505 510

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

515 520 525

Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln

530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala

610 615 620

Lys Lys Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn

625 630 635 640

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg

690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

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

805 810 815

Gln Arg

<210> 34

<211> 818

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-849 fragment] nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (256)..(256)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (355)..(355)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (626)..(626)

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

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa

245 250 255

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr

260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln

275 280 285

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

290 295 300

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

305 310 315 320

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val

325 330 335

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn

385 390 395 400

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly

405 410 415

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val

435 440 445

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

450 455 460

Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn

465 470 475 480

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

485 490 495

Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile

500 505 510

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

515 520 525

Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln

530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala

610 615 620

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn

625 630 635 640

Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala Asn Glu Lys Glu Tyr Arg

690 695 700

His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro Asp Leu Gln Val Ala Pro

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

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

770 775 780

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

785 790 795 800

Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser Asp Val Asp Glu Ser Thr
805 810 815
Gln Arg

<210> 35
<211> 411
<212
> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ADI [full length] WT w/o leader, with G overhang from cleavage
<400> 35
Gly Thr Ala Gln Thr Pro Ile His Val Tyr Ser Glu Ile Gly Lys Leu
1 5 10 15
Lys Lys Val Leu Leu His Arg Pro Gly Lys Glu Ile Glu Asn Leu Met
20 25 30
Pro Asp Tyr Leu Glu Arg Leu Leu Phe Asp Asp Ile Pro Phe Leu Glu
35 40 45

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

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

165 170 175

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

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

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

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

<210> 36

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> DI [full length] D277A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 36

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

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

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

Lys Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro

195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr

225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn

245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

260 265 270

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

405 410

<210> 37

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (193)..(193)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

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

<400> 37

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

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

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

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

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

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

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

Gln Lys Ser Glu Leu Pro Glu Ile Pro Ala Ser Glu Lys Gly Leu Thr
130 135 140

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

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

165 170 175

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

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

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

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

<210> 38

<211> 411

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADI (mut5) [full length] D277A nnAA (e.g. pAMF) mutant w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (15)..(15)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (193)..(193)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (316)..(316)

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

<400> 38

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

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

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

Asp Ala Gln Lys Glu His Asp Ala Phe Ala Gln Ala Leu Arg Asp Glu
50 55 60

Gly Ile Glu Val Leu Tyr Leu Glu Thr Leu Ala Ala Glu Ser Leu Val
65 70 75 80

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

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

Ala Ile Glu Asp Asn Gln Glu Leu Ile Glu Lys Thr Met Ala Gly Val
115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Xaa Tyr Ile Phe Thr His His Pro Ile Tyr Gly Gly Gly Lys Val Pro

195 200 205

Met Val Tyr Asp Arg Asn Glu Thr Thr Arg Ile Glu Gly Gly Asp Glu

210 215 220

Leu Val Leu Ser Lys Asp Val Leu Ala Val Gly Ile Ser Gln Arg Thr

225 230 235 240

Asp Ala Ala Ser Ile Glu Lys Leu Leu Val Asn Ile Phe Lys Gln Asn

245 250 255

Leu Gly Phe Lys Lys Val Leu Ala Phe Glu Phe Ala Asn Asn Arg Lys

260 265 270

Phe Met His Leu Ala Thr Val Phe Thr Met Val Asp Tyr Asp Lys Phe

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Cys Met Ser Met Pro Phe Glu Arg Glu Asp Ile

405 410

<210> 39

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp Ile Lys Lys Pro Ala Glu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp

180

<210> 40

<211> 174

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu His Ala Leu Gly Ser Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe

115 120 125

Leu Glu Thr His Phe Leu Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met

130 135 140

Gly Asp His Leu Thr Asn Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly

145 150 155 160

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

165 170

<210> 41

<211> 184

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

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

<400> 41

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

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

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

Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser His Phe Phe Arg Glu Leu
50 55 60

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

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

Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met Lys Ala Ala Met Ala Leu
100 105 110

Glu Lys Lys Leu Asn Gln Ala Leu Leu Asp Leu His Ala Leu Gly Ser
115 120 125

Ala Arg Thr Asp Pro His Leu Cys Asp Phe Leu Glu Thr His Phe Leu
130 135 140

Asp Glu Glu Val Lys Leu Ile Lys Lys Met Gly Asp His Leu Thr Asn
145 150 155 160

Leu His Arg Leu Gly Gly Pro Glu Ala Gly Leu Gly Glu Tyr Leu Phe
165 170 175

Glu Arg Leu Thr Leu Lys His Asp
180

<210> 42

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

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

<400> 42

Ser Ser Gln Xaa Arg Gln Asn Tyr Ser Thr Asp Val Glu Ala Ala Val
1 5 10 15

Asn Ser Leu Val Asn Leu Tyr Leu Gln Ala Ser Tyr Thr Tyr Leu Ser
20 25 30

Leu Gly Phe Tyr Phe Asp Arg Asp Asp Val Ala Leu Glu Gly Val Ser
35 40 45

His Phe Phe Arg Glu Leu Ala Glu Glu Lys Arg Glu Gly Tyr Glu Arg
50 55 60

Leu Leu Lys Met Gln Asn Gln Arg Gly Gly Arg Ala Leu Phe Gln Asp
65 70 75 80

Ile Lys Lys Pro Ala Glu Asp Glu Trp Gly Lys Thr Pro Asp Ala Met
85 90 95

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

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

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

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

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

<210> 43

<211> 535

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> eCRM-nnAA (e.g. pAMF) mutant

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (212)..(212)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (244)..(244)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (264)..(264)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (385)..(385)

<223

> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (526)..(526)

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

<400> 43

Gly Ala Asp Asp Val Val Asp Ser Ser Lys Ser Phe Val Met Glu Asn
1 5 10 15

Phe Ser Ser Tyr His Gly Thr Lys Pro Gly Tyr Val Asp Ser Ile Gln
20 25 30

Xaa Gly Ile Gln Lys Pro Lys Ser Gly Thr Gln Gly Asn Tyr Asp Asp
35 40 45

Asp Trp Lys Glu Phe Tyr Ser Thr Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Ala Gly
50 55 60

Tyr Ser Val Asp Asn Glu Asn Pro Leu Ser Gly Lys Ala Gly Gly Val
65 70 75 80

Val Lys Val Thr Tyr Pro Gly Leu Thr Lys Val Leu Ala Leu Lys Val
85 90 95
Asp Asn Ala Glu Thr Ile Lys Lys Glu Leu Gly Leu Ser Leu Thr Glu
100 105 110

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

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

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

Ser Ile Leu Pro Gly Ile Gly Ser Val Met Gly Ile Ala Asp Gly Ala
305 310 315 320
Val His His Asn Thr Glu Glu Ile Val Ala Gln Ser Ile Ala Leu Ser

325 330 335

Ser Leu Met Val Ala Gln Ala Ile Pro Leu Val Gly Glu Leu Val Asp

340 345 350

Ile Gly Phe Ala Ala Tyr Asn Phe Val Glu Ser Ile Ile Asn Leu Phe

355 360 365

Gln Val Val His Asn Ser Tyr Asn Arg Pro Ala Tyr Ser Pro Gly His

370 375 380

Xaa Thr Gln Pro Phe Leu His Asp Gly Tyr Ala Val Ser Trp Asn Thr

385 390 395 400

Val Glu Asp Ser Ile Ile Arg Thr Gly Phe Gln Gly Glu Ser Gly His

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

His Ile Ser Val Asn Gly Arg Lys Ile Arg Met Arg Cys Arg Ala Ile

450 455 460

Asp Gly Asp Val Thr Phe Cys Arg Pro Lys Ser Pro Val Tyr Val Gly

465 470 475 480

Asn Gly Val His Ala Asn Leu His Val Ala Phe His Arg Ser Ser Ser

485 490 495

Glu Lys Ile His Ser Asn Glu Ile Ser Ser Asp Ser Ile Gly Val Leu

500 505 510

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

515 520 525

Leu Phe Phe Glu Ile Lys Ser

530 535

<210> 44

<211> 483

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC11) W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

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

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

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

450 455 460
Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser Lys Glu Ile Asn Val Asn Ile
465 470 475 480
Ser Gly Ser

<210> 45

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC21) fragment W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 45

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

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

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

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val
405 410 415
Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro
420 425 430
Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser Arg Asn Ile Arg Ile

435 440 445

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

450 455 460

Ile Asp Glu Arg Asp Val Lys Leu Ser

465 470

<210> 46

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC31) fragment W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

<210> 47
<211> 453
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SLO(deltaC41) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G

overhang from cleavage

<400> 47
Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

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

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

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

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

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

370 375 380

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

Met Ala Arg Glu Cys
450

<210> 48
<211> 443
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SLO(deltaC51) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage
<400> 48
Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

420 425 430

Phe Ser Thr Val Ile Pro Leu Gly Ala Asn Ser

435 440

<210> 49

<211> 433

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC61) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 49

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp Asn Asn Trp Tyr Ser Lys Thr Ser Pro

420 425 430

Phe

<210> 50

<211> 423

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC71) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 50

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly Lys Glu Val

405 410 415

Ile Thr Lys Arg Arg Trp Asp

420

<210> 51

<211> 413

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC81) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 51

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu Trp Asp Glu Ile Asn Tyr Asp Asp Lys Gly

405 410

<210> 52

<211> 403

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC91) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 52

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln Gly Ala Tyr Val Ala Gln Tyr

385 390 395 400

Glu Ile Leu

<210> 53

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of W535A w/o leader, with G overhang from cleavage

<400> 53

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 54
<211> 393
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 54

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 55

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 1 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 55

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 56

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 2 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 56

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45
Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 57

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)
mutant 3 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221
> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 57

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 58

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF) mutant 4 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 58

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 59

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 5 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222

> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 59

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 60

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 6 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 60

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 61

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 7 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 61

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 62
<211> 393
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)
mutant 8 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 62

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 63

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 9 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 63

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 64

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)
mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 64

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 65

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 65

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 66

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 66

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 67

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 67

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 68

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)
mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 68

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Lys
100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390

<210> 69
<211> 393
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF) mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES
<222> (35)..(35)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (298)..(298)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<400> 69

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 70

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 70

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270
Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335
Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390
<210> 71

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222

> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 71

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110
Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 72

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)
mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<400> 72

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60
Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80
Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95
Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125
Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140
Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160
Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Lys Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Lys Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 73

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222

> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (298)..(298)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 73

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys

1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile

20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala

35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Lys Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 74

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (74)..(74)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 74

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Lys Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Lys Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 75

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (112)..(112)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (195)..(195)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (246)..(246)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (280)..(280)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (330)..(330)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES
<222> (387)..(387)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<400> 75

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15
Lys Ser Glu Asp Xaa Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30
Asn Asp Lys Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys

50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Xaa Lys Lys Lys Asn Ile Asn

65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr

85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa

100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp

115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr

130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His

145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr

165 170 175

Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val

180 185 190

Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile

195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe

210 215 220

Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp

225 230 235 240

Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu

245 250 255

Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe

260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe

275 280 285

Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Lys Thr Asn Gly Lys Tyr Ser

290 295 300

Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp

305 310 315 320

Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg

325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr

340 345 350

Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly

355 360 365

Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr

370 375 380

Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln

385 390

<210> 76

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SLO(deltaC101) fragment of SLO(deltaC11) - nnAA (e.g. pAMF)

mutant 10 - w/o leader, with G overhang from cleavage

<220><221> MOD_RES

<222> (35)..(35)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (112)..(112)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (195)..(195)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (246)..(246)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (280)..(280)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (298)..(298)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (330)..(330)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (387)..(387)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 76

Gly Ala Pro Lys Glu Met Pro Leu Glu Ser Ala Glu Lys Glu Glu Lys
1 5 10 15

Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Ser Glu Glu Asp His Thr Glu Glu Ile
20 25 30

Asn Asp Xaa Ile Tyr Ser Leu Asn Tyr Asn Glu Leu Glu Val Leu Ala
35 40 45

Lys Asn Gly Glu Thr Ile Glu Asn Phe Val Pro Lys Glu Gly Val Lys
50 55 60

Lys Ala Asp Lys Phe Ile Val Ile Glu Arg Lys Lys Lys Asn Ile Asn
65 70 75 80

Thr Thr Pro Val Asp Ile Ser Ile Ile Asp Ser Val Thr Asp Arg Thr
85 90 95

Tyr Pro Ala Ala Leu Gln Leu Ala Asn Lys Gly Phe Thr Glu Asn Xaa
100 105 110

Pro Asp Ala Val Val Thr Lys Arg Asn Pro Gln Lys Ile His Ile Asp
115 120 125

Leu Pro Gly Met Gly Asp Lys Ala Thr Val Glu Val Asn Asp Pro Thr
130 135 140

Tyr Ala Asn Val Ser Thr Ala Ile Asp Asn Leu Val Asn Gln Trp His
145 150 155 160

Asp Asn Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Leu Pro Ala Arg Thr Gln Tyr Thr
165 170 175
Glu Ser Met Val Tyr Ser Lys Ser Gln Ile Glu Ala Ala Leu Asn Val
180 185 190
Asn Ser Xaa Ile Leu Asp Gly Thr Leu Gly Ile Asp Phe Lys Ser Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Glu Lys Lys Val Met Ile Ala Ala Tyr Lys Gln Ile Phe
210 215 220
Tyr Thr Val Ser Ala Asn Leu Pro Asn Asn Pro Ala Asp Val Phe Asp
225 230 235 240
Lys Ser Val Thr Phe Xaa Glu Leu Gln Arg Lys Gly Val Ser Asn Glu
245 250 255
Ala Pro Pro Leu Phe Val Ser Asn Val Ala Tyr Gly Arg Thr Val Phe
260 265 270

Val Lys Leu Glu Thr Ser Ser Xaa Ser Asn Asp Val Glu Ala Ala Phe
275 280 285
Ser Ala Ala Leu Lys Gly Thr Asp Val Xaa Thr Asn Gly Lys Tyr Ser
290 295 300
Asp Ile Leu Glu Asn Ser Ser Phe Thr Ala Val Val Leu Gly Gly Asp
305 310 315 320
Ala Ala Glu His Asn Lys Val Val Thr Xaa Asp Phe Asp Val Ile Arg
325 330 335

Asn Val Ile Lys Asp Asn Ala Thr Phe Ser Arg Lys Asn Pro Ala Tyr
340 345 350
Pro Ile Ser Tyr Thr Ser Val Phe Leu Lys Asn Asn Lys Ile Ala Gly
355 360 365
Val Asn Asn Arg Thr Glu Tyr Val Glu Thr Thr Ser Thr Glu Tyr Thr
370 375 380
Ser Gly Xaa Ile Asn Leu Ser His Gln
385 390
<210> 77
<211> 683

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-714 fragment] nnAA (e.g., pAMF) mutant w/o leader

<220><221> MOD_RES

<222> (33)..(33)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (256)..(256)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (355)..(355)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (626)..(626)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 77

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
20 25 30

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
50 55 60

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
65 70 75 80

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
85 90 95

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
115 120 125

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
130 135 140

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
145 150 155 160
Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
165 170 175
Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala
180 185 190
Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu
195 200 205

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
210 215 220
Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn
225 230 235 240
Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa
245 250 255
Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
275 280 285
Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp
290 295 300
Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
305 310 315 320
Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
325 330 335

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
340 345 350
Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
355 360 365
Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile

370 375 380

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn

385 390 395 400

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly

405 410 415

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val

435 440 445

Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser

450 455 460

Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn

465 470 475 480

Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly

485 490 495

Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile

500 505 510

Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala

515 520 525

Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln

530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn

545 550 555 560

Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu

565 570 575

Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp

580 585 590

Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr

595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala

610 615 620

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
625 630 635 640
Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
645 650 655

Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ala Ala
660 665 670
Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala Thr
675 680

<210> 78
<211> 668
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SpyAD [33-699 fragment] nnAA (e.g., pAMF) mutant w/o leader
<220><221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (256)..(256)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES
<222> (355)..(355)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (626)..(626)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<400> 78
Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
1 5 10 15
Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
20 25 30
Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
50 55 60
Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
65 70 75 80
Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
85 90 95
Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
115 120 125
Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
130 135 140
Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
145 150 155 160
Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
165 170 175

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala
180 185 190
Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu
195 200 205
Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
210 215 220
Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn
225 230 235 240

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa
245 250 255
Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr
260 265 270
Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln
275 280 285
Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

290 295 300

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala
305 310 315 320
Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val
325 330 335
Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser
340 345 350
Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln
355 360 365

Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile
370 375 380
Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn
385 390 395 400
Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly
405 410 415
Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp
420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val
435 440 445
Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser
450 455 460
Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn
465 470 475 480
Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly
485 490 495

Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
500 505 510
Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
515 520 525
Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
545 550 555 560

Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
565 570 575
Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
580 585 590
Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
595 600 605
Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
610 615 620

Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
625 630 635 640
Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys Gln Asp Leu
645 650 655
Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala Gln Glu
660 665

<210> 79
<211> 653
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SpyAD [33-684 fragment] nnAA (e.g., pAMF) mutant w/o leader
<220><
221> MOD_RES
<222> (33)..(33)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (256)..(256)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (355)..(355)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (626)..(626)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 79

Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser
1 5 10 15

Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala
20 25 30

Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala
35 40 45

Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile
50 55 60

Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser
65 70 75 80

Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu
85 90 95

Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr
100 105 110

Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu
115 120 125

Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp
130 135 140

Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn
145 150 155 160

Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala
165 170 175

Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala
180 185 190

Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu
195 200 205

Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser
210 215 220

Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn

225 230 235 240

Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa

245 250 255

Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr

260 265 270

Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln

275 280 285

Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp

290 295 300

Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala

305 310 315 320

Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val

325 330 335

Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser

340 345 350

Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln

355 360 365

Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile

370 375 380

Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn

385 390 395 400

Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly

405 410 415

Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp

420 425 430

His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val

435 440 445

Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser

450 455 460

Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn

465 470 475 480

Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly
485 490 495
Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile
500 505 510
Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala
515 520 525
Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln
530 535 540

Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn
545 550 555 560
Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu
565 570 575
Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp
580 585 590
Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr
595 600 605

Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala
610 615 620
Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys Leu Asn Pro Asn
625 630 635 640
Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp Asn Thr Lys
645 650

<210> 80
<211> 840
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> SpyAD [33-849 fragment] nnAA (e.g ., pAMF)mutant w/ long leader

<220><221> MOD_RES
<222> (55)..(55)
<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)
<220><221> MOD_RES
<222> (278)..(278)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (377)..(377)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> MOD_RES

<222> (648)..(648)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 80

Met His His His His His His His His His His His Gly Ser Gly
1 5 10 15

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser
20 25 30

Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro
35 40 45

Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr
50 55 60

Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr
65 70 75 80

Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu
85 90 95

Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala
100 105 110

Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu
115 120 125

Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His
130 135 140

Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu
145 150 155 160

Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln
165 170 175

Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr
180 185 190

Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu
195 200 205
Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys
210 215 220

Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu
225 230 235 240
Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln
245 250 255
Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro
260 265 270
Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala
275 280 285

Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys
290 295 300
Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp
305 310 315 320
Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn
325 330 335
Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln
340 345 350

Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala
355 360 365
Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro
370 375 380
Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly
385 390 395 400
Pro His Asp Lys Thr Ile Ile Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu
405 410 415

Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp
420 425 430
Val His Thr Val Asn Gly Ile Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys

435 440 445

Tyr Met Leu Phe Thr Asp His Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala

450 455 460

Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr

465 470 475 480

Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val

485 490 495

Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr

500 505 510

Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly

515 520 525

Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu

530 535 540

Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala

545 550 555 560

Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys

565 570 575

Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys

580 585 590

Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln

595 600 605

Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys

610 615 620

Ala Ala Leu His Gln Thr Glu Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg

625 630 635 640

Val Thr Ala Leu Val Ala Lys Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp

645 650 655

Phe Lys Leu Asn Pro Asn Arg Leu Gln Val Ile Arg Glu Arg Ile Asp

660 665 670

Asn Thr Lys Gln Asp Leu Ala Lys Thr Thr Ser Ser Leu Leu Asn Ala

675 680 685

Gln Glu Ala Leu Ala Ala Leu Gln Ala Lys Gln Ser Ser Leu Glu Ala
690 695 700

Thr Ile Ala Thr Thr Glu His Gln Leu Thr Leu Leu Lys Thr Leu Ala
705 710 715 720

Asn Glu Lys Glu Tyr Arg His Leu Asp Glu Asp Ile Ala Thr Val Pro
725 730 735

Asp Leu Gln Val Ala Pro Pro Leu Thr Gly Val Lys Pro Leu Ser Tyr
740 745 750

Ser Lys Ile Asp Thr Thr Pro Leu Val Gln Glu Met Val Lys Glu Thr
755 760 765

Lys Gln Leu Leu Glu Ala Ser Ala Arg Leu Ala Ala Glu Asn Thr Ser
770 775 780

Leu Val Ala Glu Ala Leu Val Gly Gln Thr Ser Glu Met Val Ala Ser
785 790 795 800

Asn Ala Ile Val Ser Lys Ile Thr Ser Ser Ile Thr Gln Pro Ser Ser
805 810 815

Lys Thr Ser Tyr Gly Ser Gly Ser Ser Thr Thr Ser Asn Leu Ile Ser
820 825 830

Asp Val Asp Glu Ser Thr Gln Arg
835 840

<210> 81

<211> 562

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-594 fragment] nnAA (e.g., pAMF)mutant w/long leader

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (255)..(255)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (354)..(354)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 81

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn
1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa
20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu
35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn
50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala
65 70 75 80

Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu
85 90 95

Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu
100 105 110

Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser
115 120 125

Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu
130 135 140

Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala
145 150 155 160

Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn
165 170 175

Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp
180 185 190

Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu
195 200 205

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg
210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn

225 230 235 240

Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu

245 250 255

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys

260 265 270

Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu

275 280 285

Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro

290 295 300

Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala

305 310 315 320

His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr

325 330 335

Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr

340 345 350

Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro

355 360 365

Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile

370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met

385 390 395 400

Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile

405 410 415

Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His

420 425 430

Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp

435 440 445

Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn

450 455 460

Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile

465 470 475 480

Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser

485 490 495

Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala

500 505 510

Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile

515 520 525

His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu

530 535 540

Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu

545 550 555 560

Gln Val

<210> 82

<211> 625

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-657 fragment] nnAA (e.g., pAMF)mutant w/long leader

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (255)..(255)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (354)..(354)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (625)..(625)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 82

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn

1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa

20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu

35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn

50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala

65 70 75 80

Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu

85 90 95

Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu

100 105 110

Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser

115 120 125

Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu

130 135 140

Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala

145 150 155 160

Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn

165 170 175

Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp

180 185 190

Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu

195 200 205

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg

210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn

225 230 235 240

Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu

245 250 255

Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270
Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu
275 280 285
Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300
Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
305 310 315 320

His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
325 330 335
Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr
340 345 350
Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
355 360 365
Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
370 375 380

Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
385 390 395 400
Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile
405 410 415
Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His
420 425 430
Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp
435 440 445

Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn
450 455 460
Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile
465 470 475 480
Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser
485 490 495
Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala

500 505 510

Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile
515 520 525
His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu
530 535 540
Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu
545 550 555 560
Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu
565 570 575

Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln
580 585 590
Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr Glu
595 600 605
Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys
610 615 620
Xaa
625

<210> 83

<211> 635

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SpyAD [33-667 fragment] nnAA (e.g., pAMF)mutant w/long leader

<220><221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (255)..(255)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (354)..(354)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<220><221> misc_feature

<222> (625)..(625)

<223> Xaa = nnAA (e.g pAMF)

<400> 83

Gln Val Lys Ala Asp Asp Arg Ala Ser Gly Glu Thr Lys Ala Ser Asn
1 5 10 15

Thr His Asp Asp Ser Leu Pro Lys Pro Glu Thr Ile Gln Glu Ala Xaa
20 25 30

Ala Thr Ile Asp Ala Val Glu Lys Thr Leu Ser Gln Gln Lys Ala Glu
35 40 45

Leu Thr Glu Leu Ala Thr Ala Leu Thr Lys Thr Thr Ala Glu Ile Asn
50 55 60

His Leu Lys Glu Gln Gln Asp Asn Glu Gln Lys Ala Leu Thr Ser Ala
65 70 75 80

Gln Glu Ile Tyr Thr Asn Thr Leu Ala Ser Ser Glu Glu Thr Leu Leu
85 90 95

Ala Gln Gly Ala Glu His Gln Arg Glu Leu Thr Ala Thr Glu Thr Glu
100 105 110

Leu His Asn Ala Gln Ala Asp Gln His Ser Lys Glu Thr Ala Leu Ser
115 120 125

Glu Gln Lys Ala Ser Ile Ser Ala Glu Thr Thr Arg Ala Gln Asp Leu
130 135 140

Val Glu Gln Val Lys Thr Ser Glu Gln Asn Ile Ala Lys Leu Asn Ala
145 150 155 160

Met Ile Ser Asn Pro Asp Ala Ile Thr Lys Ala Ala Gln Thr Ala Asn
165 170 175

Asp Asn Thr Lys Ala Leu Ser Ser Glu Leu Glu Lys Ala Lys Ala Asp
180 185 190

Leu Glu Asn Gln Lys Ala Lys Val Lys Lys Gln Leu Thr Glu Glu Leu
195 200 205

Ala Ala Gln Lys Ala Ala Leu Ala Glu Lys Glu Ala Glu Leu Ser Arg
210 215 220

Leu Lys Ser Ser Ala Pro Ser Thr Gln Asp Ser Ile Val Gly Asn Asn
225 230 235 240
Thr Met Lys Ala Pro Gln Gly Tyr Pro Leu Glu Glu Leu Lys Xaa Leu
245 250 255
Glu Ala Ser Gly Tyr Ile Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Asn Tyr Tyr Lys
260 265 270
Glu His Ala Asp Gln Ile Ile Ala Lys Ala Ser Pro Gly Asn Gln Leu

275 280 285
Asn Gln Tyr Gln Asp Ile Pro Ala Asp Arg Asn Arg Phe Val Asp Pro
290 295 300
Asp Asn Leu Thr Pro Glu Val Gln Asn Glu Leu Ala Gln Phe Ala Ala
305 310 315 320
His Met Ile Asn Ser Val Arg Arg Gln Leu Gly Leu Pro Pro Val Thr
325 330 335
Val Thr Ala Gly Ser Gln Glu Phe Ala Arg Leu Leu Ser Thr Ser Tyr

340 345 350
Lys Xaa Thr His Gly Asn Thr Arg Pro Ser Phe Val Tyr Gly Gln Pro
355 360 365
Gly Val Ser Gly His Tyr Gly Val Gly Pro His Asp Lys Thr Ile Ile
370 375 380
Glu Asp Ser Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Arg Asn Asp Asp Asn Met
385 390 395 400
Tyr Glu Asn Ile Gly Ala Phe Asn Asp Val His Thr Val Asn Gly Ile

405 410 415
Lys Arg Gly Ile Tyr Asp Ser Ile Lys Tyr Met Leu Phe Thr Asp His
420 425 430
Leu His Gly Asn Thr Tyr Gly His Ala Ile Asn Phe Leu Arg Val Asp
435 440 445
Lys His Asn Pro Asn Ala Pro Val Tyr Leu Gly Phe Ser Thr Ser Asn
450 455 460
Val Gly Ser Leu Asn Glu His Phe Val Met Phe Pro Glu Ser Asn Ile

465 470 475 480

Ala Asn His Gln Arg Phe Asn Lys Thr Pro Ile Lys Ala Val Gly Ser

485 490 495

Thr Lys Asp Tyr Ala Gln Arg Val Gly Thr Val Ser Asp Thr Ile Ala

500 505 510

Ala Ile Lys Gly Lys Val Ser Ser Leu Glu Asn Arg Leu Ser Ala Ile

515 520 525

His Gln Glu Ala Asp Ile Met Ala Ala Gln Ala Lys Val Ser Gln Leu

530 535 540

Gln Gly Lys Leu Ala Ser Thr Leu Lys Gln Ser Asp Ser Leu Asn Leu

545 550 555 560

Gln Val Arg Gln Leu Asn Asp Thr Lys Gly Ser Leu Arg Thr Glu Leu

565 570 575

Leu Ala Ala Lys Ala Lys Gln Ala Gln Leu Glu Ala Thr Arg Asp Gln

580 585 590

Ser Leu Ala Lys Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu His Gln Thr Glu

595 600 605

Ala Leu Ala Glu Gln Ala Ala Ala Arg Val Thr Ala Leu Val Ala Lys

610 615 620

Xaa Ala His Leu Gln Tyr Leu Arg Asp Phe Lys

625 630 635