



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년12월07일
(11) 등록번호 10-2187714
(24) 등록일자 2020년12월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/78 (2006.01) A61K 38/39 (2019.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01) C07K 14/765 (2006.01)
C07K 14/79 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01) GOIN 33/74 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/78 (2013.01)
A61K 38/39 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7009067
(22) 출원일자(국제) 2013년09월12일
심사청구일자 2018년09월12일
(85) 번역문제출일자 2015년04월08일
(65) 공개번호 10-2015-0054938
(43) 공개일자 2015년05월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/059458
(87) 국제공개번호 WO 2014/043344
국제공개일자 2014년03월20일
- (30) 우선권주장
61/700,697 2012년09월13일 미국(US)
61/780,005 2013년03월13일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
W02011130354 A1
W02011140086 A1
W02010070094 A1
- (73) 특허권자
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000
- (72) 발명자
클로드, 샤론
미국 메사추세츠주 02453 월섬 비버 스트리트 100
잉글, 린다
미국 메사추세츠주 01701 프레이밍햄 랜디 로드 19
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 김경미

(54) 발명의 명칭 미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴 기반 스캐폴드 도메인 단백질

(57) 요약

본 발명은 미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴-기반 스캐폴드 도메인 단백질에 관한 것이다. 본 발명은 또한 근육 이영양증, 악액질, 근육감소증, 골관절염, 골다공증, 당뇨병, 비만, COPD, 만성 신장 질환, 심부전, 심근경색 및 섬유증을 치료하기 위한 치료 용도에서의 상기 단백질의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 단백질을 포함하는 세포, 상기 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드, 및 상기 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/6811 (2017.08)
C07K 14/435 (2013.01)
C07K 14/765 (2013.01)
C07K 14/79 (2013.01)
C07K 16/18 (2013.01)
C07K 16/46 (2013.01)
G01N 33/74 (2013.01)

(72) 발명자

리포브세크, 다사

미국 메사추세츠주 02453 월섬 비버 스트리트 100

마디레디, 말라비

미국 뉴저지주 08534 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드 311

레이크스트로우, 진저, 차오

미국 메사추세츠주 02144 소머빌 홀 애비뉴 65

스웨인, 조안나

미국 메사추세츠주 02453 월섬 비버 스트리트 100

자오, 웬준

미국 뉴저지주 08534 페닝턴 페닝턴-록키 힐 로드 311

웨이, 후이

미국 뉴저지주 08543 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드 브리스톨-마이애스 스쿼 컴퍼니 내

얌니우크, 아론, 피.

미국 뉴저지주 08543 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드 브리스톨-마이애스 스쿼 컴퍼니 내

라마무르티, 비드야산카르

인도 560100 방갈로르 일렉트로닉 시티 닐라드리
 로드 쿡코드 실리콘 밸리 체트17 신첸 인터내셔널
 리미티드

코치히, 알렉산더, 티.

미국 뉴저지주 08543 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드 브리스톨-마이애스 스쿼 컴퍼니 내

코벳, 마틴, 제이.

미국 뉴저지주 08543 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드 브리스톨-마이애스 스쿼 컴퍼니 내

크리스텍, 스탠리, 리차드, 주니어

미국 뉴저지주 08543 프린스턴 루트 206 앤드 프로
 빈스 라인 로드 브리스톨-마이애스 스쿼 컴퍼니 내

명세서

청구범위

청구항 1

미오스타틴에 결합하고 AB, BC, CD, DE, EF 및 FG 루프를 포함하는 피브로넥틴 유형 III 제10 (¹⁰Fn3) 도메인을 포함하는 폴리펩티드이며, 여기서 BC, DE 및 FG 루프는 각각 서열 34, 39 및 75의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, ¹⁰Fn3 도메인이 서열 331의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, ¹⁰Fn3 도메인이 서열 307의 아미노산 서열을 포함하는 N-말단 연장 서열을 추가로 포함하는 것인, 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, ¹⁰Fn3 도메인이 아미노산 서열 EI를 포함하는 C-말단 연장 서열을 추가로 포함하는 것인, 폴리펩티드.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, ¹⁰Fn3 도메인이 서열 307의 아미노산 서열을 포함하는 N-말단 연장 서열, 및 아미노산 서열 EI를 포함하는 C-말단 연장 서열을 추가로 포함하는 것인, 폴리펩티드.

청구항 6

제5항에 있어서, 서열 281의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리에틸렌 글리콜, 시알산, Fc, Fc 단편, 트랜스페린, 혈청 알부민, 혈청 알부민 결합 단백질 및 혈청 이뮤노글로불린 결합 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 약동학적 (PK) 모이어티를 추가로 포함하는 폴리펩티드.

청구항 8

제7항에 있어서, PK 모이어티와 폴리펩티드가 서열 187의 아미노산 서열을 갖는 링커를 통해 연결되어 있는 것인 폴리펩티드.

청구항 9

제7항에 있어서, PK 모이어티가 Fc인 폴리펩티드.

청구항 10

제9항에 있어서, 서열 269의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.

청구항 11

제9항에 있어서, 서열 273의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.

청구항 12

서열 273의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드.

청구항 13

제1항 또는 제2항의 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 운동 뉴런 장애, 신경근육 장애 또는 신경계 장애를 치료하기 위한 조성물.

청구항 14

제11항의 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 운동 뉴런 장애, 신경근육 장애 또는 신경계 장애를 치료하기 위한 조성물.

청구항 15

제12항의 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 대상체에서 운동 뉴런 장애, 신경근육 장애 또는 신경계 장애를 치료하기 위한 조성물.

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 참조

[0002] 본원은 2012년 9월 13일에 출원된 발명의 명칭 "미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴 기반 스캐폴드 도메인 단백질(Fibronectin based scaffold domain proteins that bind to myostatin)"의 미국 가출원 번호 61/700,697 및 2013년 3월 13일에 출원된 발명의 명칭 "미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴 기반 스캐폴드 도메인 단백질(Fibronectin based scaffold domain proteins that bind to myostatin)"의 미국 가출원 번호 61/780,005를 우선권 주장하며, 이들 가출원 각각의 전문은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴-기반 스캐폴드 도메인 단백질에 관한 것이다. 본 발명은 또한 근

육 소모 질환 및 대사 장애를 치료하기 위한 치료 용도에서의 본 발명의 단백질의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 상기 단백질을 포함하는 세포, 상기 단백질 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 및 본 발명의 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 성장 및 분화 인자-8 (GDF-8)로도 또한 공지된 미오스타틴은 분비 성장 인자의 형질전환 성장 인자- β (TGF- β) 슈퍼패밀리의 구성원이다. 미오스타틴은 TGF- β 패밀리 단백질에 공통인 다음의 구조적 특징 모두를 갖는다: 분비 신호로서 작용하는 소수성 아미노-말단, 9개의 불변 시스테인 잔기 및 "RXXR" 푸린-유형 단백질분해 프로 세싱 부위. 단백질의 단백질분해적 절단은 미오스타틴의 생물학적 활성 형태인 동종이량체를 형성하는 C-말단 도메인이 생기게 한다 (Thies et al., Growth Factors 2001;18(4):251-9). 다중 척추동물 종으로부터의 미오 스타틴 아미노산 서열의 C-말단 단편의 정렬은 단백질이 인간, 원숭이, 소, 개, 마우스, 래트, 칠면조 및 닭에 서 고도로 보존된다는 것 (100% 동일성)을 밝혀냈다 (McPherron, et al. PNAS, 94:12457-61, 1997).
- [0006] 미오스타틴 발현은 주로 골격근 및 지방 조직에 제한되며, 여기서 미오스타틴은 골격근 발달의 음성 조절제임이 제시되었다 (Lee LS, Immunol Endocr Metab Agents Med Chem. 2010;10:183-194). 포유동물에서, 골격근은 미 오스타틴의 주요한 표적 조직인 것처럼 보이며, 여기서 미오스타틴은 세포-표면 수용체에 결합하여 근육 손실을 유도한다. 미오스타틴에서의 유전자 결핍을 갖는 마우스 및 소는 골격근 질량의 급격한 증가, 즉 "이중 근육화" 표현형을 나타내며, 따라서 근육 성장을 억제하는데 있어서 미오스타틴의 역할을 지지한다 (McPherron and Lee, Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Dec 23;100(26):15842-6). 벨지안 블루(Belgian Blue) 및 피에드 몬테세(Piedmontese) 소 품종에서의 근육 비대증은 소 미오스타틴 유전자의 제3 엑손 내의 과오 돌연변이에 기 인한다 (Bass et al., Domest Anim Endocrinol. 1999;17(2-3):191-7). 미오스타틴 억제제의 트랜스제닉 과다 발현은 또한 과다근육질을 유발한다. 이러한 동물에서의 증진된 근육 성장은 보다 크고 보다 무거운 근섬유를 유발하는 세포 수 또는 과형성 성장과 세포 크기 또는 비후성 성장 모두의 증가에 기인한다. 미오스타틴 돌연 변이로 인해 증가된 골격근 질량이 또한 인간에서 보고되었다. 미오스타틴 억제는 출생 후 기간과 성체 모두에 서 골격근 질량 및 강도를 효과적으로 증가시킨다.
- [0007] 골격근 질량 및 강도의 증가는 또한 신체 조성, 에너지 소비량, 글루코스 항상성 및 인슐린 요구사항에 양성적 으로 영향을 미치는 대사 적응과 연관된다. 유전적 및 약리학적 발견 모두는 미오스타틴이 에너지 대사를 조절 하고 그의 억제제가 비만 및 당뇨병을 비롯한 대사 질환의 진행을 유의하게 약화시킬 수 있는 것으로 나타낸다. 예를 들어, 미오스타틴 널 마우스는 동일한 연령의 야생형 마우스와 비교될 때 감소된 체지방 축적을 나타낸다 (McPherron & Lee, J. JCI 109:595, 2002). 이러한 체지방 감소는 감소된 지방세포 수 및 크기의 징후이며, 근발생에서 뿐만 아니라 지방생성에서 미오스타틴의 유의한 역할을 암시한다.
- [0008] 따라서, 미오스타틴은 근육 질량, 근육 강도 및/또는 대사의 증가로부터 이익을 얻을 장애 또는 상태 (예를 들 어, 근육 이영양증, 쇠약, 불사용 위축 및 약액질), 근육 소모와 연관된 장애 (예를 들어, 신경질환, 심부전 또는 심장 질환 및 간 질환), 및 대사 장애 (예를 들어, 제II형 당뇨병, 대사 증후군, 비만 및 골관절염)의 치료를 위한 치유적 또는 예방적 개입을 위한 바람직한 표적이다.
- [0009] 따라서, 예를 들어 대사 장애, 근육 소모 장애 및 무활동으로 인한 근육 손실의 치유적 치료를 위한, 미오스타 틴에 결합하는 개선된 피브로넥틴 도메인 스캐폴드 단백질을 얻는 것이 유리할 것이다.

발명의 내용

- [0010] 본 발명은, 적어도 부분적으로, 미오스타틴에 결합하여 그를 길항하는 애드넥틴의 발견을 기초로 한다. 구체적 으로, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 미오스타틴 활성을 억제하여, 그로 인해 하류 SMAD 신호전달에 영향 을 미친다. 본 발명의 일부 항-미오스타틴 애드넥틴의 변경된 SMAD 신호전달을 설명하는 하나의 메커니즘은 미 오스타틴-ActRIIb 복합체로의 Alk4 동원의 억제를 포함하며, 이의 생리학적 결과는 증가된 근육 부피 및 체중이 다.
- [0011] 한 측면에서, 본 발명은 피브로넥틴 제10 유형 III 도메인 ($^{10}\text{Fn3}$)을 포함하며, 여기서 $^{10}\text{Fn3}$ 은 인간 $^{10}\text{Fn3}$ 도메 인의 상응하는 루프의 서열에 비해 변경된 아미노산 서열을 갖는 루프 BC, DE 및 FG로부터 선택된 적어도 하나 의 루프를 갖는 것인, 미오스타틴에 결합하는 폴리펩티드를 제공한다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오 스타틴에 500 nM 미만의 K_D 로 결합한다.

- [0012] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 BC 루프는 화학식 $X_1-L-P-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (a) X_1 은 S, T 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; (b) X_2 는 H, Y, N, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; (c) X_3 은 A, P, Q, S, F, H, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고; (d) X_4 는 G 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고; (e) X_5 는 H, L, R, V, N, D, F, I 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고; (f) X_6 은 A, L, G, M, F, I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; (g) X_7 은 H 및 N으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, X_1 은 S이고/거나, X_2 는 H 또는 Y이고/거나, X_3 은 A 또는 P이고/거나, X_4 는 G이고/거나, X_5 는 H, L 또는 R이고/거나, X_6 은 A 또는 L이고/거나, X_7 은 H이다.
- [0013] 다른 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{19}-X_{20}-P-X_{21}-G-X_{22}-A$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (a) X_{19} 는 D, E, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; (b) X_{20} 은 A, S 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; (c) X_{21} 은 R, A, G, K 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; (d) X_{22} 는 L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, X_{19} 는 D이고/거나, X_{20} 은 A, S 또는 V이고/거나, X_{22} 는 L이다.
- [0014] 일부 실시양태에서, DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_8$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_8 은 V 또는 L이다.
- [0015] 일부 실시양태에서, DE 루프는 화학식 $X_{23}-G-R-G-X_{24}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (a) X_{23} 은 V, P, F, I 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; (b) X_{24} 는 S, N 및 T로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0016] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 FG 루프는 화학식 $X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (a) X_9 는 L, V 및 I로 이루어진 군으로부터 선택되고; (b) X_{10} 은 T 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; (c) X_{11} 은 K, R, A, G, S, D, H, N, T 및 P로 이루어진 군으로부터 선택되고; (d) X_{12} 는 S, T, A, E, H, K 및 N으로 이루어진 군으로부터 선택되고; (e) X_{13} 은 K, G, Q, D, E, N, T 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; (f) X_{14} 는 V, I, F, L, M, P, T 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; (g) X_{15} 는 I, L 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; (h) X_{16} 은 H, I, V, K, L, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; (i) X_{17} 은 Y 및 H로 이루어진 군으로부터 선택되고; (j) X_{18} 은 K, M, L, R 및 V로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0017] 특정 실시양태에서, X_9 는 L 또는 V이고/거나, X_{10} 은 T이고, X_{11} 은 K 또는 R이고/거나, X_{12} 는 S 또는 T이고/거나, X_{13} 은 K, G 또는 Q이고/거나, X_{14} 는 V 또는 I이고/거나, X_{15} 는 I이고/거나, X_{16} 은 H, I 또는 V이고/거나, X_{17} 은 Y이고/거나, X_{18} 은 K 또는 M이다.
- [0018] 다른 실시양태에서, FG 루프는 화학식 $X_{25}-X_{26}-R-X_{27}-G-X_{28}-X_{29}-X_{30}-X_{31}-X_{32}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (a) X_{25} 는 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; (b) X_{26} 은 F, D 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; (c) X_{27} 은 D 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; (d) X_{28} 은 P, M, V 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; (e) X_{29} 는 V, L, N, R 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; (f) X_{30} 은 H, T, L, N, Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; (g) X_{31} 은 F, W, Y, H 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; (h) X_{32} 는 D, A 및 G로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0019] 특정 실시양태에서, X_{25} 는 I이고/거나, X_{26} 은 F이고/거나, X_{27} 은 D이고/거나, X_{28} 은 P이고/거나, X_{29} 는 V이고/거나, X_{30} 은 H 또는 T이고/거나, X_{31} 은 F 또는 W이고/거나, X_{32} 는 D이다.
- [0020] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 BC 루프 및 DE 루프, 또는 BC 루프 및 FG 루프, 또는 DE 루프 및 FG 루프, 또는 BC 루프, DE 루프 및 FG 루프를 포함한다.
- [0021] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드의 BC 루프는 서열 7-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시양태에서, DE 루프는 서열 39-45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, FG 루프는 서열 46-79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태

에서, BC, DE 또는 FG 루프 아미노산 서열은 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79 중 어느 하나에 대해 적어도 80% 동일하다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 80-123, 228-239 및 252-273 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 80-123, 228-239 및 252-273으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 표 1에 제시된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프 조합을 포함한다. 한 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 갖는다.

[0023] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{33}\text{-L-P-X}_{34}\text{-X}_{35}\text{-X}_{36}\text{-X}_{37}\text{-X}_{38}\text{-X}_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이다.

[0024] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대를 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, DE 루프는 화학식 $G\text{-R-G-X}_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{40} 은 L이다.

[0025] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, FG 루프는 화학식 $X_{41}\text{-X}_{42}\text{-X}_{43}\text{-X}_{44}\text{-X}_{45}\text{-X}_{46}\text{-X}_{47}\text{-X}_{48}\text{-X}_{49}\text{-X}_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0026] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{33}\text{-L-P-X}_{34}\text{-X}_{35}\text{-X}_{36}\text{-X}_{37}\text{-X}_{38}\text{-X}_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고, DE 루프는 화학식 $G\text{-R-G-X}_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{40} 은 L이다.

[0027] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{33}\text{-L-P-X}_{34}\text{-X}_{35}\text{-X}_{36}\text{-X}_{37}\text{-X}_{38}\text{-X}_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고, FG 루프는 화학식 $X_{41}\text{-X}_{42}\text{-X}_{43}\text{-X}_{44}\text{-X}_{45}\text{-X}_{46}\text{-X}_{47}\text{-X}_{48}\text{-X}_{49}\text{-X}_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0028] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, DE 루프는 화학식 $G\text{-R-G-X}_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{40} 은 L이고, FG 루프는 화학식 $X_{41}\text{-X}_{42}\text{-X}_{43}\text{-X}_{44}\text{-X}_{45}\text{-X}_{46}\text{-X}_{47}\text{-X}_{48}\text{-X}_{49}\text{-X}_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0029] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{33}\text{-L-P-X}_{34}\text{-X}_{35}\text{-X}_{36}\text{-X}_{37}\text{-X}_{38}\text{-X}_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고; DE 루프는 화학식 $G\text{-R-G-X}_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{40} 은 L이고; FG 루프는 화학식 $X_{41}\text{-X}_{42}\text{-X}_{43}\text{-X}_{44}\text{-X}_{45}\text{-X}_{46}\text{-X}_{47}\text{-X}_{48}\text{-X}_{49}\text{-X}_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0030] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하고, 폴리펩티드가 미오스타틴에 대한 결합을 유지하도록 하는 BC, DE 및 FG 루프 내의 아미노산 치환을 갖는다. 이러한 아미노산 치환은, 예를 들어 실시예 8에 기재된 바와 같은 심층 돌연변이 스캐닝에 의해 결정될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 화학식 $X_{51}\text{-X}_{52}\text{-X}_{53}\text{-X}_{54}\text{-X}_{55}\text{-X}_{56}\text{-X}_{57}\text{-X}_{58}\text{-X}_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 BC 루프를 갖고, 여기서 X_{51} 은 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, C, G, L, M, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 A, C, F, H, N, P, Q, R, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, X_{51} 은 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 P로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 바람직한 실시양태에서, X_{51} 은 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 P로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택된다. 구체적 실시양태에서, X_{51} 은 S이고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 H이고; X_{55} 는 Q이고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 K이고; X_{58} 은 A이고; X_{59} 는 N이다.

[0031] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 화학식 $G\text{-R-G-X}_{60}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 DE 루프를 포함하며, 여기서 X_{60} 은 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V이다. 바람직한 실시양태에서, X_{60} 은 C, E, I, L, M, Q, T 및 V이다. 보다 바람직한 실시양태에서, X_{60} 은 C, E, I, L, M 및 V이다. 구체적 실시양태에서, X_{60} 은 V이다.

[0032] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 화학식 $X_{61}\text{-X}_{62}\text{-X}_{63}\text{-X}_{64}\text{-X}_{65}\text{-X}_{66}\text{-X}_{67}\text{-X}_{68}\text{-X}_{69}\text{-X}_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 FG 루프를 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는

A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, X_{61} 은 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, G, H, K, L, M, N, P, Q, R, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 바람직한 실시양태에서, X_{61} 은 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택된다. 구체적인 실시양태에서, X_{61} 은 V이고; X_{62} 는 T이고; X_{63} 은 D이고; X_{64} 는 T이고; X_{65} 는 G이고; X_{66} 은 Y이고; X_{67} 은 L이고; X_{68} 은 K이고; X_{69} 는 Y이고; X_{70} 은 K이다.

[0033]

일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 X_{51} - X_{52} - X_{53} - X_{54} - X_{55} - X_{56} - X_{57} - X_{58} - X_{59} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{58} 은 A, C, G, L, M, S 및 T이고; X_{59} 는 A, C, F, H, N, P, Q, R, S 및 Y이고; DE 루프는 화학식 G-R-G- X_{60} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 X_{61} - X_{62} - X_{63} - X_{64} - X_{65} - X_{66} - X_{67} - X_{68} - X_{69} - X_{70} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터

터 선택되고; X_{69} 는 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0034] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 $X_{51}-X_{52}-X_{53}-X_{54}-X_{55}-X_{56}-X_{57}-X_{58}-X_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_{60}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 C, E, I, L, M, Q, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 $X_{61}-X_{62}-X_{63}-X_{64}-X_{65}-X_{66}-X_{67}-X_{68}-X_{69}-X_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0035] 보다 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 $X_{51}-X_{52}-X_{53}-X_{54}-X_{55}-X_{56}-X_{57}-X_{58}-X_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고; DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_{60}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 C, E, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 $X_{61}-X_{62}-X_{63}-X_{64}-X_{65}-X_{66}-X_{67}-X_{68}-X_{69}-X_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0036] 구체적 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 $X_{51}-X_{52}-X_{53}-X_{54}-X_{55}-X_{56}-X_{57}-X_{58}-X_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 S이고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 H이고; X_{55} 는 Q이고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 K이고; X_{58} 은 A이고; X_{59} 는 N이고; DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_{60}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 V이고; FG 루프는 화학식 $X_{61}-X_{62}-X_{63}-X_{64}-X_{65}-X_{66}-X_{67}-X_{68}-X_{69}-X_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 V이고; X_{62} 는 T이고; X_{63} 은 D이고; X_{64} 는 T이고; X_{65} 는 G이고; X_{66} 은 Y이고; X_{67} 은 L이고; X_{68} 은 K이고; X_{69} 는 Y이고; X_{70} 은 K이다.

[0037] 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 273 [PRD-1474], 서열 118 [3116_A06], 서열 281 [PRD-1474 및 3116_A06의 코어 애드넥틴 서열과 그 앞에 N-말단 연장 서열 (GVSDVPRDL) 및 그 뒤에 C-말단 꼬리 (EI)] 또는

서열 331 [N-말단 리더 서열 또는 C-말단 꼬리가 없는 PRD-1474 및 3116_A06의 코어 애드넥틴 서열]에 기재된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 118, 273, 281 또는 331의 비-BC, DE 및 FG 루프 영역에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0038] 또 다른 측면에서, 본 발명은 미오스타틴 상의 불연속적 애드넥틴 결합 부위에 결합하는 폴리펩티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 55-66 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 85-101 내의 영역에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 85-101 및 55-66의 2개 영역 내에 결합한다.

[0039] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 미오스타틴에의 결합에 대해 ActRIIB와 경쟁하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 미오스타틴에의 결합에 대해 ALK4 및/또는 ALK5와 경쟁한다.

[0040] 일부 실시양태에서, 상기 기재된 폴리펩티드는 하나 이상의 약동학적 (PK) 모이어티, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 시알산, Fc, Fc 단편, 트랜스페린, 혈청 알부민, 혈청 알부민 결합 단백질 및 혈청 이뮤노글로불린 결합 단백질을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, PK 모이어티는, 예를 들어 HSA에 결합하는 ¹⁰F_n3 도메인을 포함하는 혈청 알부민 결합 단백질이다. 또 다른 실시양태에서, PK 모이어티는 Fc이고, 폴리펩티드의 N- 또는 C-말단에 있을 수 있고, 임의로 이량체를 형성한다. 또 다른 실시양태에서, PK 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜이다. 일부 실시양태에서, PK 모이어티와 폴리펩티드는 적어도 하나의 디설피드 결합, 펩티드 결합, 폴리펩티드, 중합체성 당 또는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 통해 연결된다.

[0041] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하며, 임의로 내독소-무함유인 제약 조성물을 제공한다.

[0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 기재된 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산 분자, 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터, 및 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 세포를 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 세포를 배양시켜 항-미오스타틴 폴리펩티드를 생산하는 방법을 제공한다.

[0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 폴리펩티드 또는 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 투여하여 대상체에서 미오스타틴-관련 질환 또는 장애를 악화시키거나 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 치료할 질환은 근육 이영양증, 근위축성 측삭 경화증, 봉입체 근염 (IBM), 울혈성 폐쇄성 폐 질환, 만성 심부전, 암, AIDS, 신부전, 만성 신장 질환, 요독증, 류마티스 관절염, 근육감소증, 장기간 요양으로 인한 근육 소모, 척수 손상, 졸중, 골절, 노화, 당뇨병, 비만, 고혈당증, 악액질, 골관절염, 골다공증, 심근경색 또는 심 유증이다.

[0044] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 근육의 변성 또는 소모와 연관된 장애를 악화시키거나 억제하는 방법을 제공한다.

[0045] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 근육 질량을 증가시키고/거나, 근육 세포의 수를 증가시키고/거나, 근육 세포의 크기를 증가시키고/거나, 근육 강도, 신체 수행력 및/또는 지구력을 증가시키기 위해 폴리펩티드를 투여하는 방법을 제공한다.

[0046] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 대사 장애를 악화시키거나 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대사 장애는 당뇨병 (예를 들어, 제II형 당뇨병), 고혈당증, 고인슐린혈증, 고지혈증, 인슐린 저항성, 글루코스 대사 장애, 지방이영양증, 비만 또는 대사 증후군이다. 일부 실시양태에서, 제2 치료 조성물이 투여될 수 있다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드의 투여는 증가된 인슐린 감수성, 세포에 의한 증가된 글루코스 흡수, 감소된 혈액 글루코스 수준 및/또는 감소된 체지방을 유발한다.

[0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 상기 기재된 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 체지방 근육 질량을 증진시키는 방법을 제공한다.

[0048] 또 다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 상기 기재된 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 지방 대비 체지방 근육 질량의 비를 증가시키는 방법을 제공한다.

[0049] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 기재된 폴리펩티드 또는 조성물 및 사용 지침서를 포함하는 키트를 제공한다.

[0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은 샘플을 상기 기재된 폴리펩티드와 접촉시키는 단계 및 미오스타틴에 대한 폴리펩

티드의 결합을 검출하거나 측정하는 단계를 포함하는, 샘플에서 미오스타틴을 검출하거나 측정하는 방법을 제공한다.

[0051] 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 미오스타틴-관련 질환 또는 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 근육의 변성 또는 소모와 연관된 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 근육 질량을 증가시키고/거나, 근육 세포의 수를 증가시키고/거나, 근육 세포의 크기를 증가시키고/거나, 근육 강도, 신체 수행력 및/또는 지구력을 증가시키고/거나, 대사 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 제지방 근육 질량을 증진시키고/거나, 지방 대비 제지방 근육 질량의 비를 증가시키는데 사용하기 위한 항-미오스타틴 결합 애드넥틴에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 본원에 기재된 것, 예를 들어 서열 80-123, 228-239 및 252-273에 기재된 항-미오스타틴 애드넥틴이다.

[0052] 또 다른 측면에서, 본 발명은 미오스타틴-관련 질환 또는 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 근육의 변성 또는 소모와 연관된 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 근육 질량을 증가시키고/거나, 근육 세포의 수를 증가시키고/거나, 근육 세포의 크기를 증가시키고/거나, 근육 강도, 신체 수행력 및/또는 지구력을 증가시키고/거나, 대사 장애를 약화시키거나 억제하고/거나, 제지방 근육 질량을 증진시키고/거나, 지방 대비 제지방 근육 질량의 비를 증가시키기 위한 의약을 제조하기 위한 항-미오스타틴 결합 애드넥틴의 용도에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 본원에 기재된 것, 예를 들어 서열 80-123, 228-239 및 252-273에 기재된 항-미오스타틴 애드넥틴이다.

도면의 간단한 설명

[0053] 도 1은 예시적인 항-미오스타틴 애드넥틴 아미노산 서열의 정렬을 도시한다. BC, DE 및 FG 루프 아미노산 서열은 각각 밑줄, 이탤릭체/ 밑줄 또는 볼드체/밑줄에 의해 확인된다.

도 2는 항-미오스타틴 애드넥틴의 1979_B06 패밀리의 BC 루프의 변이된 잔기의 웹로그(WebLogo)-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전(PROfusion) 동안 변이된 BC 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다. 영상은 웹로그를 사용하여 생성되었다 (Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. WebLogo: A sequence logo generator. Genome Research 2004;14:1188-1190).

도 3은 항-미오스타틴 애드넥틴의 1979_B06 패밀리의 DE 루프의 변이된 잔기의 웹로그-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전 동안 변이된 DE 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다.

도 4는 항-미오스타틴 애드넥틴의 1979_B06 패밀리의 FG 루프의 변이된 잔기의 웹로그-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전 동안 변이된 FG 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다.

도 5는 항-미오스타틴 애드넥틴의 2062_G02 패밀리의 BC 루프의 변이된 잔기의 웹로그-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전 동안 변이된 BC 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다.

도 6은 항-미오스타틴 애드넥틴의 2062_G02 패밀리의 DE 루프의 변이된 잔기의 웹로그-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전 동안 변이된 DE 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다.

도 7은 항-미오스타틴 애드넥틴의 2062_G02 패밀리의 FG 루프의 변이된 잔기의 웹로그-기반 분석을 도시한다. 프로퓨전 동안 변이된 FG 루프의 각 위치에서의 아미노산의 빈도가 나타내어진다.

도 8은 서열 위치에 따른 심층 돌연변이 스캐닝에서 애드넥틴 3116_A06의 개별 알라닌 돌연변이 단백질과 그의 상대 적합성에 대한 생화학적 및 세포-기반 데이터의 상관관계를 보여주는 그래프를 도시한다.

도 9는 애드넥틴 3116_A06의 알라닌 돌연변이의 NGS 심층 돌연변이 스캐닝으로부터의 ER^{norm}와 HTRF에 의해 측정된 IC50의 상관관계를 보여주는 그래프를 도시한다. 미오스타틴에의 결합에 대해 바람직한, 보다 바람직한 및 가장 바람직한 단일 부위 돌연변이에 대한 빈이 나타내어진다.

도 10은 애드넥틴 PRD-1285, PRD-1286 및 PRD-1288이 ActRIIb-Fc에 대한 미오스타틴 결합을 차단하지 않는다는 것을 보여주는 경쟁적 결합 검정 (경쟁적 ELISA)의 그래프를 도시한다. 미오스타틴에 대한 ActRIIb-Fc의 결합의 % 경쟁이 나타내어진다. 예상된 바와 같이, 양성 대조군 ActRIIb-Fc 구축물은 미오스타틴에 대한 ActRIIb-Fc 결합과 경쟁하였다.

도 11은 ARE-루시페라제 검정에서 미오스타틴 활성화에 대한 다양한 농도의 애드넥틴 PRD-1285, PRD-1286 및 PRD-1288의 효과를 보여주는 그래프를 도시한다. 실험 조건은 실시예 3에 기재된 바와 같다. 각각의 PRD-1285,

PRD-1286 및 PRD-1288은 미오스타틴-유도된 ARE-루시페라제 활성의 100%를 억제하였다.

도 12는 본 발명의 애드넥틴이 미오스타틴 활성을 억제하는 작용 메카니즘을 도시하는 개략도이다. 천연 신호 전달 복합체는 도 12a에 도시된다. 구체적으로, ActRIIb에 대한 미오스타틴의 결합에 있어서 액틴 수용체-유사 키나제 4 (ALK4) 또는 ALK5가 동원되고, ActRIIb 및 ALK4/5가 미오스타틴의 개별 영역에 결합한다. 본 발명의 애드넥틴은 미오스타틴에 대한 ActRIIb의 결합이 아니라 ALK4/5의 결합을 방지한다 (도 12b).

도 13은 3116_A06과 미오스타틴의 복합체를 나타내는 컴퓨터 모델을 도시한다. 도 13a는 ALK4 결합 부위 및 ActRIIB 결합 부위가 나타내어진 미오스타틴 단독 (회색)의 구조를 도시한다. 실시예 11에 기재된 실험으로부터 결정된 바와 같이, 3116_A06이 미오스타틴에 결합하는 영역 (즉, 영역 1 및 2)은 흑색으로 나타내어진다. 도 13b는 실시예 12에 기재된 바와 같은 도킹 프로토콜로부터 유래된 3116_A06 (흑색)과 미오스타틴 (회색)의 바람직한 복합체를 도시한다. HDX-MS에 의해 확인된 바와 같은 미오스타틴 영역 1 및 2 (실시예 11)는 단지 분자의 한 측면 상에 공간-채움 형태로 표시되고, 3116_A06의 BC, DE 및 FG 루프는 막대형으로 만들어진 형태로 표시된다. 이 도면이 2개의 애드넥틴 결합 부위 중 하나에 결합된 하나의 애드넥틴을 도시할 지라도, 개별 애드넥틴 결합 부위 또는 둘 다의 애드넥틴 결합 부위가 점유될 수 있음을 주목하여야 한다.

도 14는 대조 마우스와 비교하여 나타낸 항-미오스타틴 애드넥틴으로 치료된 마우스에서 제15일에 % 체중 증가를 보여주는 막대 그래프를 도시한다. 실시예 13에 기재된 바와 같이, B6 SCID 마우스는 14일 동안 항-미오스타틴 애드넥틴의 피하 주사로 격주 또는 매주 치료되었다. 체중은 치료 기간 전체에 걸쳐 측정되었다; 제15일에 대해 계산된 백분율 변화값이 제시되어 있다. (*= 각 대조군으로부터의 통계적 차이를 나타냄; $p \leq 0.01$ t-검정).

도 15는 대조 마우스와 비교하여 나타낸 항-미오스타틴 애드넥틴으로 치료된 마우스에서 제15일에 하지 근육 부피의 증가 (cm^3)를 보여주는 막대 그래프를 도시한다. 실시예 13에 기재된 바와 같이, B6 SCID 마우스는 14일 동안 항-미오스타틴 애드넥틴의 피하 주사로 격주 또는 매주 치료되었다. (*= 각 대조군으로부터의 통계적 차이를 나타냄; $p \leq 0.05$ t-검정).

도 16은 PRD-1474의 다양한 나타낸 용량으로 치료된 마우스에서 제28일에 하지 근육 부피의 증가 (cm^3)를 보여주는 막대 그래프를 도시한다. 실시예 14에 기재된 바와 같이, B6 SCID 마우스는 28일 동안 PRD-1474의 피하 주사로 격주 또는 매주 치료되었다. (* $p < 0.0001$; # 군 사이에 유의하지 않음).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 전문 과학 용어는 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 조성물이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 조성물이 본원에 기재된다.

본원에 사용된 "전장 미오스타틴"은 상기 문헌 [McPherron et al. (1997)]에 기재된 전장 폴리펩티드 서열, 뿐만 아니라 대립유전자 변이체 및 중간 상동체를 비롯한 관련 전장 폴리 폴리펩티드를 지칭한다. 용어 "미오스타틴" 또는 "성숙 미오스타틴"은 생물학적 활성 성숙 미오스타틴의 단편, 뿐만 아니라 대립유전자 변이체, 스플라이스 변이체 및 융합 펩티드와 폴리펩티드를 비롯한 관련 폴리펩티드를 지칭한다. 성숙 C-말단 단백질은 인간, 마우스, 닭, 돼지, 칠면조 및 래트를 비롯한 다수의 종에서 100% 서열 동일성을 갖는 것으로 보고되었다 (Lee et al., PNAS 2001;98:9306). 인간 프리프로미오스타틴에 대한 서열은 다음과 같다:

```
MQKLQLCVYIYLFMLIVAGPVDLNNSEQKENVEKEGLCNACTWRQNTKSSRIEAIK
IQILSKRLRETAPNISKDVIRQLLPKAPPLRELIDQYDVQRDDSSDGSLEDDDYHATTE
TIITMPTESDFLMQVDGKPKCCFFKFSSKIQYNKVVKAQLWIYLRPVETPTTVFVQIL
RLIKPMKDGTRYTGIRSLKLDMPGTGIWQSIDVKTVLQNLWKQPESNLGIEIKALDE
NGHDLAVTFPGPEDGLNPFLEVKVTDTPKRSRRDFGLDCDEHSTESRCCRYPLTVD
FEAFGWDWIIAPKRYKANYCSGECFVFLQKYPHTHLVHQANPRGSAGPCCTPTKM
SPINMLYFNGKEQHIIYGKIPAMVVDRCGCS (서열 1).
```

[0058] 인간 프로미오스타틴에 대한 서열은 다음과 같다:

NENSEQKENVEKEGLCNACTWRQNTKSSRIEAIKIQILSKRLLETAPNISKDVIRQLLP
KAPPLRELIDQYDVQRDDSSDGSLEDDDYHATTETIITMPTESDFLMQVDGKPKCCFF
KFSSKIQYNKVKAQLWIYLRPVETPTTVFVQILRLIKPMKDGTRYTGIRSLKLDMP
GTGIWQSIDVKTVLQNWLKQPESNLGIEIKALDENGHDLAVTFPGPGEGLNPFLEV
KVTDTPKRSRRDFGLDCDEHSTESRCCRYPLTVDFEAFGWDWIIAPKRYKANYCSGE
CEVFVLQKYPHTLHVQANPRGSAGPCCTPTKMSPINMLYFNGKEQIYGKIPAMVV
DRCGCS (서열 2).

[0059]

[0060] 성숙 미오스타틴에 대한 서열 (인간, 뮤린, 래트, 닭, 칠면조, 개, 말 및 돼지에서 보존됨)은 다음과 같다:

DFGLDCDEHSTESRCCRYPLTVDFEAFGWDWIIAPKRYKANYCSGECEVFVLQKYPH
THLVHQAANPRGSAGPCCTPTKMSPINMLYFNGKEQIYGKIPAMVVDRCGCS (서열
3).

[0061]

[0062] 본원에 사용된 "폴리펩티드"는 길이, 번역후 변형 또는 기능에 상관없이 2개 이상의 아미노산의 임의의 서열을 지칭한다. "폴리펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 폴리펩티드는 천연 아미노산 및 비-천연 아미노산, 예컨대 본원에 참조로 포함된 미국 특허 번호 6,559,126에 기재된 것을 포함할 수 있다. 폴리펩티드는 또한 임의의 다양한 표준 화학 방식으로 변형될 수 있다 (예를 들어, 아미노산은 보호기로 변형될 수 있거나; 카르복시-말단 아미노산은 말단 아미드기로 제조될 수 있거나; 아미노-말단 잔기는, 예를 들어 친지성을 증진시키는 기로 변형될 수 있거나; 또는 폴리펩티드는 안정성 또는 생체내 반감기를 증가시키기 위해 화학적으로 글리코실화되거나 또는 달리 변형될 수 있다). 폴리펩티드 변형은 또 다른 구조, 예컨대 시클릭 화합물 또는 다른 분자의 폴리펩티드에 대한 부착을 포함할 수 있고, 또한 하나 이상의 아미노산을 변경된 배위 (즉, R 또는 S; 또는 L 또는 D)로 함유하는 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 본 발명의 펩티드는 미오스타틴에 결합하도록 변형된 피브로넥틴의 제10 유형 III 도메인으로부터 유래된 단백질이고, 본원에서 "항-미오스타틴 애드넥틴" 또는 "미오스타틴 애드넥틴"으로 지칭된다.

[0063]

본원에 사용된 "폴리펩티드 세트"는 각각의 그의 도메인이 비-공유 상호작용 또는 디설피드 결합과는 반대로 펩티드 결합(들)에 의해 다른 도메인(들)에 연결된 폴리펩티드를 지칭한다.

[0064]

"단리된" 폴리펩티드는 그의 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 그의 천연 환경의 오염물 성분은 폴리펩티드에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 (1) 로우리(Lowry) 방법에 의해 측정시에 폴리펩티드의 95 중량% 초과, 가장 바람직하게는 99 중량% 초과까지, (2) 스피닝 컵 서열분석기를 사용하여 적어도 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기를 얻기에 충분한 정도까지 또는 (3) 쿠마시 블루(Coomassie blue) 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 균질할 때까지 정제될 것이다. 단리된 폴리펩티드는 재조합 세포 내의 계내 폴리펩티드를 포함하는데, 이는 상기 폴리펩티드의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 폴리펩티드는 적어도 1회의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0065]

본원에서 "아미노산 서열 동일성 퍼센트 (%)"는 서열들을 정렬하고 필요한 경우에 갭을 도입하여 최대 서열 동일성 퍼센트를 달성하며, 서열 동일성의 일부로서 어떠한 보존적 치환도 고려하지 않은 후에, 선택된 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기 백분율로서 정의된다. 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 결정하는 목적을 위한 정렬은, 예를 들어 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 메갈린(Megalign) (DNASTAR™) 소프트웨어를 사용하여 관련 기술분야의 기술 수준 내의 다양한 방식으로 달성할 수 있다. 통상의 기술자는 정렬을 측정하기에 적절한 파라미터를 용이하게 결정할 수 있으며, 이는 비교하고자 하는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는데 필요한 모든 알고리즘을 포함한다. 예를 들어, 소정의 아미노산 서열 B에 대한, 이와와 또는 이에 대항한 소정의 아미노산 서열 A의 아미노산 서열 동일성 % (달리 언급하면, 소정의 아미노산 서열 B에 대한, 이와와 또는 이에 대항한 특정의 아미노산 서열 동일성 %를 갖거나 포함하는 소정의 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)은 다음과 같이 계산한다: X/Y의 분율 x 100 (여기서, X는 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 A 및 B의 프로그램 정렬시에 상기 프로그램에 의해 동일한 매치로 스코어링된 아미노산 잔기의 개수이고, Y는 B의 아미노산 잔기의 총 개수임). 아미노산 서열 A의

길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에는 B에 대한 A의 아미노산 서열 동일성 %가 A에 대한 B의 아미노산 서열 동일성 %와 동일하지 않을 것임을 이해할 것이다.

- [0066] 본원에 사용된 "보존적 치환"은 아미노산을 유사한 특성 (예를 들어, 극성, 수소 결합 잠재력, 산성, 염기성, 형상, 소수성, 방향족 등)을 갖는 아미노산으로 대체하는 것을 비롯하여 (이에 제한되지는 않음), 펩티드의 전체적 입체형태 및 기능을 변경하지 않으면서 아미노산 잔기를 또 다른 아미노산 잔기로 대체하는 것을 지칭한다. 유사한 특성을 갖는 아미노산은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 아르기닌, 히스티딘 및 리신은 친수성-염기성 아미노산이고, 상호교환가능할 수 있다. 유사하게, 소수성 아미노산인 이소류신은 류신, 메티오닌 또는 발린으로 대체될 수 있다. 서로 치환될 수 있는 중성의 친수성 아미노산은 아스파라긴, 글루타민, 세린 및 트레오닌을 포함한다. "치환된" 또는 "변형된"에 의해 본 발명은 자연 발생 아미노산으로부터 변경 또는 변형된 아미노산을 포함한다. 이와 같이 본 발명의 문맥에서 보존적 치환은 하나의 아미노산을 유사한 특성을 갖는 또 다른 아미노산으로 치환하는 것으로 관련 기술분야에서 인식된다.
- [0067] 본원에 사용된 용어 "애드넥틴 결합 부위"는 특정한 애드넥틴과 상호작용하거나 그에 결합하는 단백질 (예를 들어, 미오스타틴)의 부위 또는 부분을 지칭한다 (에피토프가 항체에 의해 인식되는 바와 같음). 애드넥틴 결합 부위는 단백질의 삼차 폴딩에 의해 병렬된 인접 아미노산 또는 비인접 아미노산으로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산에 의해 형성된 애드넥틴 결합 부위는 전형적으로 변성 용매에 대한 노출시에 유지되는 반면, 삼차 폴딩에 의해 형성된 애드넥틴 결합 부위는 전형적으로 변성 용매의 처리시에 손실된다.
- [0068] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 애드넥틴 결합 부위는 프로테아제 맵핑 및 돌연변이 분석을 비롯하여 (이에 제한되지는 않음), 항체의 에피토프 맵핑에 전형적으로 사용되는 표준 기술의 적용에 의해 결정될 수 있다. 대안적으로, 애드넥틴 결합 부위는 동일한 폴리펩티드, 예를 들어 미오스타틴에 결합하는 참조 애드넥틴 또는 항체를 사용하는 경쟁 검정에 의해 결정될 수 있다 (하기 섹션 "상호-경쟁 애드넥틴 및/또는 동일한 애드넥틴 결합 부위에 결합하는 애드넥틴"에 추가로 기재된 바와 같음). 시험 애드넥틴과 참조 분자 (예를 들어, 또 다른 애드넥틴 또는 항체)가 경쟁하는 경우, 그러면 이들은 동일한 애드넥틴 결합 부위에 결합하거나 또는 하나의 분자의 결합이 다른 것을 방해하도록 충분히 근접한 애드넥틴 결합 부위에 결합한다.
- [0069] 본원에서 상호교환적으로 사용된 용어 "특이적으로 결합한다", "특이적 결합", "선택적 결합" 및 "선택적으로 결합한다"는 애드넥틴이 미오스타틴에 대한 친화도를 나타내지만, 관련 기술분야에서 이용가능한 기술, 예컨대 스캐차드 분석 및/또는 경쟁적 결합 검정 (예를 들어, 경쟁 ELISA, 비아코어(BIACORE) 검정) (이에 제한되지는 않음)에 의해 측정시 상이한 폴리펩티드에 유의하게 결합하지 않는 (예를 들어, 약 10% 미만으로 결합하는) 것을 지칭한다. 이 용어는 또한, 예를 들어 본 발명의 애드넥틴의 결합 도메인이 미오스타틴에 특이적인 경우에 적용 가능하다.
- [0070] 본원에 사용된 용어 "우선적으로 결합하다"는 본 발명의 애드넥틴이 관련 기술분야에서 이용가능한 기술, 예컨대 스캐차드 분석 및/또는 경쟁적 결합 검정 (예를 들어, 경쟁 ELISA, 비아코어 검정) (이에 제한되지는 않음)에 의해 측정시 상이한 폴리펩티드에 결합하는 경우보다 적어도 약 20% 더 크게 미오스타틴에 결합하는 상황을 지칭한다.
- [0071] 본원에 사용된 용어 "교차-반응성"은 애드넥틴이 동일한 또는 매우 유사한 애드넥틴 결합 부위를 갖는 1개 초과 의 별개의 단백질에 결합하는 것을 지칭한다.
- [0072] 본원에 사용된 용어 " K_D "는 표면 플라즈몬 공명 검정 또는 세포 결합 검정을 사용하여 측정시, 특정한 애드넥틴-단백질 (예를 들어, 미오스타틴) 상호작용의 해리 평형 상수 또는 단백질 (예를 들어, 미오스타틴)에 대한 애드넥틴의 친화도를 지칭하는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 "목적하는 K_D "는 고려된 목적에 충분한 애드넥틴의 K_D 를 지칭한다. 예를 들어, 목적하는 K_D 는 시험관내 검정, 예를 들어 세포-기반 루시페라제 검정에서 기능적 효과를 도출하는데 요구되는 애드넥틴의 K_D 를 지칭할 수 있다.
- [0073] 본원에 사용된 용어 " k_{ass} "는 애드넥틴/단백질 복합체 내로의 애드넥틴의 회합에 대한 회합률 상수를 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0074] 본원에 사용된 용어 " k_{diss} "는 애드넥틴/단백질 복합체로부터의 애드넥틴의 해리에 대한 해리율 상수를 지칭하는 것으로 의도된다.
- [0075] 본원에 사용된 용어 " IC_{50} "은 시험관내 또는 생체내 검정에서 최대 억제 반응의 50%인 수준까지, 즉 최대 억제

반응과 비처리 반응 사이의 절반으로 반응을 억제하는 애드넥틴의 농도를 지칭한다.

- [0076] 본원에 사용된 용어 "미오스타틴 활성"은 ActRIIb에 대한 활성 미오스타틴 단백질의 결합 및 이후 Akt4 또는 Akt5의 동원과 연관된 성장-조절 또는 형태발생 활성 중 하나 이상을 지칭한다. 예를 들어, 활성 미오스타틴은 골격근 질량의 음성 조절제이다. 활성 미오스타틴은 또한 근육-특이적 효소 (예를 들어, 크레아틴 키나제)의 생산을 조절할 수 있고, 근모세포 증식을 자극할 수 있으며, 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 조절할 수 있다. 미오스타틴 활성은 본원에 기재된 바와 같은 관련 기술분야에 인식된 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0077] 어구 "미오스타틴 활성을 억제한다" 또는 "미오스타틴 활성을 길항한다" 또는 "미오스타틴을 길항한다"는 생체 내 또는 시험관내에서 미오스타틴의 활성을 중화하거나 길항하는 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 능력을 지칭하는 것으로 상호교환적으로 사용된다. 본 발명의 애드넥틴의 활성에 관하여 본원에 사용된 용어 "억제하다" 또는 "중화하다"는 생물학적 활성 또는 특성, 질환 또는 상태를 비롯하여 (이에 제한되지는 않음), 억제할 진행 또는 중증도를 실질적으로 길항하거나, 금지하거나, 예방하거나, 제지하거나, 늦추거나, 방해하거나, 제거하거나, 중지시키거나, 감소시키거나 또는 역전시키는 능력을 의미한다. 억제 또는 중화는 바람직하게는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 그 초과이다.
- [0078] 예를 들어, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 척추동물 대상체에서 정상적으로 발견되는 생물학적 활성 미오스타틴의 순환 수준을 감소시키거나, 또는 미오스타틴의 상승된 순환 수준을 유발하는 장애를 가진 대상체에서 생물학적 활성 미오스타틴의 순환 수준을 감소시킬 수 있다. 미오스타틴 활성의 감소는 본원에 기재된 바와 같이 시험관내 검정, 예를 들어 결합 검정을 사용하여 결정될 수 있다. 대안적으로, 미오스타틴 활성의 감소는 체중의 증가, 근육 질량 증진, 근육 강도 증가, 지방 대비 근육의 비의 변경, 지방-무함유 근육 질량의 증가, 근육 세포의 크기 및/또는 수의 증가, 및/또는 체지방 함량의 감소를 유발할 수 있다.
- [0079] 용어 "PK"는 "약동학"에 대한 두문자어이고, 예를 들어 대상체에 의한 흡수, 분포, 대사 및 제거를 비롯한 화합물의 특성을 포괄한다. 본원에 사용된 "PK 조절 단백질" 또는 "PK 모이어티"는 생물학적 활성 분자에 융합되거나 그와 함께 투여되는 경우에 이러한 생물학적 활성 분자의 약동학적 특성에 영향을 미치는 임의의 단백질, 펩티드 또는 모이어티를 지칭한다. PK 조절 단백질 또는 PK 모이어티의 예는 PEG, 인간 혈청 알부민 (HSA) 결합제 (미국 공개 번호 2005/0287153 및 2007/0003549, PCT 공개 번호 WO 2009/083804 및 WO 2009/133208에 개시된 바와 같음), 인간 혈청 알부민, Fc 또는 Fc 단편 및 그의 변이체, 및 당 (예를 들어, 시알산)을 포함한다.
- [0080] 아미노산 서열 또는 화합물의 "반감기"는 일반적으로, 예를 들어 서열 또는 화합물의 분해 및/또는 천연 메카니즘에 의한 서열 또는 화합물의 클리어런스 또는 격리로 인해, 생체내에서 폴리펩티드의 혈청 농도가 50% 감소하는데 소요되는 시간으로서 정의될 수 있다. 반감기는 그 자체로 공지된 임의의 방식으로, 예컨대 약동학적 분석에 의해 결정될 수 있다. 적합한 기술은 통상의 기술자에게 명백할 것이고, 예를 들어 일반적으로 적합한 용량의 본 발명의 아미노산 서열 또는 화합물을 대상체에게 적합하게 투여하는 단계; 상기 대상체로부터 일정한 간격으로 혈액 샘플 또는 다른 샘플을 수집하는 단계; 상기 혈액 샘플 내의 본 발명의 아미노산 서열 또는 화합물의 수준 또는 농도를 결정하는 단계; 이렇게 얻어진 데이터(의 플롯)으로부터, 본 발명의 아미노산 서열 또는 화합물의 수준 또는 농도가 투여시의 초기 수준과 비교하여 50% 감소할 때까지의 시간을 계산하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어 문헌 [Kenneth, A. et al., Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists, 및 Peters et al., Pharmacokinetic Analysis: A Practical Approach (1996)]과 같은 표준 편람을 참조한다. 또한 문헌 [Gibaldi, M. et al., Pharmacokinetics, 2nd Rev. Edition, Marcel Dekker (1982)]을 참조한다.
- [0081] 반감기는 $t_{1/2}$ -알파, $t_{1/2}$ -베타, HL_람다_z와 같은 파라미터 및 곡선하 면적 (AUC)을 사용하여 표현될 수 있다. 본 명세서에서, "반감기의 증가"는 이들 파라미터 중 어느 하나, 이들 파라미터 중 임의의 2개, 이들 파라미터 중 임의의 3개 또는 이들 파라미터 4개 전부의 증가를 지칭한다. "반감기 증가"는 $t_{1/2}$ -알파 및/또는 AUC 또는 둘 다에서의 증가와 함께 또는 이러한 증가 없이 $t_{1/2}$ -베타 및/또는 HL_람다_z의 증가를 지칭한다.
- [0082] 표기법 "mpk", "mg/kg" 또는 "kg당 mg"은 킬로그램당 밀리그램을 지칭한다. 모든 표기법은 본 개시내용 전체에 걸쳐 상호교환가능하게 사용된다.
- [0083] 본원에서 상호교환적으로 사용된 용어 "개체", "대상체" 및 "환자"는 무린, 원숭이, 인간, 포유동물 가축 (예를 들어, 소, 돼지, 양), 포유동물 스포츠 동물 (예를 들어, 말) 및 포유동물 애완동물 (예를 들어, 개 및 고양이)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 동물, 바람직하게는 포유동물 (비영장류 및 영장류 포함) 또는 조류 종을 지칭하고; 바람직하게는 용어는 인간을 지칭한다. 용어는 또한 닭 및 칠면조를 포함하나 이에 제한되지는 않는

조류 종을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 대상체, 바람직하게는 포유동물, 바람직하게는 인간은 추가로 미오스타틴의 감소된 수준 또는 감소된 생물활성으로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애 또는 상태를 가짐을 특징으로 한다. 또 다른 실시양태에서 대상체, 바람직하게는 포유동물, 바람직하게는 인간은 추가로 미오스타틴의 감소된 수준 또는 미오스타틴의 감소된 생물활성으로부터 이익을 얻을 장애, 질환 또는 상태가 발달할 위험이 있음을 특징으로 한다.

[0084] 용어 "치료 유효량"은 대상체에게 치료 이익을 부여하는데 필요한 작용제의 적어도 최소 용량 (그러나 독성 용량 미만임)을 지칭한다. 예를 들어, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 치료 유효량은 포유동물, 바람직하게는 인간에서 근육 부피 및/또는 근육 강도의 증가, 체지방의 감소, 인슐린 감수성의 증가, 또는 미오스타틴의 존재가 바람직하지 않은 병리학적 효과를 야기하거나 그에 기여하거나 또는 미오스타틴 수준의 감소가 유의한 치료 효과를 유발하는 상태의 치료 중 하나 이상을 유발하는 양이다.

[0085] 본원에 사용된 용어 "쇠약하다" 또는 "쇠약"은 허약, 체중 감소, 이동성 감소, 피로, 낮은 활동 수준, 불량한 지구력 및 감각 신호에 대한 거동 반응 장애 중 2개 이상의 증상을 특징으로 할 수 있는 상태를 지칭한다. 쇠약의 한 특징은 "근육감소증" 또는 근육 질량의 연령-관련 손실이다.

[0086] 본원에 사용된 용어 "악액질"은 다양한 질환으로부터 유래될 수 있는 근육 소모 가속화 및 체지방 체질량 손실의 상태를 지칭한다.

[0087] 개관

[0088] 본 발명은 미오스타틴에 결합하여 그를 길항하는 신규 폴리펩티드를 제공한다 (본원에서 "항-미오스타틴 애드넥틴"으로 지칭됨). 미오스타틴 길항제를 확인하기 위해, 미오스타틴을 애드넥틴의 큰 합성 라이브러리에 제시하였다. 미오스타틴에 결합된 애드넥틴을 미오스타틴 결합, 생물물리학적 특성, 및 미오스타틴 억제 활성에 대해 스크리닝하였다. 항-미오스타틴 애드넥틴을 돌연변이시키고, 표적 농도를 저하시키고 느린 오프-레이트(off-rate)를 갖는 항-미오스타틴 애드넥틴을 선택하여 추가의 선택 압력에 적용하였다. 상기 최적화 과정으로부터, 애드넥틴의 패밀리는 유리한 생화학적 및 생물물리학적 활성을 갖는 미오스타틴 특이적 억제체로서 확인되었다. 본원에 개시된 항-미오스타틴 애드넥틴은 근육 소모 질환, 대사 장애 및 무활동으로 인한 근육 위축의 치료를 비롯하여 (이에 제한되지는 않음), 미오스타틴 활성의 억제가 유익한 것으로 공지된 장애, 질환 및 상태의 치료에 유용하다.

[0089] 문헌 [Rebbapragada et al. (MCB 2003;23:7230-42)]에 개시된 바와 같이, 미오스타틴 신호전달 경로는 ActRIIb에 대한 미오스타틴의 결합, 이어서 액티빈 수용체-유사 키나제 4 (ALK4) 또는 ALK5의 동원을 포함한다. ALK에 대한 결합은 Smad2/Smad3 인산화, 이어서 TGF β -유사 신호전달 경로의 활성화를 유도한다 (예를 들어 문헌 [Rebbapragada et al., MCB 2003;23:7230-42] 참조).

[0090] I. 피브로넥틴 기반 스캐폴드

[0091] 본원의 한 측면은 하나 이상의 용매 접근가능 루프가 무작위로 선정되거나 또는 돌연변이된 Fn3 도메인을 포함하는 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 일부 실시양태에서, Fn3 도메인은 인간 피브로넥틴 유형 III 도메인의 야생형 제10 모듈로부터 유래된 Fn3 도메인 (¹⁰Fn3)이다:

VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRYITYGETGGNSPVQEFVPGSKSTAT
ISGLKPGVDYTITVYAVTGRGDSPASSKPISINYRT (서열 4) (BC, DE 및 FG 루프는
밑줄표시됨).

[0092]

[0093] 다른 실시양태에서, ¹⁰Fn3의 비-리간드 결합 서열, 즉 "¹⁰Fn3 스캐폴드"를 변경시킬 수 있으며, 단 이러한 ¹⁰Fn3은 리간드 결합 기능 및/또는 구조적 안정성을 유지해야 한다. 다양한 돌연변이 ¹⁰Fn3 스캐폴드가 보고되었다. 한 측면에서, Asp 7, Glu 9 및 Asp 23 중 하나 이상은 또 다른 아미노산, 예를 들어 비-음하전 아미노산 잔기 (예를 들어, Asn, Lys 등)로 대체된다. 이러한 돌연변이는 야생형 형태와 비교하여 중성 pH에서 돌연변이 ¹⁰Fn3의 더 큰 안정성을 촉진하는 효과를 갖는 것으로 보고되었다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 02/04523 참조). 유익하거나 중성인 ¹⁰Fn3 스캐폴드에서의 다양한 추가적 변경들이 개시되었다. 예를 들어, 문헌 [Batori et al., Protein Eng., 15(12):1015-1020 (December 2002); Koide et al., Biochemistry, 40(34):10326-10333 (Aug. 28, 2001)]을 참조한다.

- [0094] 변이체와 야생형 $^{10}\text{Fn3}$ 단백질은 모두 동일한 구조, 즉 A 내지 G로 지정된 7개의 베타-가닥 도메인 서열 및 7개의 베타-가닥 도메인 서열을 연결하는 6개의 루프 영역 (AB 루프, BC 루프, CD 루프, DE 루프, EF 루프 및 FG 루프)을 특징으로 한다. N- 및 C-말단에 가장 근접하여 위치하는 베타 가닥은 용액 내에서 베타-유사 입체형태를 채택할 수 있다. 서열 4에서, AB 루프는 잔기 15-16에 상응하고, BC 루프는 잔기 21-30에 상응하고, CD 루프는 잔기 39-45에 상응하고, DE 루프는 잔기 51-56에 상응하고, EF 루프는 잔기 60-66에 상응하고, FG 루프는 잔기 76-87에 상응한다 (Xu et al., Chemistry & Biology, 9:933-942, 2002).
- [0095] 따라서, 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 4에 제시된 인간 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인에 대해 적어도 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% 또는 90% 동일한 $^{10}\text{Fn3}$ 폴리펩티드이다. 많은 변이성은 일반적으로 하나 이상의 루프에서 발생할 것이다. $^{10}\text{Fn3}$ 폴리펩티드의 각각의 베타 또는 베타-유사 가닥은 서열 4의 상응하는 베타 또는 베타-유사 가닥의 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열로 본질적으로 이루어질 수 있으며, 단 이러한 변이가 생리학적 조건에서 폴리펩티드의 안정성을 방해하지 않아야 한다.
- [0096] 일부 실시양태에서, 본 발명은 제10 피브로넥틴 유형 III ($^{10}\text{Fn3}$) 도메인을 포함하며, 여기서 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인은 루프 AB; 루프 BC; 루프 CD; 루프 DE; 루프 EF; 및 루프 FG를 포함하며, 인간 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인의 상응하는 루프의 서열에 비해 변경된 아미노산 서열을 갖는 루프 BC, DE 및 FG로부터 선택된 적어도 하나의 루프를 갖는 것인, 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 4의 비-루프 영역에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인을 포함하며, 여기서 BC, DE 및 FG로부터 선택된 적어도 하나의 루프가 변경된다. 일부 실시양태에서, BC 및 FG 루프가 변경되고, 일부 실시양태에서, BC, DE 및 FG 루프가 변경되며, 즉 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인은 비-자연 발생 루프를 포함한다. 일부 실시양태에서는, AB, CD 및/또는 EF 루프가 변경된다. "변경된"이란 주형 서열 (상응하는 인간 피브로넥틴 도메인)에 비해 하나 이상의 아미노산 서열 변경을 의미하고, 아미노산 부가, 결실, 치환 또는 이들의 조합을 포함한다. 아미노산 서열의 변경은 일반적으로 서열을 코딩하는 핵산의 의도적, 맹목적 또는 자발적 서열 변이를 통해 달성될 수 있고, 임의의 기술, 예를 들어 PCR, 오류-유발 PCR 또는 화학적 DNA 합성에 의해 발생할 수 있다.
- [0097] 일부 실시양태에서, BC, DE 및 FG로부터 선택된 하나 이상의 루프는 상응하는 인간 피브로넥틴 루프에 비해 길이가 연장되거나 단축될 수 있다. 일부 실시양태에서, 루프의 길이는 2-25개의 아미노산만큼 연장될 수 있다. 일부 실시양태에서는, 루프의 길이는 1-11개의 아미노산만큼 감소될 수 있다. 따라서, 항원 결합을 최적화하기 위해, $^{10}\text{Fn3}$ 의 루프의 길이는 항원 결합시에 가능한 최대 가요성 및 친화도를 얻도록 길이 뿐만 아니라 서열에서 변경될 수 있다.
- [0098] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열 4의 비-루프 영역에 대해 적어도 80, 85, 90, 95, 98, 99 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 Fn3 도메인을 포함하며, 여기서 BC, DE 및 FG로부터 선택된 적어도 하나의 루프가 변경된다. 일부 실시양태에서, 변경된 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이하의 아미노산 치환, 1, 2, 3 또는 4개 이하의 아미노산 결실, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이하의 아미노산 삽입, 또는 이들의 조합을 갖는다. 일부 실시양태에서, 변경된 DE 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 이하의 아미노산 치환, 1, 2, 3 또는 4개 이하의 아미노산 결실, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 13개 이하의 아미노산 삽입, 또는 이들의 조합을 갖는다. 일부 실시양태에서, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개 이하의 아미노산 치환, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11개 이하의 아미노산 결실, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25개 이하의 아미노산 삽입, 또는 이들의 조합을 갖는다.
- [0099] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 $^{10}\text{Fn3}$ 스캐폴드를 기반으로 하고, 일반적으로 하기 서열에 의해 정의된다:
- EVVAAT(Z)_aSLLI(Z)_xYYRITYGE(Z)_bQEFTV(Z)_yATI(Z)_cDYTITVYAV(Z)_zISINYRT
(서열 5)
- [0100]
- [0101] 여기서 AB 루프는 (Z)_a로 표시되고, CD 루프는 (Z)_b로 표시되고, EF 루프는 (Z)_c로 표시되고, BC 루프는 (Z)_x로 표시되고, DE 루프는 (Z)_y로 표시되고, FG 루프는 (Z)_z로 표시된다. Z는 임의의 아미노산을 나타내며, Z 뒤의

첨자는 정수인 아미노산 수를 나타낸다. 특히, a는 1-15, 2-15, 1-10, 2-10, 1-8, 2-8, 1-5, 2-5, 1-4, 2-4, 1-3, 2-3 또는 1-2개의 아미노산 중 어느 것일 수 있고; b, c, x, y 및 z는 각각 독립적으로 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 또는 6-7개의 아미노산 중 어느 것일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, a는 2개 아미노산이고, b는 7개 아미노산이고, c는 7개 아미노산이고, x는 11개 아미노산이고, y는 6개 아미노산이고, z는 12개 아미노산이다. 베타 가닥의 서열은 서열 4에 제시된 상응하는 아미노산에 비해 7개 스캐폴드 영역 전체에 걸쳐 0 내지 10, 0 내지 8, 0 내지 6, 0 내지 5, 0 내지 4, 0 내지 3, 0 내지 2 또는 0 내지 1개의 치환, 결실 또는 부가 중 어느 것을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 베타 가닥의 서열은 서열 4에 제시된 상응하는 아미노산에 비해 7개 스캐폴드 영역 전체에 걸쳐 0 내지 10, 0 내지 8, 0 내지 6, 0 내지 5, 0 내지 4, 0 내지 3, 0 내지 2 또는 0 내지 1개의 보존적 치환 중 어느 것을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 코어 아미노산 잔기는 고정되고, 임의의 치환, 보존적 치환, 결실 또는 부가는 코어 아미노산 잔기가 아닌 다른 잔기에서 발생한다.

[0102] 대안적으로, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 $^{10}\text{Fn3}$ 스캐폴드를 기반으로 하고, 일반적으로 하기 서열에 의해 정의된다:

EVVAATPTSLI(Z)_xYYRITYGETGGNSPVQEFTV(Z)_yATISGLKPGVDYTITVYAV(Z)_z
ISINYRT (서열 6)

[0103]

[0104] 여기서 BC 루프는 (Z)_x로 표시되고, DE 루프는 (Z)_y로 표시되고, FG 루프는 (Z)_z로 표시된다. Z는 임의의 아미노산을 나타내며, Z 뒤의 첨자는 정수인 아미노산 수를 나타낸다. 구체적으로, x, y 및 z는 각각 독립적으로 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 또는 6-7개의 아미노산 중 어느 것일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, x는 11개 아미노산이고, y는 6개 아미노산이고, z는 12개 아미노산이다. 베타 가닥의 서열은 서열 1에 제시된 상응하는 아미노산에 비해 7개 스캐폴드 영역 전체에 걸쳐 0 내지 10, 0 내지 8, 0 내지 6, 0 내지 5, 0 내지 4, 0 내지 3, 0 내지 2 또는 0 내지 1개의 치환, 결실 또는 부가 중 어느 것을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 베타 가닥의 서열은 서열 4에 제시된 상응하는 아미노산에 비해 7개 스캐폴드 영역 전체에 걸쳐 0 내지 10, 0 내지 8, 0 내지 6, 0 내지 5, 0 내지 4, 0 내지 3, 0 내지 2 또는 0 내지 1개의 보존적 치환 중 어느 것을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 코어 아미노산 잔기는 고정되고, 임의의 치환, 보존적 치환, 결실 또는 부가는 코어 아미노산 잔기가 아닌 다른 잔기에서 발생한다.

[0105] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 5 또는 6에 기재된 바와 같은 서열을 포함할 수 있고, 여기서 각각 (Z)_x, (Z)_y 및 (Z)_z로 표시된 BC, DE 및 FG 루프 중 적어도 하나가 변경된다. 상기 기재된 바와 같이, 서열 4의 잔기 21-30, 51-56 및 76-87에 상응하는 아미노산 잔기는 각각 BC, DE 및 FG 루프를 정의한다. 그러나, 루프 영역 내의 모든 잔기가 목적하는 표적 (예를 들어, 미오스타틴)에 대한 강한 친화도를 갖는 $^{10}\text{Fn3}$ 결합제를 달성하기 위해 변형될 필요는 없음을 이해하여야 한다.

[0106] 예를 들어, 서열 1에 제시된 BC 루프의 잔기 21 (S) 및 22 (W)는 미오스타틴에 결합하기 위해 변형될 필요가 없다. 즉, 미오스타틴에 결합하는 높은 친화도를 갖는 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인은 서열 4에 제시된 루프 BC의 잔기 23-30만을 변형하여 얻을 수 있다. 이것은 단지 밀줄표시된 위치만이 변형됨을 나타내는, 표 1에 예시된 BC 루프에서 입증된다.

[0107] 유사하게, 서열 4에 제시된 루프 DE의 위치 51 (P) 및 56 (T)은 미오스타틴에 결합하기 위해 변형될 필요가 없다. 즉, 미오스타틴에 결합하는 높은 친화도를 갖는 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인은 서열 4에 제시된 루프 DE의 잔기 52-55만을 변형하여 얻을 수 있다. 이것은 단지 밀줄표시된 위치에 걸친 잔기만이 변경됨을 나타내는, 표 1에 예시된 DE 루프에서 입증된다.

[0108] 이와 유사하게, 서열 1에 제시된 FG 루프의 위치 76 (T) 및 87 (P)은 미오스타틴에 결합하기 위해 변형될 필요가 없다. 즉, 미오스타틴에 결합하는 높은 친화도를 갖는 $^{10}\text{Fn3}$ 도메인은 서열 4에 제시된 FG 루프의 잔기 77-86만을 변형하여 얻을 수 있다. 이것은 밀줄표시된 위치에 걸친 잔기만이 변경됨을 나타내는, 표 1에 예시된 FG 루프에서 입증된다.

[0109] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 BC, DE 및 FG 루프 영역은 컨센서스 서열에 따라 기재될 수 있다. 이러한 컨센서스 서열은 표 1에 제시된 BC, DE 및 FG 루프에 의해, 및 웹로그 분석에 의

해 결정된 바와 같이 (도 2-7) 예시된다 (문헌 [Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. WebLogo: A sequence logo generator. Genome Research 2004;14:1188-1190], 본원에 전문이 참조로 포함됨). 웹로그 분석은 BC, DE 또는 FG 루프의 각각 변경된 위치에서의 아미노산 빈도를 반영하는 아미노산 서명을 생성한다.

- [0110] 예를 들어, 일부 실시양태에서, BC 루프인 $(Z)_x$ 는 컨센서스 서열 $X_1-L-P-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_1 은 S, T 또는 Y이고; X_2 는 H, Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_3 은 A, P, Q, S, F, H, N 또는 R이고; X_4 는 G 또는 A이고; X_5 는 H, L, R, V, N, D, F, I 또는 K이고; X_6 은 A, L, G, M, F, I 또는 V이고; X_7 은 H 또는 N이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, BC 루프는 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, BC 루프는 서열 34에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0111] 일부 실시양태에서, DE 루프인 $(Z)_y$ 는 컨센서스 서열 $G-R-G-X_8$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_8 은 V 또는 L이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, DE 루프는 서열 39 및 42로부터 선택된 아미노산을 포함한다. 한 실시양태에서, DE 루프는 서열 39에 기재된 아미노산을 포함한다.
- [0112] 일부 실시양태에서, FG 루프인 $(Z)_z$ 는 컨센서스 서열 $X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_9 는 L, V 또는 I이고; X_{10} 은 T 또는 S이고; X_{11} 은 K, R, A, G, S, D, H, N, T 또는 P이고; X_{12} 는 S, T, A, E, H, K 또는 N이고; X_{13} 은 K, G, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{14} 는 V, I, F, L, M, P, T 또는 Y이고; X_{15} 는 I, L 또는 Y이고; X_{16} 은 H, I, V, K, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{17} 은 Y 또는 H이고; X_{18} 은 K, M, L, R 또는 V이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, FG 루프는 서열 46, 50-62, 64-72, 75-77 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, FG 루프는 서열 75에 기재된 아미노산을 포함한다.
- [0113] 다른 실시양태에서, BC 루프인 $(Z)_x$ 는 컨센서스 서열 $X_{19}-X_{20}-P-X_{21}-G-X_{22}-A$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_{19} 는 D, E, V 또는 W이고; X_{20} 은 A, S 또는 V이고; X_{21} 은 R, A, G, K 또는 L이고; X_{22} 는 L 또는 R이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, BC 루프는 서열 8-10, 22, 32, 33 및 35로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0114] 다른 실시양태에서, DE 루프인 $(Z)_y$ 는 컨센서스 서열 $X_{23}-G-R-G-X_{24}$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_{23} 은 V, P, F, I 또는 L이고; X_{24} 는 S, N 또는 T이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, DE 루프는 서열 40, 41 및 43-45로부터 선택된 및 아미노산 서열을 포함한다.
- [0115] 다른 실시양태에서, FG 루프인 $(Z)_z$ 는 컨센서스 서열 $X_{25}-X_{26}-R-X_{27}-G-X_{28}-X_{29}-X_{30}-X_{31}-X_{32}$ 에 의해 정의되고, 여기서 X_{25} 는 I 또는 V이고; X_{26} 은 F, D 또는 Y이고; X_{27} 은 D 또는 T이고; X_{28} 은 P, M, V 또는 T이고; X_{29} 는 V, L, N, R 또는 S이고; X_{30} 은 H, T, L, N, Q 또는 S이고; X_{31} 은 F, W, Y, H 또는 L이고; X_{32} 는 D, A 또는 G이다. 특정의 바람직한 실시양태에서, FG 루프는 서열 47-49, 63, 73, 74 및 78로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0116] 따라서, 특정 실시양태에서, 본 발명은 상기 정의된 바와 같이 서열 $X_1-L-P-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ 을 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$ 및 서열 $G-R-G-X_8$ 을 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$ 를 포함하는 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프는 서열 39 및 42로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, BC 및 DE 루프는 각각 서열 34 및 39에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0117] 특정 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 $X_1-L-P-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7$ 을 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$ 및 서열 $X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ 을 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 46, 50-62, 64-72, 75-77 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, BC 및 FG 루프는 각각 서열 34 및 75에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0118] 특정 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 $G-R-G-X_8$ 을 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$ 및 서열 $X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ 을 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, DE 루프는 서열 39 및 42로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 46, 50-62, 64-72, 75-77 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, DE 및 FG 루프는 각각 서열 39 및 75에 기재된 아미노산

서열을 포함한다.

- [0119] 특정 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 X_1 -L-P- X_2 - X_3 - X_4 - X_5 - X_6 - X_7 을 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$, 서열 G-R-G- X_8 을 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$, 서열 X_9 - X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} - X_{15} - X_{16} - X_{17} - X_{18} 을 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프는 서열 39 및 42로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 46, 50-62, 64-72, 75-77 및 79로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, BC, DE 및 FG 루프는 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0120] 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 정의된 바와 같이 서열 X_{19} - X_{20} -P- X_{21} -G- X_{22} -A를 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$ 및 서열 X_{23} -G-R-G- X_{24} 를 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$ 를 포함하는 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 8-10, 22, 32, 33 및 35로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프는 서열 40, 41 및 43-45로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0121] 다른 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 X_{19} - X_{20} -P- X_{21} -G- X_{22} -A를 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$ 및 서열 X_{25} - X_{26} -R- X_{27} -G- X_{28} - X_{29} - X_{30} - X_{30} - X_{32} 를 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 8-10, 22, 32, 33 및 35로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 47-49, 63, 73, 74 및 78로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0122] 다른 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 X_{23} -G-R-G- X_{24} 를 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$ 및 서열 X_{25} - X_{26} -R- X_{27} -G- X_{28} - X_{29} - X_{30} - X_{30} - X_{32} 를 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, DE 루프는 서열 40, 41 및 43-45로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 47-49, 63, 73, 74 및 78로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0123] 다른 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 정의된 바와 같이 서열 X_{19} - X_{20} -P- X_{21} -G- X_{22} -A를 갖는 BC 루프인 $(Z)_x$, 서열 X_{23} -G-R-G- X_{24} 를 갖는 DE 루프인 $(Z)_y$, 서열 X_{25} - X_{26} -R- X_{27} -G- X_{28} - X_{29} - X_{30} - X_{30} - X_{32} 를 갖는 FG 루프인 $(Z)_z$ 를 포함한다. 특정 실시양태에서, BC 루프는 서열 8-10, 22, 32, 33 및 35로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프는 서열 40, 41 및 43-45로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프는 서열 47-49, 63, 73, 74 및 78로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0124] 특정의 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 5 또는 6에 기재된 서열을 포함하며, 여기서 각각 $(Z)_x$, $(Z)_y$ 및 $(Z)_z$ 로 표시된 BC, DE 및 FG 루프는 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79의 컨센서스 서열을 갖는 BC, DE 및 FG 루프의 각 세트에 대체된다.
- [0125] 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 5 또는 6에 기재된 서열을 포함하며, 여기서 각각 $(Z)_x$, $(Z)_y$ 및 $(Z)_z$ 로 표시된 BC, DE 및 FG 루프는 표 1에 열거된 클론의 BC, DE 또는 FG 루프 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 서열을 갖는 BC, DE 및 FG 루프의 각 세트에 대체된다.
- [0126] 예시적 실시양태에서, 본원에 기재된 바와 같은 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 5로 정의되고, 표 1에 열거된 임의의 클론으로부터의 BC, DE 및 FG 루프 서열의 각 세트를 갖는다. 예를 들어, 표 1에서의 클론 1979_B06은 각각 서열 7, 39 및 46에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함한다. 따라서, 이러한 루프를 기반으로 한 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 5 또는 6을 포함할 수 있고, 여기서 $(Z)_x$ 는 서열 7을 포함하고, $(Z)_y$ 는 서열 39를 포함하고, $(Z)_z$ 는 서열 46을 포함한다. 표 1에서의 다른 클론으로부터의 BC, DE 및 FG 루프의 세트 또는 서열 7-38, 39-45 및 46-79의 컨센서스 서열을 이용한 유사한 구축물이 고려된다. 이러한 항-미오스타틴 애드넥틴의 스캐폴드 영역은 서열 4의 스캐폴드 아미노산 잔기에 비해 0 내지 20, 0 내지 15, 0 내지 10, 0 내지 8, 0 내지 6, 0 내지 5, 0 내지 4, 0 내지 3, 0 내지 2 또는 0 내지 1개의 치환, 보존적 치환, 결실 또는 부가 중 어느 것을 포함할 수 있다. 상기 스캐폴드 변형은 항-미오스타틴 애드넥틴이 목적하는 K_D 로 갖는 미오스타틴에 결합할 수 있는 한 이루어질 수 있다.
- [0127] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 BC 루프는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된

아미노산 서열을 포함한다:

SWSLPHAGHVN (서열 7), SWVSPRGRAR (서열 8), SWEVPRGLAR (서열 9),
SWWAPLGLAR (서열 10), SWTLPHAGLAH (서열 11), SWYLPYPAHMN (서열 12),
SWSLPFAGHLN (서열 13), SWSLPYSGLAN (서열 14), SWSLPHAGHAH (서열 15),
SWTLPNFGLIN (서열 16), SWTLPHAGRAH (서열 17), SWSLPYAGHLN (서열 18),
SWSLPYAAHMN (서열 19), SWSLPYPGHLN (서열 20), SWSLPYAGHAH (서열 21),
SWDAPGGLAR (서열 22), SWSLPTPGLAH (서열 23), SWSLPHRGVAN (서열 24),
SWSLPSSGVAH (서열 25), SWSLPHHGFGH (서열 26), SWSLPHAGDAH (서열 27),
SWSLPHNGVAH (서열 28), SWSLPRQGLAN (서열 29), SWSLPGPGHFH (서열 30),
SWSLPHPLGH (서열 31), SWDAPRGLAR (서열 32), SWDAPAGLAR (서열 33),
SWSLPHQGAN (서열 34), SWDAPKGLAR (서열 35), SWSLPNPGIAH (서열 36),
SWSLPRPGNAH (서열 37) 및 SWSLPNPGNAH (서열 38).

[0128]

[0129]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 BC 루프는 표 1에 제시된 바와 같은 서열 7-38 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, BC 루프는 서열 34의 밀줄표시된 부분을 포함한다.

[0130]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 DE 루프는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

PGRGVT (서열 39), PGRGST (서열 40), LGRGST (서열 41), PGRGLT (서열 42),
IGRGST (서열 43), FGRGTT (서열 44) 및 VGRGNT (서열 45).

[0131]

[0132]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 DE 루프는 표 1에 제시된 바와 같은 서열 39-45 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, DE 루프는 서열 39의 밀줄표시된 부분을 포함한다.

[0133]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 FG 루프는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다:

TLTKSQMIHYMP (서열 46), TIYRDGMSHHDP (서열 47), TVYRDGPLLLAP (서열 48),
TIFRTGMVQYDP (서열 49), TLTNSEILYKP (서열 50), TLTKSQILHHRP (서열 51),
TLTRSKIIHYMP (서열 52), TLTHSNIIRYVP (서열 53), TVSSTKVIVYLP (서열 54),
TITKSTIIYKP (서열 55), TVTTTSVILYKP (서열 56), TLTKSQLIHYMP (서열 57),
TLTRSQVIHYMP (서열 58), TLTKSKIIHYMP (서열 59), TVSSTKVIHYKP (서열 60),
TLTKSKVIHYMP (서열 61), TVTTTKVIHYKP (서열 62), TIDRDGVNHFAP (서열 63),
TVTHHGVIYKP (서열 64), TLTGANVYIYKP (서열 65), TVTNTGVYIYKP (서열 66),
TVTATGIIYKP (서열 67), TVTRAGFYRYKP (서열 68), TVTREEVISYKP (서열 69),
TVTAAGVYIYKP (서열 70), TVTANQPIIYKP (서열 71), TITPETIIVYKP (서열 72),
TIDRDGTRSFDP (서열 73), TIFRDGPVTWDP (서열 74), TVTDTGYLKYKP (서열 75),
TLTGSDTIFYKP (서열 76), TVTGKDVYIYKP (서열 77), TIFRDGVVNYGP (서열 78)
및 TVTDTGFITYKP (서열 79).

[0134]

[0135]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 FG 루프는 표 1에 제시된 바와 같은 서열 46-79 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분을 포함한다. 한 실시양태에서, FG 루프는 서열 75의 밀줄표시된 부분을 포함한다.

[0136]

일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 표 1에 제시된 바와 같은 서열 7-38을 갖는 BC 루프 서열 또는 서열 7-38 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분으로부터 선택된 하나의 BC 루프를 포함하고; 표 1에 제시된 바와 같은 서열 39-45를 갖는 DE 루프 서열 또는 서열 39-45 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분으로부터 선택된 하나의 DE 루프를 포함하고; 표 1에 제시된 바와 같은 서열 46-79를 갖는 FG 루프 서열 또는 서열 46-79 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분으로부터 선택된 하나의 FG 루프 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79 중 어느 하나에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 BC, DE 및 FG 루프 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 표 1에 제시된 바와 같은, 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79 중 어느 하나의 밀줄표시된 부분에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 BC, DE 및 FG 루프 아미노산 서열을 포함한다.

[0137]

일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 80-123, 228-239 및 252-273 (표 2, 5 및 6으로부터의 전장 서열) 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 273의 아미노산 서열을 포함한다.

[0138]

일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 80-123, 228-239 및 252-273 중 어느 하나에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시양태에서,

항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 80-123, 228-239 및 252-273의 비-BC, DE 및 FG 루프 영역에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0139] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 273 [PRD-1474], 서열 118 [3116_A06], 서열 281 [PRD-1474 및 3116_A06에 의해 공유되는 코어 애드넥틴 서열과 그 앞에 N-말단 연장 서열 (GVSDVPRDL) 및 그 뒤에 C-말단 꼬리 (EI)] 또는 서열 331 [N-말단 리더 서열 또는 C-말단 꼬리가 없는 PRD-1474 및 3116_A06의 코어 애드넥틴 서열]에 기재된 아미노산 서열에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. PRD-1474 및 3116_A06의 코어 애드넥틴 서열은 하기에 기재된다:

EVVAATPTSLISWSLPHQKANYRITYGETGGNSPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG
VDYTITVYAVTVTDTGYLKYKPISINYRT (서열 331)

[0140]

[0141] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 118, 273, 281 또는 331의 비-BC, DE 및 FG 루프 영역에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0142] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하는 항-미오스타틴 애드넥틴에 관하여 기재될 수 있다.

[0143] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, BC 루프는 컨센서스 서열 X_{33} -L-P- X_{34} - X_{35} - X_{36} - X_{37} - X_{38} - X_{39} 에 의해 정의되고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이다.

[0144] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, DE 루프는 컨센서스 서열 G-R-G- X_{40} 에 의해 정의되고, 여기서 X_{40} 은 L이다.

[0145] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 따라서, 일부 실시양태에서, FG 루프는 컨센서스 서열 X_{41} - X_{42} - X_{43} - X_{44} - X_{45} - X_{46} - X_{47} - X_{48} - X_{49} - X_{50} 에 의해 정의되고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0146] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 X_{33} -L-P- X_{34} - X_{35} - X_{36} - X_{37} - X_{38} - X_{39} 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고, DE 루프는 화학식 G-R-G- X_{40} 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{40} 은 L이다.

[0147] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 X_{33} -L-P- X_{34} - X_{35} - X_{36} - X_{37} - X_{38} - X_{39} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고, FG 루프는 화학

식 $X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0148] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{40} 은 L이고, FG 루프는 화학식 $X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0149] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, DE 루프는 1개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖고, FG 루프는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환, 예컨대 보존적 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시양태에서, BC 루프는 화학식 $X_{33}-L-P-X_{34}-X_{35}-X_{36}-X_{37}-X_{38}-X_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{33} 은 T 또는 Y이고; X_{34} 는 Y, N, R, F, G, S 또는 T이고; X_{35} 는 A, P, S, F, H, N 또는 R이고; X_{36} 은 A이고; X_{37} 은 H, L, R, V, N, D, F 또는 I이고; X_{38} 은 L, G, M, F, I 또는 V이고; X_{39} 는 H이고; DE 루프는 화학식 $G-R-G-X_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{40} 은 L이고; FG 루프는 화학식 $X_{41}-X_{42}-X_{43}-X_{44}-X_{45}-X_{46}-X_{47}-X_{48}-X_{49}-X_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 갖고, 여기서 X_{41} 은 L 또는 I이고; X_{42} 는 S이고; X_{43} 은 K, R, A, G, S, H, N, T 또는 P이고; X_{44} 는 S, A, E, H, K 또는 N이고; X_{45} 는 K, Q, D, E, N, T 또는 S이고; X_{46} 은 V, I, F, L, M, P 또는 T이고; X_{47} 은 I 또는 Y이고; X_{48} 은 H, I, V, L, R, F, G, S 또는 T이고; X_{49} 는 H이고; X_{50} 은 M, L, R 또는 V이다.

[0150] 한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 각각 서열 34, 39 및 75에 기재된 바와 같은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하고, 항-미오스타틴 애드넥틴이 미오스타틴에 대한 결합을 유지하게 하는 BC, DE 및 FG 루프에서의 아미노산 치환을 갖는다. 이러한 아미노산 치환은, 예를 들어 실시예 8에 기재된 바와 같은 심층 돌연변이 스캐닝에 의해 결정될 수 있다.

[0151] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 화학식 $X_{51}-X_{52}-X_{53}-X_{54}-X_{55}-X_{56}-X_{57}-X_{58}-X_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 BC 루프를 포함하며, 여기서 X_{51} 은 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, C, G, L, M, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 A, C, F, H, N, P, Q, R, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, X_{51} 은 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 P로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 바람직한 실시양태에서,

X_{51} 은 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 P로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0152] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 화학식 G-R-G- X_{60} 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 DE 루프를 포함하며, 여기서 X_{60} 은 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V이다. 바람직한 실시양태에서, X_{60} 은 C, E, I, L, M, Q, T 및 V이다. 보다 바람직한 실시양태에서, X_{60} 은 C, E, I, L, M 및 V이다.

[0153] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 화학식 X_{61} - X_{62} - X_{63} - X_{64} - X_{65} - X_{66} - X_{67} - X_{68} - X_{69} - X_{70} 에 따른 아미노산 서열을 포함하는 FG 루프를 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 바람직한 실시양태에서, X_{61} 은 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, G, H, K, L, M, N, P, Q, R, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 바람직한 실시양태에서, X_{61} 은 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0154] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 X_{51} - X_{52} - X_{53} - X_{54} - X_{55} - X_{56} - X_{57} - X_{58} - X_{59} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{53} 은 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{54} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{57} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{58} 은 A, C, G, L, M, S 및 T이고; X_{59} 는 A, C, F,

H, N, P, Q, R, S 및 Y이고; DE 루프는 화학식 G-R-G- X_{60} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 X_{61} - X_{62} - X_{63} - X_{64} - X_{65} - X_{66} - X_{67} - X_{68} - X_{69} - X_{70} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0155] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 X_{51} - X_{52} - X_{53} - X_{54} - X_{55} - X_{56} - X_{57} - X_{58} - X_{59} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; DE 루프는 화학식 G-R-G- X_{60} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 C, E, I, L, M, Q, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 X_{61} - X_{62} - X_{63} - X_{64} - X_{65} - X_{66} - X_{67} - X_{68} - X_{69} - X_{70} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{70} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0156] 보다 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 BC, DE 및 FG 루프를 포함하며, 여기서 BC 루프는 화학식 X_{51} - X_{52} - X_{53} - X_{54} - X_{55} - X_{56} - X_{57} - X_{58} - X_{59} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{51} 은 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{52} 는 L이고; X_{53} 은 P이고; X_{54} 는 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{55} 는 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{56} 은 G이고; X_{57} 은 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{58} 은 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{59} 는 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고; DE 루프는 화학식 G-R-G- X_{60} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 은 C, E, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; FG 루프는 화학식 X_{61} - X_{62} - X_{63} - X_{64} - X_{65} - X_{66} - X_{67} - X_{68} - X_{69} - X_{70} 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{61} 은 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{62} 는 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y이고; X_{63} 은 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{64} 는 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{65} 는 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{66} 은 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{67} 은 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{68} 은 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고; X_{69} 는 W 및 Y로 이루어진 군으로부터

선택되고; X_{70} 은 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0157] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 124-167, 240-251 및 284-305 (표 2, 5 및 6으로부터의 전장 서열) 중 어느 하나에 기재된 바와 같은 핵산 서열에 의해 코딩된다. 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 서열 124-167, 240-251 및 284-305 중 어느 하나에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 핵산 서열에 의해 코딩된다.

[0158] 피브로넥틴은 그의 인테그린-결합 모티프인 "아르기닌-글리신-아스파르트산" (RGD)을 통해 특정 유형의 인테그린에 천연적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 (RGD) 인테그린 결합 모티프가 결합된 ¹⁰Fn3 도메인을 포함한다. 인테그린 결합 도메인은 아미노산 치환, 결실 또는 삽입에 의해 RGD 서열을 변경하여 제거될 수 있다.

[0159] 일부 실시양태에서, 표 1에 제시된 바와 같은, 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79 중 어느 하나의 밑줄표시된 부분과 동일한 BC, DE 및/또는 FG 루프 아미노산 서열은 비-¹⁰Fn3 도메인 단백질 스캐폴드 내로 이식된다. 예를 들어, 하나 이상의 루프 아미노산 서열은 항체 중쇄 또는 경쇄 또는 그의 단편의 하나 이상의 CDR 루프와 교환되거나 그 내로 삽입된다. 다른 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 루프 서열이 교환되거나 그 내로 삽입된 단백질 도메인은 컨센서스 Fn3 도메인 (미국 센토코르), 안키린 반복 단백질 (몰레큘라 파트너스 아게 (Molecular Partners AG), 스위스 취리히), 도메인 항체 (도만티스 리미티드(Domantis, Ltd), 매사추세츠주 캄브리지), 단일 도메인 낙타류 나노바디 (아블링스(Ablynx), 벨기에), 리포칼린 (예를 들어, 안티칼린; 피에리스 프로테오랩 아게(Pieris Proteolab AG), 독일 프라이징), 아비머 (암젠(Amgen), 캘리포니아주), 아피바디 (아피바디 아게(Affibody AG), 스웨덴), 유비퀴틴 (예를 들어, 아펠린; 실 프로테인즈 게엠베하(Scil Proteins GmbH), 독일 할레), 단백질 에피토프 모방체 (폴리포르 리미티드(Polyphor Ltd), 스위스 알슈빌), 나선형 다발 스캐폴드 (예를 들어, 알파바디; 콤플릭스(Complix), 벨기에), Fyn SH3 도메인 (코바겐 아게(Covagen AG), 스위스) 또는 아트리머 (아나포르, 인크.(Anaphor, Inc.), 캘리포니아주)를 포함한다.

[0160] 본 발명의 예시적인 항-미오스타틴 애드넥틴의 BC, DE 및 FG 루프의 서열 번호는 표 1에 제시된다.

[0161] <표 1>

항-미오스타틴 애드넥틴 BC, DE 및 FG 루프						
클론	루프 서열					
	BC 루프	서열 번호	DE 루프	서열 번호	FG 루프	서열 번호
1979_B06	<u>SWSLPHAGHVN</u>	7	<u>PGRGVT</u>	39	<u>TLTKSQMIHYMP</u>	46
2062_G02	<u>SWVSPRGRAR</u>	8	<u>PGRGST</u>	40	<u>TIYRDGMSHHP</u>	47
2522_C09	<u>SWEVPRGLAR</u>	9	<u>LGRGST</u>	41	<u>TVYRDGPILLAP</u>	48
2523_G06	<u>SWWAPLGLAR</u>	10	<u>PGRGST</u>	40	<u>TIFRTGMVQYDP</u>	49
2524_C11	<u>SWTLPHAGLAH</u>	11	<u>PGRGVT</u>	39	<u>TLTNSEILYKP</u>	50
2524_D09	<u>SWYLPYPAHMN</u>	12	<u>PGRGLT</u>	42	<u>TLTKSQILHHRP</u>	51

[0162]

항-미오스타틴 에드벡틴 BC, DE 및 FG 루프						
클론	루프 서열					
	BC 루프	서열 번호	DE 루프	서열 번호	FG 루프	서열 번호
2524_E10	SWSLPFAGHLN	13	PGRGVT	39	TLTRSKIIHYMP	52
2524_H05	SWSLPYSGLAN	14	PGRGVT	39	TLTHSNIIIRYVP	53
2524_H11	SWSLPHAGHAH	15	PGRGVT	39	TVSSTKVIVYLP	54
2525_B01	SWTLPNFGLIN	16	PGRGVT	39	TITKSTIIHYKP	55
2525_D02	SWTLPHAGRAH	17	PGRGVT	39	TVTTTSVILYKP	56
2525_D05	SWSLPYAGHLN	18	PGRGVT	39	TLTKSQLIHYMP	57
2525_F07	SWSLPYAAHMN	19	PGRGVT	39	TLTRSQVIHYMP	58
2987_A06	SWSLPHAGHAH	15	PGRGVT	39	TLTKSKIIHYMP	59
2987_B04	SWSLPYPGHLN	20	PGRGVT	39	TLTKSKIIHYMP	59
2987_B09	SWTLPHAGRAH	17	PGRGVT	39	TLTRSKIIHYMP	52
2987_C02	SWSLPYAGHAH	21	PGRGVT	39	TLTKSKIIHYMP	59
2987_D05	SWSLPHAGHAH	15	PGRGVT	39	TLTRSKIIHYMP	52
2987_E03	SWSLPYPGHLN	20	PGRGVT	39	TLTRSKIIHYMP	52
2987_E08	SWTLPHAGRAH	17	PGRGVT	39	TVSSTKVIHYKP	60
2987_F01	SWSLPYAGHAH	21	PGRGVT	39	TLTRSKIIHYMP	52
2987_F06	SWSLPHAGHAH	15	PGRGVT	39	TLTKSKVIHYMP	61
2987_G04	SWSLPYPGHLN	20	PGRGVT	39	TLTKSKVIHYMP	61
2987_G09	SWTLPHAGRAH	17	PGRGVT	39	TVSSTKVIVYLP	54
2987_H02	SWSLPYAGHAH	21	PGRGVT	39	TLTKSKVIHYMP	61
2987_H07	SWTLPHAGRAH	17	PGRGVT	39	TVTTTKVIHYKP	62
3006_A10	SWDAPGGLAR	22	IGRGST	43	TIDRDGVNHFAP	63
3007_B08	SWSLPTPGLAH	23	PGRGVT	39	TVTHHGVIHYKP	64
3007_C09	SWSLPHRGVAN	24	PGRGVT	39	TLTGANVVIHYKP	65
3007_C10	SWSLPSSGVAH	25	PGRGVT	39	TVTNTGVIIHYKP	66
3008_A03	SWSLPHHGFGH	26	PGRGVT	39	TVTATGIIHYKP	67
3008_B08	SWSLPHAGDAH	27	PGRGVT	39	TVTRAGFYRYKP	68
3008_D04	SWSLPHNGVAH	28	PGRGVT	39	TVTREEVISYKP	69
3008_F01	SWSLPROGLAN	29	PGRGVT	39	TVTAAGVVIHYKP	70
3008_G01	SWSLPGPGHFH	30	PGRGVT	39	TVTANQPIHYKP	71
3008_G03	SWSLPHPGGLGH	31	PGRGVT	39	TITPETIIVYKP	72
3115_D04	SWDAPRGLAR	32	FGRGTT	44	TIDRDGTRSFD	73
3115_E06	SWDAPAGLAR	33	VGRGNT	45	TIFRDGPVTWDP	74
3116_A06	SWSLPHQGKAN	34	PGRGVT	39	TVTDTGYLKYKP	75
3116_A07	SWDAPKGLAR	35	VGRGNT	45	TIFRDGPVTWDP	74
3116_C01	SWSLPNPGIAH	36	PGRGVT	39	TLTGSDTIFYKP	76
3116_C06	SWSLPRPGNAH	37	PGRGVT	39	TVTGDVVIKYKP	77
3116_H06	SWDAPAGLAR	33	VGRGNT	45	TIFRDGVVNYGP	78
3146_A08	SWSLPNPGNAH	38	PGRGVT	39	TVTDTGFITYKP	79

[0163]

[0164]

본 발명의 예시적인 항-미오스타틴 모노에드벡틴의 서열 번호는 표 2에 제시된다.

[0165] <표 2>

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
1979_B06 (또한 본원에서 ATI- 1133 으로 언급됨) (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이탤릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 1 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHAGHVNYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQMIHYMPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 80)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGATGCT GGTCATGTGAACATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACCTCTGACTAAATCTCAGATGATCCA TTACATGCCAATTTCCATTAATTACCGCAC AGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCAC (서열 124)
2062_G02 (또한 본원에서 ATI- 1134 로 언급됨) (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이탤릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 2 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WVSPRGRARYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGSTATISGLKPGV DYTITVYAVTIYRDGMSHHDPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 81)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGTTTCTCCGCGTGGT CGTGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTTCTAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTACCGTGACGGTATGTCTCATCAT GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 125)
2522_C09 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이탤릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 3 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WEVPRGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVLGRGSTATISGLKPGV DYTITVYAVTVYRDGPLLLAPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 82)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGAAAGTGCCGCTGGC CTAGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCTTGGTCGTGGTTCTAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTGTGTACCGTGACGGGCCGTTGCTTCTT GCCCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 126)
2523_G06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이탤릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 4 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WWAPLGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGSTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRTGMVQYDPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 83)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTGGGCCCCGCTGGGT CTTGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGGTCGGGGCTCTAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTCCGTACGGGCATGGTTCAATAT GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 127)

[0166]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2524_C11 (AdNT1 (발출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 5 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WTLPHAGLAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTNSEIILYKPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 84)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGACTCTGCCGATGCT GGTCTTGCGCACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACTCTGACTAATTCTGAGATTATCCTT TACAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCAC AGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCAC (서열 128)
2524_D09 (AdNT1 (발출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 6 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WYLPYPAHMNYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGLTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQILHHRPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 85)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTACCTCCCGTATCCT GCGCATATGAACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGGCGGGTCT GACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACTCTGACAAAATCTCAGATTCTCCA TCATAGGCCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 129)
2524_E10 (AdNT1 (발출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 7 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPFAGHLNYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKIIHYMPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 86)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCAATGCCGTTTGCTG GTCATTTGAACTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGT ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTCTGACTCGCTCTAAGATTATTCATTA TATGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAG AAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCAC CACCACCAC (서열 130)
2524_H05 (AdNT1 (발출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 8 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYSGLANYYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTHSNIIRYVPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 87)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCTTATTCTG GCCTTGCGAACTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGGGTT ACAGCTACTATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTCTGACTCACTCTAATATAATTGAT ACGTGCCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCA CCACCACCAC (서열 131)

[0167]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2524_H11 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 9 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVSSTKVIVYLPIS INRYTEIDKPSQH HHHHHH (서열 88)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCCCTACCGCATGCG GGTCATGCGCACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGAGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCATGTGTCTAGTACAAAGGTGATAGT TTACCTGCCAATTTCCATTAATTACCGCAC AGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCAC (서열 132)
2525_B01 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 10 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WTLPNFGLINYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGVTATISGLKPGV DYTITVYAVTITKSTIIYKPISINY RTEIDKPSQH HHHHHH (서열 89)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGACTTTGCCGAATTTT GGTCTTATTAATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGT ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTATCACCAAAATCTACTATCATCATT CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAG AAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCAC CACCACCAC (서열 133)
2525_D02 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 11 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTTTSVILYKPIS INRYTEIDKPSQH HHHHHH (서열 90)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGACTTTGCCGCATGCT GGTCGTGCGCACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGGCGGGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCATGTGACGACAACCTTCGGTGATCCT TTACAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 134)
2525_D05 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 12 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPYAGHLNYYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQLIHYMPI SINYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 91)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTTTCCTTATGCTG GTCATCTAAACTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGTG ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTCTGACTAAGTCTCAGCTGATACATT ACATGCCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCA CCACCACCAC (서열 135)

[0168]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2525_F07 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 13 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSPYAAHMNYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSQVIHYMPI SINYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 92)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCT GGAAGTGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGTATGCT GCTCACATGAACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCCTGTCGCTGGTCTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACCTTTGACTAGATCACAGGTGATTCA TTACATGCCAATTTCCATTAATTACCGCAC AGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCAC (서열 136)
2987_A06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 14 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSPYHAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSKIIHYMPIS INRYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 93)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCCATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCTGGTGTGA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCGTGACCAAAAAGCAAAATTATTCAATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 137)
2987_B04 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 15 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSPYPGHLNYYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSKIIHYMPIS INRYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 94)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATCCG GGTCATCTGAATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCTGGTGTGA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCGTGACCAAAAAGCAAAATTATTCAATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 138)
2987_B09 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 16 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSIIHYMPIS INRYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 95)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGACCTGCCCATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCTGGTGTGA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCGTGACCCGCAGCAAAATTATTCAATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 139)

[0169]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2987_C02 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 17 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSKIIHYMPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 96)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCAAAAGCAAAATTATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 140)
2987_D05 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 18 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKIIHYMPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 97)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCCGAGCAAAATTATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 141)
2987_E03 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 19 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKIIHYMPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 98)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATCCG GGTCATCTGAATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCCGAGCAAAATTATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 142)
2987_E08 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 20 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVSSTKVIHYKPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 99)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGACCTGCCGATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTAACCGTTTATGCAGTT ACCGTTAGCAGACCAAAAGTGATTTCATTA TAAACCGATTAGCATTAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 143)

[0170]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2987_F01 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이벨릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 21 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKIIHYMPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHHH (서열 100)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCCGCAGCAAAATTATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 144)
2987_F06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이벨릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 22 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKVIHYMPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHHH (서열 101)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCAAAAAGCAAAGTGATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 145)
2987_G04 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이벨릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 23 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSLPYPGHLNRYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTRSKVIHYMPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHHH (서열 102)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATCCG GGTCATCTGAATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCCTGACCAAAAAGCAAAGTGATTCATTA TATGCCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 146)
2987_G09 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이벨릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 24 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVSSTKVIVYLPIS INRYRTEIDKPSQHSHHHHHH (서열 103)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGACCTGCCGCATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCGTTAGCAGCACCAAAGTTATTGTTTA TCTGCCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 147)

[0171]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
2987_H02 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 25 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSPYAGHAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSKVIHYMPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 104)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAAGCC TGCTGATTAGCTGGTCACTGCCGTATGCA GGTCATGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCAATTACCGTTTATGCAGTT ACCTGACCAAAAGCAAAGTGATTTCATTA TATGCCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 148)
2987_H07 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 26 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTTTKVIHYKPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 105)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAAGCC TGCTGATTAGCTGGACCTGCCGATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCAATTACCGTTTATGCAGTT ACCGTTACCACCACAAAGTGATTTCATTA TAAACCGATTAGCATTAAATTATCGCACCG AAATTGATAAACCGAGCCAGCATCATCAT CACCATCAT (서열 149)
3006_A10 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 27 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WDAPGGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVIGRGSTATISGLKPGVD YTITVYAVTIDRDGVNHFAPISIN YRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 106)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGCTGCCACCCCGACCAAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGGTGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCCTGTGATCGGTCTGGTAGCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCGACCGTGACGGTGTCAACCACTTC GCCCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 150)
3007_B08 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 28 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSLPTPLAHYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGVTATISGLKPGV DYTITVYAVTVTHHGVIKPIPI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 107)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGCTGCCACCCCGACCAAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACTCCA GGTCTCGCCATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCCTGTGCTGGTCTGGTGTGTT ACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTGTCACTCATCACGGCGTCACTCGGCT ACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCA CCACCACCAC (서열 151)

[0172]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
3007_C09 (AdNT1 (밀출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 29 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSLPHRGVANYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTGANVVIYKPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 108)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGTTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACCGT GGTGTGCGCAATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTCTCACTGGAGCGAACGTCATCAT CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 152)
3007_C10 (AdNT1 (밀출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 30 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSLPSSGVAHYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGVTATISGLKPGV DYTITVYAVTVTNTGVIIYKPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 109)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGTTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGAGCAGC GGTGTGCGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTCACTAAGTGGTGTATCAT CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 153)
3008_A03 (AdNT1 (밀출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 31 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSLPHHGFHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTATGIIYKPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 110)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGTTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACATCAC GGTTTCGGCCATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTGTCACTGCTACGGGGATCATCATCT ACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCA CCACCACCAC (서열 154)
3008_B08 (AdNT1 (밀출표시) 및 AdCT1 (이탈릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 32 서열)	MGVSDVPRDLEVVAAATPTSLIS WSLPHAGDAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTRAGFYRYKPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 111)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGTTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACGCGC GGTGACGCCCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTACTAGAGCGGGTTTCTACCG CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 155)

[0173]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
3008_D04 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 33 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHNGVAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTREEVISYKPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 112)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGCATAAT GGTGTGCGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTCACTCGGGAGGAAGTCATCAG CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 156)
3008_F01 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 34 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPRQGLANYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTAAGVIIYKPIS INYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 113)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGCGTCAG GGTCTCGCCAATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTCACTGCTGTGGGGTCATCAT CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 157)
3008_G01 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 35 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPGPGHFHYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGVTATISGLKPGV DYTITVYAVTVTANQPIIYKPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 114)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGGGACCG GGTCACTTCCATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTGTCACTGCTAACCAGCCCATCATCT ACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCA CCACCACCAC (서열 158)
3008_G03 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 36 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHPLGHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTIPETIIYKPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 115)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGTGTCACCCCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACCCCC GGTCTCGGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCATATCACTCCGGAACGATCATCGT CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 159)

[0174]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
3115_D04 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 37 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPRGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVFGRTTATISGLKPGV DYTITVYAVTIDRDGTRSFDPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 116)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGAGAGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCCTGTGTTCGGTCTGGTACCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCGACCGTGACGGTACCCGACGCTTC GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 160)
3115_E06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 38 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPAGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVVGRTTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRDGPVTWDPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 117)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCCTGTGTTCGGTCTGGTAAACAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTCCGTGACGGTCCCGTCACCTGG GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 161)
3116_A06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 39 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHQGKANYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVDGTGLKYKPI SINYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 118)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACCAA GGTAAAGCCAATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCCTGTGCTGCTGGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACTGTTACTGATACAGGGTACCTCAA GTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 162)
3116_A07 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 40 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPKGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVVGRTTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRDGPVTWDPISI NYRTEIDKPSQHSHHHHH (서열 119)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCCAACAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGAAGGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCCTGTGTTCGGTCTGGTAAACAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTCCGTGACGGTCCCGTCACCTGG GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 163)

[0175]

항-미오스타틴 모노에드백틴		
	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
3116_C01 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 41 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPNPGIAHYRITYGETGGNS PVQEFTVPGRGVTATISGLKPGV DYTITVYAVTLTGSDTIFYKPI SI NYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 120)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGAATCCC GGTATCGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCTGTGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTCTCACTGGCAGTGACACCATCTT CTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 164)
3116_C06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 42 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPNPGNAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVVTGKDVIKYKPI SINYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 121)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGCGCGCC GGTAACGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCTGTGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTACTGGCAAAGATGTCATCAA GTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 165)
3116_H06 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 43 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPAGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVVGRGNTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRDGVVNYGPISI NYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 122)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCAGTGTGGTCGGTCTGTGGTAACAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTTCCGTGACGGTGTCTCAACTAC GGCCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCAGCACCATCACC ACCACCAC (서열 166)
3146_A08 (AdNT1 (밀줄표시) 및 AdCT1 (이텔릭체) 말단 서열과 His6 태그를 갖는 에드백틴 코어 44 서열)	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPNPGNAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVDTGFTYKPI SINYRTEIDKPSQH HHHHHH (서열 123)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGAATCCG GGTAACGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCAGTGTGCCTGGTCTGTGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCCTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCAGTGTACTGACACAGGTTTCATCAC GTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCAT CACCACCACCAC (서열 167)

[0176]

[0177]

교차-경쟁 애드백틴 및/또는 동일한 애드백틴 결합 부위에 결합하는 애드백틴

[0178]

한 실시양태에서, 본 발명의 애드백틴은 미오스타틴에의 결합에 대해 본원에 기재된 특정한 항-미오스타틴 애드백틴과 경쟁한다 (예를 들어, 교차-경쟁한다). 이러한 경쟁 애드백틴은 표준 미오스타틴 결합 검정에서 본원에 기재된 애드백틴의 미오스타틴에의 결합을 경쟁적으로 억제하는 그의 능력을 기초로 확인될 수 있다. 예를 들어, 제조한 미오스타틴 단백질을 플레이트 상에 고정하고, 애드백틴 중 하나를 형광 표지하고, 표지된 애드백틴의 결합과 경쟁하는 비-표지된 애드백틴의 능력을 평가하는 표준 ELISA 검정이 사용될 수 있다.

[0179]

한 실시양태에서, 경쟁적 ELISA 포맷은 2종의 항-미오스타틴 애드백틴이 미오스타틴 상의 애드백틴 결합 부위에 중첩하여 결합하는지 여부를 결정하기 위해 수행될 수 있다. 한 포맷에서, 애드백틴 #1을 플레이트 상에 코팅한 다음, 차단하고, 세척한다. 이 플레이트에 미오스타틴을 단독으로 첨가하거나 또는 포화 농도의 애드백틴 #2와 함께 예비인큐베이션 한 미오스타틴을 첨가한다. 적합한 인큐베이션 주기 후에, 플레이트를 세척하고, 폴리클로날 항-미오스타틴 항체, 예컨대 비오티닐화 염소 항-미오스타틴 폴리클로날 항체 (알앤디 시스템즈(R&D Systems))로 탐침하고, 이어서 스트렙타비딘-HRP 접합체 및 표준 테트라메틸벤지딘 전개 절차를 이용하여 검출한다. OD 신호가 애드백틴 #2와 함께 예비인큐베이션을 수행한 경우와 수행하지 않은 경우에 동일하다면, 2종의 애드백틴은 서로 독립적으로 결합하고 이들의 애드백틴 결합 부위는 중첩하지 않는다. 그러나, 미오스타틴/애드백틴#2 혼합물을 수용한 웰에 대한 OD 신호가 미오스타틴을 단독으로 수용한 웰에 대한 경우보다 더 낮다면, 애드백틴 #2의 결합은 애드백틴 #1의 미오스타틴에 대한 결합을 차단하는 것으로 확인된다.

- [0180] 대안적으로, 유사한 실험이 표면 플라즈몬 공명 (SPR, 예를 들어 비아코어)에 의해 수행된다. 애드넥틴 #1을 SPR 칩 표면 상에 고정하고, 이어서 미오스타틴을 단독으로 주입하거나 또는 포화 농도의 애드넥틴 #2와 함께 예비인큐베이션한 미오스타틴을 주입한다. 미오스타틴/애드넥틴#2 혼합물에 대한 결합 신호가 미오스타틴의 단독에 대한 경우와 동일하거나 더 높다면, 2종의 애드넥틴은 서로 독립적으로 결합하고 이들의 애드넥틴 결합 부위는 중첩하지 않는다. 그러나, 미오스타틴/애드넥틴#2 혼합물에 대한 결합 신호가 미오스타틴 단독에 대한 결합 신호보다 더 낮다면, 애드넥틴 #2의 결합은 애드넥틴 #1의 미오스타틴에 대한 결합을 차단하는 것으로 확인된다. 이러한 실험의 특징은 포화 농도의 애드넥틴 #2의 사용이다. 미오스타틴이 애드넥틴 #2로 포화되지 않는다면, 상기 결론은 유지되지 않는다. 임의의 2종의 미오스타틴 결합 단백질이 중첩 애드넥틴 결합 부위에 결합하는지 여부를 결정하기 위해 유사한 실험이 사용될 수 있다.
- [0181] 상기 예시된 두가지 검정은 또한, 애드넥틴#2가 고정되고 미오스타틴-애드넥틴#1이 플레이트에 첨가되는 역 순서로 수행될 수 있다. 대안적으로, 애드넥틴 #1 및/또는 #2는 모노클로날 항체 및/또는 가용성 수용체-Fc 융합 단백질로 대체될 수 있다.
- [0182] 또 다른 실시양태에서, 경쟁은 실시예 4에 기재된 바와 같은 HTRF 샌드위치 검정을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0183] 다른 실시양태에서, 경쟁 애드넥틴은 본원에 기재된 특정한 항-미오스타틴 애드넥틴과 동일한 미오스타틴 상의 애드넥틴 결합 부위에 결합하는 애드넥틴이다. 애드넥틴이 참조 애드넥틴과 동일한 애드넥틴 결합 부위에 결합하는지 여부를 결정하기 위해 표준 맵핑 기술, 예컨대 프로테아제 맵핑, 돌연변이 분석, X선 결정학 및 2-차원 핵 자기 공명이 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조).
- [0184] 항-미오스타틴 애드넥틴과 경쟁하는 후보는 미오스타틴에 대한 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 결합을 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 억제시킬 수 있다. % 경쟁은 상기 기재된 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0185] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴과 경쟁하는 분자는 애드넥틴일 필요가 없지만, 미오스타틴에 결합하는 임의의 유형의 분자, 예컨대 항체, 소분자, 펩티드 등 (이에 제한되지는 않음)일 수 있다.
- [0186] 일부 실시양태, 본 발명의 애드넥틴은 미오스타틴 상의 불연속적 애드넥틴 결합 부위에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 55-66 내의 영역에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 85-101 내의 영역에 결합한다. 또 다른 실시양태, 폴리펩티드는 미오스타틴 (서열 3)의 아미노산 85-101 및 55-66의 2개 영역 내에 결합한다.
- [0187] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 미오스타틴에의 결합에 대해 ActRIIB와 경쟁하지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 미오스타틴에의 결합에 대해 ALK4 및/또는 ALK5와 경쟁한다.
- [0188] II. 연장 서열
- [0189] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴 분자는 N-말단 연장 서열 및/또는 C-말단 연장부를 포함하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, MG 서열이 서열 4에 의해 정의되는 ¹⁰Fn3의 N-말단에 위치할 수 있다. 상기 M은 보통 절단 분리되어 N-말단에 G를 남기게 된다. 대안적으로, 표 2에 제시된 항-미오스타틴 애드넥틴의 처음 10개의 아미노산은 표 7에 제시된 바와 같은, 본원에서 N-말단 연장부로 언급되는 다른 N-말단 서열로 대체될 수 있다. M, G 또는 MG는 또한 표 7에 제시된 임의의 N-말단 연장부의 N-말단에 위치할 수 있다. 본원에 기재된 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 본원에서 C-말단 연장 서열로 언급되는 다른 C-말단 꼬리 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 표 2에 제시된 항-미오스타틴 애드넥틴 서열은 서열 4의 T94에 상응하는 트레오닌에서 말단절단 (즉, 서열의 INYRT (서열 168) 부분 다음에서 말단절단)될 수 있다. 상기 말단절단된 버전은 말단절단된 형태로 치료 분자로서 사용될 수 있거나, 또는 다른 C-말단 연장부가 트레오닌 잔기 다음에 부가될 수 있다. 예시적인 C-말단 연장 서열은 표 7에 제시된다. C-말단 연장 서열을 포함하는 예시적인 항-미오스타틴 애드넥틴은 표 2에 서열 80-123으로서 제시된다. 예를 들어, 서열 80 (클론 1979_B06)은 자연 발생 C-말단 연장 EIDKPSQ (서열 211)에 이어서 His6 태그 (서열 328)를 포함한다. 그러나, His6 태그는 완전히 임의적임을 이해하여야 한다.
- [0190] 특정 실시양태에서, C-말단 연장 서열 ("꼬리"로도 지칭됨)은 E 및 D 잔기를 포함하며, 길이가 8 내지 50, 10 내지 30, 10 내지 20, 5 내지 10 및 2 내지 4개 사이의 아미노산일 수 있다. 일부 실시양태에서, 꼬리 서열은

ED-기재 링커를 포함하며, 여기서 서열은 ED의 직렬 반복부를 포함한다. 예시적인 실시양태에서, 꼬리 서열은 2-10, 2-7, 2-5, 3-10, 3-7, 3-5, 3, 4 또는 5개의 ED 반복부를 포함한다. 특정 실시양태에서, ED-기재 꼬리 서열은 또한, 예를 들어 EI, EID, ES, EC, EGS 및 EGC와 같은 추가의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 상기 서열은 부분적으로는, 잔기 D 및 K가 제거된, EIDKPSQ (서열 211)와 같은 공지의 애드넥틴 꼬리 서열을 기재로 한다. 예시적인 실시양태에서, ED-기재 꼬리는 ED 반복부 앞에 E, I 또는 EI 잔기를 포함한다.

[0191] 다른 실시양태에서, N- 또는 C-말단 서열은 항-미오스타틴 애드넥틴 융합 분자를 설계할 때 필요한 공지의 링커 서열 (예를 들어, 표 4에서의 서열 181-227)과 조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 서열은 약동학적 모이어티의 부착을 용이하게 하기 위해 ¹⁰Fn3 도메인의 C-말단에 위치할 수 있다. 예를 들어, 시스테인 함유 링커, 예컨대 GSGC (서열 189)가 시스테인 잔기에 대한 부위 지정 PEG화를 용이하게 하기 위해 C-말단에 부가될 수 있다. 시스테인 함유 링커를 포함하는 예시적인 항-미오스타틴 애드넥틴은 표 5에 서열 228-239로서 제시된다.

[0192] III. 약동학적 모이어티

[0193] 한 측면에서, 본원은 약동학적 (PK) 모이어티를 추가로 포함하는 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 개선된 약동학은 인지된 치료 필요성에 따라 평가할 수 있다. 종종, 가능하게는 단백질이 투여 후에 혈청 내에서 이용 가능한 상태로 유지되는 시간을 증가시켜 생체이용률을 증가시키고/거나 투여 사이의 시간을 증가시키는 것이 바람직하다. 일부 경우에, 시간에 걸친 단백질의 혈청 농도의 지속성을 개선하는 (예를 들어, 투여 직후 및 다음 투여 직전에 단백질의 혈청 농도의 차이를 감소시키는) 것이 바람직하다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 포유동물 (예를 들어, 마우스, 래트 또는 인간)에서 폴리펩티드의 클리어런스를 비변형 항-미오스타틴 애드넥틴에 비해 2배 초과, 3배 초과, 4배 초과 또는 5배 초과로 감소시키는 모이어티에 부착될 수 있다. 개선된 약동학의 다른 척도는 종종 알파 기 및 베타 기로 분류되는 혈청 반감기를 포함할 수 있다. 어느 한 기 또는 두 기 모두가 적절한 모이어티의 첨가에 의해 유의하게 개선될 수 있다. 예를 들어, PK 모이어티는 폴리펩티드의 혈청 반감기를 Fn3 도메인 단독에 비해 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 200, 400, 600, 800, 1000% 초과로 또는 그보다 크게 증가시킬 수 있다.

[0194] 혈액으로부터 단백질의 클리어런스를 늦추는 모이어티 (본원에서 "PK 모이어티"로서 지칭됨)는 폴리옥시알킬렌 모이어티 (예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜), 당 (예를 들어, 시알산) 및 내약성이 우수한 단백질 모이어티 (예를 들어, Fc 및 그의 단편 및 변이체, 트랜스페린 또는 혈청 알부민)를 포함한다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한, 미국 공개 번호 2007/0048282에 기재된 바와 같이 알부민 또는 알부민의 단편 (부분) 또는 변이체에 융합될 수 있거나, 본원에 기재된 바와 같이 애드넥틴에 결합하는 하나 이상의 혈청 알부민에 융합될 수 있다.

[0195] 본 발명에 사용될 수 있는 다른 PK 모이어티는 문헌 [Kontermann et al., (Current Opinion in Biotechnology 2011;22:868-76)] (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 것을 포함한다. 이러한 PK 모이어티는 인간 혈청 알부민 융합체, 인간 혈청 알부민 접합체, 인간 혈청 알부민 결합체 (예를 들어, 애드넥틴 PKE, AlbuAb, ABD), XTEN 융합체, PAS 융합체 (즉, 3개의 아미노산인 프롤린, 알라닌 및 세린을 기재로 한 재조합 PEG 모방체), 탄수화물 접합체 (예를 들어, 히드록시에틸 전분 (HES)), 글리코실화, 폴리시알산 접합체 및 지방산 접합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0196] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 중합체성 당인 PK 모이어티에 융합된 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 일부 실시양태에서, PK 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티 또는 Fc 영역이다. 일부 실시양태에서, PK 모이어티는 혈청 알부민 결합 단백질, 예컨대 미국 공개 번호 2007/0178082 및 2007/0269422에 기재된 것이다. 일부 실시양태에서, PK 모이어티는 인간 혈청 알부민이다. 일부 실시양태에서, PK 모이어티는 트랜스페린이다.

[0197] 폴리에틸렌 글리콜

[0198] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다. PEG는 상업적으로 입수 가능하거나 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 따라 에틸렌 글리콜을 개환 중합시켜 제조될 수 있는 널리 공지된 수용성 중합체이다 (Sandler and Karo, Polymer Synthesis, Academic Press, New York, Vol. 3, pages 138-161). 용어 "PEG"는 크기 또는 PEG의 말단에서의 변형과 관계 없이 임의의 폴리에틸렌 글리콜 분자를 포괄하도록 광범위하게 사용되고, 화학식 $X-O(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2OH$ 로 표시될 수 있으며, 여기서 n은 20 내지 2300이고, X는 H 또는 말단 변형, 예를 들어 C₁₋₄ 알킬이다. PEG는 결합 반응에 필요한 추가의 화학적 기를 함유할 수 있으며, 이는 분자의 화학적 합성으로부터 비롯되거나 또는 분자 일부의 최적 거리를 위한 스페이서로서 작용한다. 또한, 이러한 PEG는 함께 연결되는 하나 이상의 PEG 측쇄로 이루어질 수 있다. 1개 초과 PEG

쇄를 갖는 PEG는 다지형 또는 분지형 PEG로 지칭된다. 분지형 PEG는, 예를 들어 유럽 공개 출원 번호 473084A 및 미국 특허 번호 5,932,462에 기재되어 있다.

- [0199] 하나 이상의 PEG 분자는 단백질 상의 상이한 위치에 부착될 수 있고, 상기 부착은 아민, 티올 또는 다른 적합한 반응성 기와의 반응에 의해 달성될 수 있다. 아민 모이어티는, 예를 들어 폴리펩티드의 N-말단에서 발견되는 1 급 아민 또는 아미노산, 예컨대 리신 또는 아르기닌에 존재하는 아민 기일 수 있다. 일부 실시양태에서, PEG 모이어티는 a) N-말단; b) N-말단과 대부분의 N-말단 베타 가닥 또는 베타-유사 가닥 사이; c) 표적-결합 부위 반대편의 폴리펩티드의 안면에 위치한 루프; d) C-말단과 대부분의 C-말단 베타 가닥 또는 베타-유사 가닥 사이; 및 e) C-말단으로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리펩티드 상의 위치에 부착된다.
- [0200] PEG화는 적합한 반응성 기가 단백질 내로 도입되어 PEG화가 우선적으로 일어나는 부위를 생성하는 부위-지정 PEG화에 의해 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단백질은 시스테인 잔기를 목적하는 위치에 도입하여, 시스테인에 대한 부위 지정 PEG화를 허용하도록 변형된다. 돌연변이를 단백질 코딩 서열 내로 도입하여 시스테인 잔기를 생성시킬 수 있다. 이는, 예를 들어 하나 이상의 아미노산 잔기를 시스테인으로 돌연변이시켜 달성할 수도 있다. 시스테인 잔기로 돌연변이시키는데 바람직한 아미노산에는 세린, 트레오닌, 알라닌 및 기타 친수성 잔기가 포함된다. 바람직하게, 시스테인으로 돌연변이시킬 잔기는 표면-노출된 잔기이다. 일차 서열 또는 단백질을 기준으로 하여 잔기의 표면 접근성을 예측하는 알고리즘이 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 대안적으로, 결합 폴리펩티드를 설계하고 발전시킨 것을 기초로 하여 프레임워크의 결정 구조를 해결하였고 (문헌 [Himanen et al., Nature 2001;414:933-8] 참조) 이로써 표면-노출된 잔기를 확인하였다는 사실을 고려해 볼 때, 결합 폴리펩티드의 아미노산 서열을 비교하여 표면 잔기를 예측할 수 있다. 시스테인 잔기의 PEG화는, 예를 들어 PEG-말레이미드, PEG-비닐술폰, PEG-아이오도아세트아미드 또는 PEG-오르토퍼리딜 디술피드를 사용하여 수행할 수 있다.
- [0201] PEG는 폴리펩티드 상의 목적하는 부위에의 커플링에 적절한 적합한 활성화 기로 활성화된다. PEG화 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 문헌 [Zalipsky, S., et al., "Use of Functionalized Poly(Ethylene Glycols) for Modification of Polypeptides" in Polyethylene Glycol Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications, J. M. Harris, Plenus Press, New York (1992), 및 Zalipsky (1995) Advanced Drug Reviews 16: 157-182]에 추가로 기재되어 있다.
- [0202] PEG는 분자량이 매우 다양할 수 있고, 분지형이거나 선형일 수 있다. 전형적으로, PEG의 중량 평균 분자량은 약 100 달톤 내지 약 150,000 달톤이다. PEG에 대한 예시적인 중량 평균 분자량은 약 20,000 달톤, 약 40,000 달톤, 약 60,000 달톤 및 약 80,000 달톤을 포함한다. 특정 실시양태에서, PEG의 분자량은 40,000 달톤이다. 상기한 것 중 임의의 총 분자량을 갖는 PEG의 분지형 버전이 또한 사용될 있다. 일부 실시양태에서, PEG는 2개의 분지를 갖는다. 다른 실시양태에서, PEG는 4개의 분지를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, PEG는 2개의 애드넥틴이 접합된 비스-PEG (노프 코포레이션(NOF Corporation), DE-200MA)이다 (예를 들어, 실시예 1 및 표 5의 ATI-1341 참조).
- [0203] 관련 기술분야에 공지된 통상적인 분리 및 정제 기술, 예컨대 크기 배제 (예를 들어, 겔 여과) 및 이온 교환 크로마토그래피를 사용하여 PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴을 정제할 수 있다. 생성물은 또한 SDS-PAGE를 사용하여 분리할 수 있다. 분리할 수 있는 생성물은 모노-, 디-, 트리-, 폴리- 및 비-PEG화 애드넥틴, 뿐만 아니라 유리 PEG를 포함한다. 모노-PEG 접합체의 백분율은 조성물 중 모노-PEG의 백분율을 증가시키기 위해 용리 피크 주변의 보다 넓은 분획을 모음으로써 제어할 수 있다. 약 90% 모노-PEG 접합체는 수율과 활성 간의 우수한 밸런스를 나타낸다.
- [0204] 일부 실시양태에서, PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴은 바람직하게는 비변형 항-미오스타틴 애드넥틴과 연관된 생물학적 활성의 적어도 약 25%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%를 유지할 것이다. 일부 실시양태에서, 생물학적 활성은 K_D , k_{on} 또는 k_{off} 에 의해 평가된 바와 같이, 미오스타틴에 결합할 수 있는 그의 능력을 지칭한다. 일부 실시양태에서, PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴은 비-PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴에 비해 미오스타틴에 대한 결합의 증가를 나타낸다.
- [0205] 예시적인 PEG-변형된 항-미오스타틴 애드넥틴이 표 5에 제시된다.
- [0206] 이뮤노글로불린 Fc 도메인 (및 단편)
- [0207] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 이뮤노글로불린 Fc 도메인 또는 그의 단편 또는 변이체에 융합된다. 본원에 사용된 "기능적 Fc 영역"은 FcRn에 결합하는 능력을 유지하는 Fc 도메인 또는 그의 단편이다. 일

부 실시양태에서, 기능적 Fc 영역은 FcRn에 결합하지만, 이펙터 기능을 지니지 않는다. FcRn에 결합하기 위한 Fc 영역 또는 그의 단편의 능력은 관련 기술분야에 공지된 표준 결합 검정에 의해 결정될 수 있다. 다른 실시양태에서, Fc 영역 또는 그의 단편은 FcRn에 결합하고, 천연 Fc 영역의 적어도 하나의 "이펙터 기능"을 지닌다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항-미오스타틴 애드넥틴)과 조합될 것을 요구하고, 이러한 항체 이펙터 기능을 평가하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정을 사용하여 이를 평가할 수 있다.

[0208] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. "변이체 Fc 영역"은 하나 이상의 아미노산 변형을 통해 천연 서열 Fc 영역과는 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 1개 이상의 아미노산 치환을 갖고, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역에서 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본원에서의 변이체 Fc 영역은 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과의 서열 동일성이 약 80% 이상일 것이고, 더욱 바람직하게는 서열 동일성이 약 90% 이상일 것이며, 가장 바람직하게는 서열 동일성이 약 95% 이상일 것이다.

[0209] 예시적인 실시양태에서, Fc 도메인은 IgG1 하위부류로부터 유래하지만, 다른 하위부류 (예를 들어, IgG2, IgG3 및 IgG4)도 사용될 수 있다. 인간 IgG1 이뮤노글로불린 Fc 도메인의 서열이 하기에 제시된다:

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K (서열 169).

[0210]

[0211] 코어 힌지 서열은 밑줄표시되고, CH2 및 CH3 영역은 통상적인 문자로 나타낸다. C-말단 리신은 임의적임을 이해하여야 한다.

[0212] 융합체는 항-미오스타틴 애드넥틴을 Fc 분자의 어느 하나의 말단에 부착시켜 형성될 수 있다 (즉, Fc-항-미오스타틴 애드넥틴 또는 항-미오스타틴 애드넥틴-Fc 배열). 특정 실시양태에서, Fc 및 항-미오스타틴 애드넥틴은 링커를 통해 융합된다. 예시적인 링커 서열은 다음을 포함한다:

GAGGGGSG (서열 181), EPKSSD (서열 182), D, ESPKAQASSVPTAQPAEGLA (서열 183), ELQLEESAAEAQDGELD (서열 184), QPDEPGGS (서열 185),
GSGSGSGSGSGS (서열 186), ELQLEESAAEAQEGELE (서열 187), GSGSG (서열 188), GSGC (서열 189), AGGGGSG (서열 190), GSGS (서열 191), QPDEPGGS (서열 192), GSGSGS (서열 193), TVAAPS (서열 194), KAGGGGSG (서열 195),
KSGSGSGSGSGS (서열 196), KQPDEPGGS (서열 197), KELQLEESAAEAQDGELD (서열 198), KTVAAPS (서열 199), KAGGGGSGG (서열 200), KSGSGSGSGSGSG (서열 201), KQPDEPGGS (서열 202), KELQLEESAAEAQDGELDG (서열 203),
KTVAAPSG (서열 204) AGGGGSGG (서열 205), AGGGGSG (서열 206),
GSGSGSGSGSGSG (서열 207), QPDEPGGS (서열 208) 및 TVAAPSG (서열 209).

[0213]

[0214] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴 융합체에 사용되는 Fc 영역은 Fc 분자의 힌지 영역을 포함한다. 본원에 사용된 "힌지" 영역은 IgG1 Fc 영역의 서열 169의 위치 1-16에 걸친 코어 힌지 잔기 (DKTHTCPPCPAPELLG; 서열 170)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴-Fc 융합체는 부분적으로는 힌지 영역 내의 서열 169의 위치 6 및 9에서의 시스테인 잔기로 인해 다량체 구조 (예를 들어, 이량체)를 채택한다. 다른 실시양태에서, 본원에 사용된 힌지 영역은 서열 169에 제시된 바와 같은 코어 힌지 서열에 플랭킹된 CH1 및 CH2 영역으로부터 유래되는 잔기를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 힌지 서열은 GSTHTCPPCPAPELLG (즉, PRD-932에 대한 힌지 서열; 서열 180)이다.

[0215] 일부 실시양태에서, 힌지 서열은 바람직한 약동학적, 생물물리학적 및/또는 생물학적 특성을 부여하는 치환을

포함할 수 있다. 일부 예시적인 힌지 서열은 다음을 포함한다:

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS (서열 171; 코어 힌지 영역이 밑줄표시됨),
 EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS (서열 172; 코어 힌지 영역이 밑줄표시됨),
 EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS (서열 173; 코어 힌지 영역이 밑줄표시됨),
 DKTHTCPPCPAPELLGGPS (서열 174; 코어 힌지 영역이 밑줄표시됨) 및
 DKTHTCPPCPAPELLGGSS (서열 175; 코어 힌지 영역이 밑줄표시됨).

[0216]

[0217]

한 실시양태에서, 서열 169의 위치 18에서의 잔기 P는 Fc 이펙터 기능을 제거하기 위해 S로 대체되었으며; 이 대체는 서열 172, 173 및 175 중 어느 하나를 갖는 힌지에 예시된다. 또 다른 실시양태에서, 서열 169의 위치 1-2에서의 잔기 DK는 잠재적 클립 부위를 제거하기 위해 GS로 대체되었으며; 이 대체는 서열 173에 예시된다. 또 다른 실시양태에서, 인간 IgG1 (즉, 도메인 CH1-CH3)의 중쇄 불변 영역에 상응하는 서열 176의 위치 103에서의 C는 경쇄 부재시 부적당한 시스테인 결합 형성을 방지하기 위해 S로 대체되었으며; 이 대체는 서열 171-173에 예시된다.

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
 QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 176).

[0218]

[0219]

특정 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴-Fc 융합체는 하기 배위를 가질 수 있다: 1) 항-미오스타틴 애드넥틴-힌지-Fc 또는 2) 힌지-Fc-항-미오스타틴 애드넥틴. 따라서, 본 발명의 임의의 항-미오스타틴 애드넥틴은 상기 배위에 따른 힌지 서열을 포함하는 Fc 영역에 융합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커가 항-미오스타틴 애드넥틴을 힌지-Fc 모이어티에 연결하기 위해 사용될 수 있고, 예를 들어 예시적인 융합 단백질은 항-미오스타틴 애드넥틴-링커-힌지-Fc 또는 힌지-Fc-링커-항-미오스타틴 애드넥틴 배위를 가질 수 있다. 추가로, 융합 폴리펩티드가 생산되는 시스템에 따라, 리더 서열이 융합 폴리펩티드의 N-말단에 위치할 수 있다. 예를 들어, 융합체가 포유동물 시스템에서 생산될 경우, 리더 서열, 예컨대 METDTLLLVVLLVWPGSTG (서열 177)가 융합 분자의 N-말단에 부가될 수 있다. 융합체가 이. 콜라이(E. coli)에서 생산될 경우, 융합 서열 앞에 메티오닌이 존재할 것이다.

[0220]

하기 서열은 항-미오스타틴 애드넥틴-힌지-Fc 구축물을 예시한다:

GVSDVPRDLEVVAAATPTSLISWTLPHAGRAHYRITYGETGGNSPVQEFTVPGRGVTAII
 SGLKPGVDYITIVYAVTVTTTKVIHYKPISINYRTEIEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
 LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
 VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (PRD-1171; 서열 253).

[0221]

[0222]

리더 서열은 볼드체이고, 항-미오스타틴 애드넥틴 서열은 이탤릭체이고, 힌지 영역은 밑줄표시된다. C-말단 리신은 임의적임을 이해하여야 한다.

[0223] 여기서, Fc 도메인은 하기와 같은 인간 IgG1 CH2 및 CH3 영역을 포함한다:

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 178) 및 힌지 서열
DKTHTCPPCPAPELLG (서열 170).

[0224]

[0225] 하기 서열은 Fc-항-미오스타틴 애드넥틴 구축물을 예시한다:

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLTPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
QLEESAAEAQEGELE**GVSDVPRD**LEVVAATPTSLISWLPHQKANYRYITYGETGGNS
PVQEFVTPGRGVTAISGLKPGVDYITIVYAVTVTDITGLKYKPIISINRYTEI (PRD-1474;
서열 273).

[0226]

[0227] 힌지 영역은 밑줄표시되고, 리더 서열은 볼드체이고, 항-미오스타틴 애드넥틴 서열은 이탤릭체이다.

[0228] 여기서, Fc 도메인은 하기와 같은 인간 IgG1 CH2 및 CH3 영역을 포함한다:

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP (서열 179) 및 힌지 서열
DKTHTCPPCPAPELLG (서열 170).

[0229]

[0230] 예시적인 항-미오스타틴 애드넥틴-Fc 융합체 및 Fc-항-미오스타틴 애드넥틴 융합체는 표 6에 제시된다 (서열 252-273). 모든 서열은 메티오닌 또는 포유동물 리더 서열로 시작할 수 있다 (예를 들어, 서열 177).

[0231] 애드넥틴

[0232] 일부 실시양태에서 PK 모이어티는 예를 들어 US 2012/0094909 (본원에 그 전문이 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 혈청 단백질 (예를 들어, 인간 혈청 알부민)에 특이적인 또 다른 애드넥틴이다. 본 발명의 애드넥틴과 함께 사용될 수 있는 다른 PK 모이어티는 상기 논의된 바와 같은 문헌 [Kontermann et al. (Current Opinion in Biotechnology 2011;22:868-76)]에 개시된다. 예를 들어, 이러한 애드넥틴 기반 PK 모이어티는 직접적으로 또는 폴리펩티드 링커를 통해 간접적으로 항-미오스타틴 애드넥틴에 연결될 수 있다. Fn3 도메인 연결에 적합한 링커는 별개의 도메인이 서로 독립적으로 폴딩하여 표적 분자에 대한 고친화도 결합을 허용하는 3차원 구조를 형성하도록 하는 것이다. 예시적인 폴리펩티드 링커는 PSTSTST (서열 210), EIDKPSQ (서열 211) 및 GS 링커, 예컨대 GSGSGSGSGS (서열 213) 및 이들의 다량체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 글리신-세린 기재 링커이다. 이러한 링커는 글리신 및 세린 잔기를 포함하며, 길이가 8 내지 50, 10 내지 30 및 10 내지 20개 아미노산 사이일 수 있다. 예는 아미노산 서열 (GS)₇ (서열 215), G(GS)₆ (서열 216) 및 G(GS)₇G (서열 217)를 갖는 링커를 포함한다. 다른 링커는 글루탐산을 함유하고, 예를 들어 (GSE)₅ (서열 218) 및 GGSEGGSE (서열 219)를 포함한다. 다른 예시적인 글리신-세린 링커는 (GS)₄ (서열 212), (GGGGS)₇ (서열 220), (GGGGS)₅ (서열 221) 및 (GGGGS)₃G (서열 222)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커는 글리신-프롤린 기재 링커이다. 이러한 링커는 글리신 및 프롤린 잔기를 포함하며, 길이가 3 내지 30, 10 내지 30 및 3 내지 20개 아미노산 사이일 수 있다. 예는 아미노산 서열 (GP)₃G (서열 223), (GP)₅G (서열 224) 및 GPG를 갖는 링커를 포함한다. 다른 실시양태에서, 링커는 3 내지 30, 10 내지 30 및 3 내지 20개 아미노산 사이의 길이를 갖는 프롤린-알라닌 기재 링커일 수 있다. 프롤린 알라닌 기재 링커의 예는, 예를 들어 (PA)₃ (서열 225), (PA)₆ (서열 226) 및 (PA)₉ (서열 227)를 포함한다. 최적 링커 길이 및 아미노산 조성은 본원에 제공된 교시내용에 비추어 통상적인 실험에

의해 결정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은, 예를 들어 혈액 또는 표적 조직에서 프로테아제에 의해 절단가능한 프로테아제 부위를 갖는 폴리펩티드 링커를 통해 항-HSA 애드넥틴에 연결된다. 상기 실시양태는 보다 우수한 전달 또는 치료 특성 또는 보다 효율적인 생산을 위해 항-미오스타틴 애드넥틴을 방출시키는데 사용될 수 있다.

[0233] 추가의 링커 또는 스페이서는 Fn3 도메인과 폴리펩티드 링커 사이의 Fn3 도메인의 N-말단 또는 C-말단에 도입될 수 있다.

[0234] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 직접적으로 또는 중합체 링커를 통해 간접적으로 항-HSA 애드넥틴에 연결될 수 있다. 중합체 링커는 하기의 특징들 중 하나 이상을 갖는 단백질 융합체를 생성시키기 위하여 융합체 각 성분 사이의 거리를 최적으로 변화시키는데 사용될 수 있다: 1) 관심 단백질에 결합될 때, 하나 이상의 단백질 도메인 결합의 감소 또는 증가된 입체 장애, 2) 증가된 단백질 안정성 또는 용해도, 3) 감소된 단백질 응집, 및 4) 증가된 단백질의 전체적 결합력 또는 친화도.

[0235] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은, 예를 들어 생체적합성 중합체, 예컨대 중합체성 당을 통해 항-HSA 애드넥틴에 연결된다. 중합체성 당은 혈액 또는 표적 조직에서 효소에 의해 절단가능한 효소 절단 부위를 포함할 수 있다. 상기 실시양태는 보다 우수한 전달 또는 치료 특성 또는 보다 효율적인 생산을 위해 항-미오스타틴 애드넥틴을 방출시키는데 사용될 수 있다.

[0236] 모노애드넥틴 및 그의 상응하는 PK 모이어티 변형 형태 (예를 들어, PEG화 및 Fc 융합)의 개요가 표 3에 제시된다.

[0237] <표 3>

모노-애드넥틴 ^a	시스테인 돌연변이체 [변형] ^b	X-링커-Fc ^c	Fc-링커-X ^d
1979_B06 (서열 80)	ATI-1107 (서열 229) [40k 2-br]		
2062_G02 (서열 81)	ATI-1106 (서열 228) [40k 2-br]		
2522_C09 (서열 82)			
2523_G06 (서열 83)			
2524_C11 (서열 84)			
2524_D09 (서열 85)	ATI-1275 (서열 231) [NEM]; ATI-1276 (서열 231) [40k 2-br]		

[0238]

모노- 에드넥틴 ^a	시스테인 돌연변이체 [변형] ^b	X-링커-Fc ^c	Fc-링커-X ^d
2524_E10 (서열 86)			
2524_H05 (서열 87)			
2524_H11 (서열 88)			
2525_B01 (서열 89)			
2525_D02 (서열 90)	ATI-1267 (서열 230) [NEM]; ATI-1266 (서열 230) [40k 2-br]		
2525_D05 (서열 91)	ATI-1277 (서열 232) [NEM]; ATI-1278 (서열 232) [40k 2-br]		PRD-932 [L1] (서열 252)
2525_F07 (서열 92)			
2987_A06 (서열 93)			
2987_B04 (서열 94)			
2987_B09 (서열 95)			
2987_C02 (서열 96)			
2987_D05 (서열 97)			
2987_E03 (서열 98)			
2987_E08 (서열 99)			
2987_F01 (서열 100)			
2987_F06 (서열 101)			
2987_G04 (서열 102)			
2987_G09 (서열 103)			
2987_H02 (서열 104)			

[0239]

모노- 애드넥틴 ^a	시스테인 돌연변이체 [변형] ^b	X-링커-Fc ^c	Fc-링커-X ^d
2987_H07 (서열 105)	ATI-1310 (서열 233) [없음]; ATI-1340 (서열 233) [NEM]; ATI-1338 (서열 233) [40k 2-br]; ATI-1359 (서열 233) [His없음, 40k 2-br]; ATI-1339 (서열 233) [40k 4-br]; ATI-1341 (서열 233) [20k 비스-PEG]	PRD-1171[L2] (서열 253); PRD- 1173[L3] (서열 254); PRD- 1174[L4] (서열 255)	PRD-1175[L1] (서열 256); PRD- 1177[L5] (서열 257); PRD- 1178[L6] (서열 258); PRD- 1180[L7] (서열 259); PRD- 1471[L8] (서열 270)
3006_A10 (서열 106)			
3007_B08 (서열 107)			
3007_C09 (서열 108)			
3007_C10 (서열 109)			
3008_A03 (서열 110)			
3008_B08 (서열 111)			
3008_D04 (서열 112)			
3008_F01 (서열 113)			
3008_G01 (서열 114)			
3008_G03 (서열 115)			
3115_D04 (서열 116)	ATI-1375 (서열 235) [40k 2-br]	PRD-1301[L2] (서열 265)	PRD-1284[L5] (서열 260)
3115_E06 (서열 117)	ATI-1376 (서열 236) [40k 2-br]	PRD-1302[L2] (서열 266)	PRD-1285[L5] (서열 261); PRD- 1472[L8] (서열 271)
3116_A06 (서열 118)	ATI-1379 (서열 239) [40k 2-br]; ATI-1523 (서열 239) [NEM]	PRD-1305[L2] (서열 269)	PRD-1288[L5] (서열 264); PRD- 1474[L8] (서열 273)
3116_A07 (서열 119)	ATI-1377 (서열 237) [40k 2-br]	PRD-1303[L2] (서열 267)	PRD-1286[L5] (서열 262); PRD- 1473[L8] (서열 272)
3116_C01 (서열 120)			

[0240]

모노- 애드넥틴 ^a	시스테인 돌연변이체 [변형] ^b	X-링커-Fc ^c	Fc-링커-X ^d
3116_C06 (서열 121)			
3116_H06 (서열 122)			
3146_A08 (서열 123)	ATI-1378 (서열 238) [40k 2-br]	PRD-1304[L2] (서열 268)	PRD-1287[L5] (서열 263)

[0241]

[0242] ^a 비변형 모노애드넥틴은 표 2에 제시된 바와 같이 코어 애드넥틴 서열과 그 앞에 N-말단 연장 서열 (MGVSDVPRDL; 서열 306) 및 그 뒤에 C-말단 꼬리 (EIDKPSQHSHHHH; 서열 325)를 갖는다. 코어 애드넥틴 서열은 N-말단 연장부 및 C-말단 꼬리 서열이 결핍된 모노애드넥틴 서열에 상응한다.

[0243] ^b 시스테인 돌연변이체를 갖는 애드넥틴은 제1 열에서의 모노애드넥틴의 코어 애드넥틴 서열을 갖고, 표 5에 제시된 바와 같이 N-말단 연장 서열 (MGVSDVPRDL; 서열 306)이 그 앞에 있고 C-말단 꼬리 (GSGC[변형]HHHHHH; 서열 326 또는 EGSGC[변형]HHHHHH; 서열 327)가 그 뒤에 있다.

[0244] ^c C-말단 상에 Fc 모이어티를 갖는 애드넥틴은 제1 열에서의 모노애드넥틴의 코어 애드넥틴 서열을 갖고, 표 6

에 제시된 바와 같이 N-말단 연장 서열 (GVSDVPRDL; 서열 307)이 그 앞에 있고 C-말단 꼬리 (EI)가 그 뒤에 있고, 이어서 링커 서열 (표 4) 및 Fc 영역 서열이 있다.

^d N-말단 상에 Fc 모이어티를 갖는 애드넥틴은 Fc 영역 서열을 갖고, 그 앞에 N-말단 힌지 서열이 있고 그 뒤에 링커 (표 4) 및 제1 열에서의 모노애드넥틴의 코어 애드넥틴 서열이 있고, 코어 애드넥틴 서열 그 자체는 표 6에 제시된 바와 같이 N-말단 연장 서열 (GVSDVPRDL; 서열 307)이 그 앞에 있고 C-말단 꼬리 (EI)가 그 뒤에 있다.

본 발명의 예시적인 링커의 서열 번호는 표 4에 제시된다.

<표 4>

서열 번호	링커	서열
181	L1	GAGGGGSG
182	L2	EPKSSD
---	L3	D
183	L4	ESPKAQASSVPTAQPAEGLA
184	L5	ELQLEESAAEAQDGELD
185	L6	GQPDEPGGS
186	L7	GGSGSGSGSGSGS
187	L8	ELQLEESAAEAQEGELE
추가 예시적인 링커		
188	L9	GSGSG
189	L10	GSGC
190	L11	AGGGGSG
191	L12	GSGS
192	L13	QPDEPGGS
193	L14	GSGSGS
194	L15	TVAAPS
195	L16	KAGGGGSG
196	L17	KGSGSGSGSGSGS
197	L18	KQPDEPGGS
198	L19	KELQLEESAAEAQDGELD
199	L20	KTVAAPS
200	L21	KAGGGGSGG
201	L22	KGSGSGSGSGSGSG
202	L23	KQPDEPGGSG
203	L24	KELQLEESAAEAQDGELDG
204	L25	KTVAAPSG
205	L26	AGGGGSGG
206	L27	AGGGGSG
207	L28	GSGSGSGSGSGSG
208	L29	QPDEPGGSG
209	L30	TVAAPSG
210	L31	PSTSTST
211	L32	EIDKPSQ
212	L33	GSGSGSGS
213	L34	GSGSGSGSGS
214	L35	GSGSGSGSGSGS
215	L36	GSGSGSGSGSGSGS
216	L37	GSGSGSGSGSGSGS
217	L38	GSGSGSGSGSGSGSG
218	L39	GSEGSEGSEGSE
219	L40	GGSEGGSE
220	L41	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG
221	L42	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG
222	L43	GGGSGGGSGGGSG
223	L44	GPGPGPG
224	L45	GPGPGPGPGPG
---	L46	GPG
225	L47	PAPAPA
226	L48	PAPAPAPAPAPA
227	L49	PAPAPAPAPAPAPAPA

본 발명의 예시적인 PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴의 서열 번호는 표 5에 제시된다.

[0250] <표 5>

PEG 화 항-미오스타틴 애드백틴		
클론	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
ATI-1106 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WVSPRGRARYYRITYGETGGNS PVQEFVTPGRGSTATISGLKPGV DYTITVYAVTIYRDGMSHHPISI NYRTGSGC[변형]HHHHHH (서열 228)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGTTTCTCCGCGTGGT CGTGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTTCTAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTACCGTGACGGTATGTCTCATCAT GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGG TAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (서열 240)

[0251]

PEG 화 항-미오스타틴 애드백틴		
클론	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
ATI-1107 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSPHAGHVNYRITYGETGGN SPVQEFVTPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQMIHYMPI SINYRTGSGC[변형]HHHHHH (서열 229)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGCATGCT GGTCATGTGAATAATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACCTCTGACTAAATCTCAGATGATCCA TTACATGCCAATTTCCATTAATTACCGCAC AGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATC AC (서열 241)
ATI-1266 [40K 2-분지 PEG] ATI-1267 [N-에틸말레이미드]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFVTPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTITTSVILYKPIS INRYTEGSGC[변형]HHHHHH (서열 230)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGACTTTGCCGCATGCT GGTCGTGCGCACTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGGCGGGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACCTGTGACGACAACTTCGGTGATCCT TTACAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCAC CATCAC (서열 242)
ATI-1275 [N-에틸말레이미드] ATI-1276 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WYLPYPAHMNYRITYGETGGN SPVQEFVTPGRGLTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQLHHRPIS INRYTEGSGC[변형]HHHHHH (서열 231)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTACCTCCCGTATCCT GCGCATATGAATAATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGGCGGGGTCT GACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACCTGTGACAAATCTCAGATTCTCCA TCATAGGCCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCAC CATCAC (서열 243)
ATI-1277 [N-에틸말레이미드] ATI-1278 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLIS WSPYAGHLNYYRITYGETGGN SPVQEFVTPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTLTKSQLIHYMPI SINYRTGSGC[변형]HHHHHH (서열 232)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTTCCCTATGCTG GTCATCTAAACTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCC AGGAGTTCACTGTGCCTGGTCGTGGTGTG ACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGT CACTCTGACTAAGTCTCAGCTGATACATT ACATGCCAATTTCCATTAATTACCGCACA GAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCA TCAC (서열 244)

[0252]

PEG 화 항-미오스타틴 애드벡틴		
클론	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
ATI-1310 [유리 Cys] ATI-1338 [40K 2-분지 PEG] ATI-1339 [40K 4-분지 PEG] ATI-1340 [N-에틸말레이미드] ATI-1341 [20K 미스-PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTTTKVIHYKPI SINYRTEGSGC[변형]JHHHHHH (서열 233)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGACCCCTGCCGCATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCGTTACCACCACCAAAGTGATTCATTA TAAACCGATTTCATTAATTACCGCACAG AAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCAT CAC (서열 245)
ATI-1359 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WTLPHAGRAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYTITVYAVTVTTTKVIHYKPI SINYRTEGSGC[변형]JHHHHHH (서열 234)	ATGGGTGTTAGTGATGTTCCGCGTGATCT GGAAGTTGTTGCAGCAACCCCGACCAGCC TGCTGATTAGCTGGACCCCTGCCGCATGCA GGTCGTGCACATTATTATCGTATTACCTAT GGTGAAACCGGTGGTAATAGTCCGGTTCA GGAATTCACCGTTCCGGGTCGTGGTGTTA CCGCAACCATTAGCGGTCTGAAACCGGGT GTTGATTACACCATTACCGTTTATGCAGTT ACCGTTACCACCACCAAAGTGATTCATTA TAAACCGATTTCATTAATTACCGAACAG AAGGTAGCGGTTGC (서열 246)
ATI-1375 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPRGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVFGRTTATISGLKPGV DYTITVYAVTIDRDGTRSFDPISI NYRTEGSGC[변형]JHHHHHH (서열 235)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGCTGCCACCCCGACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGAGAGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGTTCCGGTCGTGGTACCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCGACCGTGACGGTACCCGCAGCTTC GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATC AC (서열 247)
ATI-1376 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPAGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVVGRGNTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRDGPVTDWPISI NYRTEGSGC[변형]JHHHHHH (서열 236)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCT GGAAGTGTTGCTGCCACCCCGACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGGTCGGTCGTGGTAACAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTTCCGTGACGGTCCCGTCACCTGG GACCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATC AC (서열 248)

[0253]

PEG 화 항-미오스타틴 애드벡틴		
클론	서열	
	아미노산 서열	핵산 서열
ATI-1377 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WDAPKGLARYRITYGETGGNS PVQEFTVVGRGNTATISGLKPGV DYTITVYAVTIFRDGPVTWDPISI NYRTEGSGC[변형]HHHHHHH (서열 237)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGAAGGGT CTGGCTCGATATTACCGCATCACTTACGG CGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAG GAGTTCACTGTGGTCCGTGCTGGTAACAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCG TTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCA CTATCTTCCGTGACGGTCCCGTCACCTGG GACCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATC AC (서열 249)
ATI-1378 [40K 2-분지 PEG]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPNPGNAHYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYITITVYAVTVDTGFIYKPI INRTEGSGC[변형]HHHHHHH (서열 238)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGAATCCG GGTAACGCCATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTGGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACTGTTACTGACACAGGTTTCATCAC GTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCAC CATCAC (서열 250)
ATI-1379 [40K 2-분지 PEG] ATI-1523 [N-에틸말레이미드]	MGVSDVPRDLEVVAATPTSLIS WSLPHQGGKANYRITYGETGGN SPVQEFTVPGRGVTATISGLKPG VDYITITVYAVTVDTGYLKYKPI SINRTEGSGC[변형]HHHHHHH (서열 239)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCT GGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCC TGCTGATCAGCTGGTCTCTGCCGACCAA GGTAAAGCCAATTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTC CAGGAGTTCACTGTGCCTGGTGGTGGTGT TACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCT GTCACTGTTACTGATACAGGGTACCTCAA GTACAAACCAATTTCCATTAATTACCGCA CAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCAC CATCAC (서열 251)

[0254]

[0255] 본 발명의 예시적인 Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴의 서열 번호는 표 6에 제시된다.

[0256] <표 6>

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
PRD-932	EPKSSGSTHTC PPCPAPELLGG SSVFLFPPKPK DTLMISRTPEV TCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWL	EPKSSGSTHTCP PCPAPELLGGSS VFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKV	GAGGGGSG (서열 181)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWSLP YAGHLNYYRITYG ETGGNSPVQEFTV PGRGVTATISGLK PGVDYITVYAVT LTKSqlihympis INRTEI (서열 282)	GAGCCCAAATCTAGCGGGTC GACTCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAACTCCTG GGGGGAAGCTCAGTCTTCT CTCCCCCAAACCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCG ACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTC

[0257]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	NGKEYKCKVSN KALPAPIEKT SKAKGQPREPQ VYTLPPSRDEL VYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENNY KTTPPVLDSDG SFFLYSKLTV KSRWQQGNVFS CSVMHEALHNH YTKKSLSLSPG AGGGGSGVSD VPRDLEVVAAT PTLISWVSLP YAGHLNYRIT YGETGGNSPVQ EFTVPGRGVTA TISGLKPGVDY TITVYAVTLTK SQLIHYMPI NYRTEI (서열 252)	SNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDEL KNQVSLTCLVKG FYPSTIAVEWES NGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSL SP (서열 274)			AACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCGCGGGAGGAGCAG TACAACAGCAGTACCGTGT GGTGAGCGTCTCACCGTCC TGCACCGAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCCTGCCCCCATCCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCA GGTGAGCGTGAATGCTGCTGG TCAAAGGCTTCTATCCGAGC GACATCGCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCGAGCCGAGA ACAACTACAAGCCAGCCT CCGGTGCTGGACTCCGACGG CTCCTTCTCCTTACAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGC AGGTGGCAGCAGGGGAACGT CTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCGAAGAGCCTCTC CCTGCTCTCCCGGCGCCGAG GCGGCGGATCCGGTGGAGTT TCTGATGTCCGCGCGACCT GGAAGTGGTGTGCCACCC CCACGAGCTGCTGATCAGC TGGTCTCTTCTTATGCTGG TCATCTAACTATTACCGCA TCACTTACGGCGAAACAGGA GGCAATAGCCCTGTCAGGA GTTCACTGTGCTGGTCTGTG GTGTGACAGCTACCATCAGC GGCTTAAACCTGGCGTTGA TTATACCATCACTGTGTATG CTGTCACTCTGACTAAGTCT CAGCTGATACATTACATGCC AATTTCATTATACCGGA CCGAAATC (서열 284)
PRD-1171	GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WTLPHAGRAHY YRITYGETGGN SPVQEFTVPGR GVTATISGLKP GVDYITITVAV TVTTTKVIHYK PISINYRTEIE PKSSDKHTCP PCPAPELLGGP SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGV EVHNAKTPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNK	GVSDVPRDLEV AATPTSLLISWT LPHAGRAHYRI TYGETGGNSPVQ EFTVPGRGVTA ISGLKPGVDYI TVYAVTVTTTKV IHYKPISINYRT EI (서열 275)	EPKSSD (서열 182)	KTHTCPPEL LGGSPVFLFPPK KDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVSVLTVLHQD WLNKKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQS LTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSVMH EALHNHYTQKSL LSPGK (서열 283)	GCGGTGAGCGACGTGCCCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCCACAAGCTTGCTG ATCTCCTGGACACTGCCTCA CGCTGGCGGGGCTCATTACT ATAGAATTACCTACGGGGAG ACAGGCGGGAACCTCCCCG GCAGGAATTCACCGTGCCTG GAAGGGGCGTACTGCCACC ATCAGTGGGTGAAGCCAGG AGTGGACTACACAATTACCG TGTACGCTGTGACTGTGACC ACAACTAAAGTATCCACTA CAAACCATCTCTATTAATT ATCGGACCGAAATTGAGCCT AAGAGCTCCGACAAAACCA CACATGCCACCTTGTCCAG CCCCCGAAGTGTGGGCGGC CCTTCAGTCTCCTCTTCCC

[0258]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	ALPAPIEKTIS KAKGQPREPQV YTLPPSRDELT KNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEW ESNGQPENNYK TTPFVLDSGDS FFLYSKLTVDK SRWQQGNVFC SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (서열 253)				CCCAAACCCAGGACACCC TCATGATCTCCCGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAGGCTCTC CAACAAAGCCCTCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACCACAGGTGTACACCC TGCCCCCATCCCGGATGAG CTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAG GCTTCTATCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGAGAACAACT ACAAGACCACGCTCCCGTG TTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTC TCCCGGAAA (서열 285)
PRD- 1173	GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WTLPHAGRAHY YRITYGETGGN SPVQEFTVPGR GVTATISGLKP GVDYITIVYAV TVTTTKVIHYK PISINYTEID KTHTCPPEPAP ELLGGPSVFLF PPKPKDTLMIS RTPVETCVVVD VSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYK CKVSNKALPAP IEKTIKAKGQ PREPQVYTLPP SRDELTKNQVS LTCLVKGFPYS DIAVEWESNGQ PENNYKTPPV LDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQ GNVFCSSVMHE ALHNHYTQKSL SLSPGK	GVSDVPRDLEV AATPTSLLISWT LPHAGRAHYRI TYGETGGNSPVQ EFTVPGRGVAT ISGLKPGVDYTI TVYAVTVTTKV IHYKPISINYRT EI (서열 275)	D	KTHTCPPEPAP LGGPSVFLFPKP KDTLMSRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCLVKGFPYS AVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSL LSPGK (서열 283)	GGCGTGAGCGAGTGCCTCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAACAAGCTTGCTG ATCTCCTGGACACTGCCTCA CGCTGGCCGGGCTCATTACT ATAGAATTACCTACGGGGAG ACAGCGGGGAACTCTCCCGT GCAGGAATTCACCGTGCCTG GAAGGGCGGTGACTGCCACC ATCAGTGGGTGAAGCCAGG AGTGGACTACACAATTACCG TGACGCTGTGACTGTGACC ACAACATAAGTGATCCACTA CAAACCCATCTCTATTAATT ATCGGACCGAAATTGACAAG ACCCACACATGCCACCTTG TCCAGCCCCGAGCTGCTGG GCGGCCCTCAGTCTTCTCTC TTCCCCCAAAACCAAGGA CACCTCATGATCTCCCGGA CCCTGAGGTACATGCGGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGA AGACCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCTG GAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTG GTGAGCGTCTCAGCGTCTC GCACAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGAAG

[0259]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	해산 서열
	(서열 254)				GTCTCCAACAAGCCCTCCC AGCCCCCATCGAGAAAACCA TCTCCAAGCCAAGGGCAG CCCCAGAACACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTACAGCAA GCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGCAGAAGAGCCTTCC CTGTCTCCCGGAAA (서열 286)
PRD-1174	GVSVDPRDLEV VAATPTSLIS WTLPHAGRAHY YRITYGETGGN SPVQEFVPGR GVTATISGLKP GVDYTIITVYAV TVTTTKVIHYK PISINYRTEIE SPKQAASSVPT AQPQAEGLAKT HTCPCPAPPEL LGGPSVFLFPP KPKDTLMSRT PEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKT KPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCK VSNKALPAPIE KTISKAKGQPR EPQVYTLPPSR DELTKNQVSLT CLVKGFYPSDI AVEWESNGQPE NNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPGK (서열 255)	GVSVDPRDLEV AATPTSLISWT LPHAGRAHYRI TYGETGGNSPVQ EFTVPGRGVTAT ISGLKPGVDYTI TVYAVTVTTTKV IHYKPIISINYRT EI (서열 275)	ESPKQAASS VPTAQFQAE GLA (서열 183)	KTHTCPPCPAPPEL LGGPSVFLFPPKP KDTLMSRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCVLKGFYPSDI AVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDSDGS FFLYSLKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLS LSPGK (서열 283)	GGCCTGAGCGACGTGCCCGG GGATCTAGAAAGTGGTGGCTG CTACCCCCACAAGCTTGCTG ATCTCCTGGACACTGCCTCA CGCTGGCCGGGCTCATTACT ATAGAATTACCTACGGGGAG ACAGCGGGGAACCTCTCCCGT GCAGGAATTCACCGTGCTG GAAGGGGGCTGACTGCCACC ATCAGTGGGCTGAAGCCAGG AGTGGACTACCAATTACCG TGACGCTGTGACTGTGACC ACAACTAAAGTGATCCACTA CAAACCCATCTCTATTAATT ATCGGACCGAAATTGAGTCT CCAAAGGCTCAGGCCAGCTC CGTGCTACCGCTCAGCCAC AGGCTGAGGGCTGGCTAAG ACCCACACATGCCCCCTTG TCAGCTCCCGAAGTGTGG GCGGGCCTTCAGTCTTCCTC TTCCCCCAAAACCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGA AGACCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGAGGAGCAGT ACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCTCACCCTCCT GCACCAGGACTGGTGAATG GCAAGGAGTACAGTGCAAG GTCTCCAACAAGCCCTCCC AGCCCCATCGAGAAAACCA TCTCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCAGAACACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAG

[0260]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
					AGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTC CCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTACAGCAA GCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACT ACACGAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCCGGAAA (서열 287)
PRD-1175	DKHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPGAGGGG SGGVSDVPRDL EVVAATPTSLL ISWTLPHAGRA HYRITYGETG GNSPVQEFTVP GRGVTATISGL KPGVDYITITVY AVTVTTTKVIH YKPIISINYRTE I (서열 256)	DKHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTL PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	GAGGGGSG (서열 181)	GVSDVPRDLEWVA ATPTSLLISWTL HAGRAHYRITYG ETGGNSPVQEFTV PGRGVTATISGL PGVDYITITVYAVT VTTTKVIHYKPI ISINYRTEI (서열 275)	GACAAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCTTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTACA TGCGTGGTGGTGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCTC CGTCTCGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGC GGGACAGCCCCGAGAACACA GGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGACGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGAGCA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGGCGC CGGAGCGCGCGGATCCGGTG GCGTGTCCGACGTGCCCCGG GATCTAGAAGTGGTGGCTGC TACCCCAACAAGCTTGCTGA TCTCCTGGACACTGCCTCAC GCTGGCCGGGCTCATTACTA TAGAATTACCTACGGGAGA CAGGCGGGAACCTCCCGTG CAGGAATTACCGTGCCCTGG AAGGGCGGTGACTGCCACCA TCAGTGGGCTGAAGCCAGGA GTGGACTACACAATTACCGT GTACGCTGTGACTGTGACCA CAACTAAAGTGATCCACTAC AAACCATCTCTATTAATTA TCGGACCGAAATC (서열 288)

[0261]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
PRD-1177	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFPY SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPELQLEE SAAEAQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WTLPHAGRAHY YRITYGETGGN SPVQEFYVGR GVTATISGLKP GVDYITITVYAV TWTTKVIHYK PISINYRTEI (서열 257)	DKTHTCPPCPA ELLGGPSVFLP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFPYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLLISWTLF HAGRAHYRITYG ETGGNSPVQEFV PGRGVTATISGLK PGVDYITITVYAVT VTTTKVIHYKPI SINYRTEI (서열 275)	GACAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCGAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACCC CAAGGACACCCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCAGCCCGGAGAACACA GGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGAACAACATACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGAGTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGAGCT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGCTACCCCAACAAGC TTGCTGATCTCTGGACACT GCCTCACGCTGGCCGGGCTC ATTACTATAGAATTACCTAC GGGAGACAGCGGGAACTC TCCCGTGCAAGGAATTCACCG TGCTTGGAAGGGCGTGACT GCCACCATCAGTGGGCTGAA GCCAGGAGTGACTACACAA TTACCGGTGACGCTGTGACT GTGACCACAACTAAAGTGAT CCACTACAAACCATCTCTA TTAATTATCGACCGAAATT (서열 289)

[0262]

Fc-융합원 항-미오스타틴 에드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
PRD-1178	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGGSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPGQDDEP GGSGVSDVPRD LEVVAATPTSL LISWTLPHAGR AHYYRITYGET GGNSPVQEFTV PGRGVTATISG LKPGVDYITIV YAVTVTTTKVI HYKPISINYRT EI (서열 258)	DKTHTCPPCPA ELLGGGPSVFLF PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	GQDDEPGGS (서열 185)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWTLF HAGRAHYRITYG ETGGNSPVQEFTV PGRGVTATISGLK PGVDYITIVYAVT VTTTKVIHYKPIS INYRTEI (서열 275)	GACAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCGAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCA TGCGTGGTGGTGACGTGAG CCACGAAGACCCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACACAGCAGCTAC CGTGTGGTCAGCGTCTCAC CGTCCTGCACAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGCAGCCCCGAGAACCA GGGTACACCCCTGCCCAT CCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTACGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGCAGCC GGAGAACACTACAAGACCA CGCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCTTCTTCTCTTA CAGCAAGCTCACCGTGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGTCCGT GATGATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGGCCA GCCCGACGAGCCTGGCGGGA GCGGCGTGAGCGACGTGCCA CGGGATCTAGAAGTGGTGGC TGCTACCCCAAGCTTGC TGATCTCCTGGACACTGCCT CACGCTGGCCGGGCTCATTA CTATAGAAATACCTACGGGG AGACAGCGGGAACTCTCCC GTGCAGGAATCACCGTGCC TGGAAGGGCGTGACTGCCA CCATCAGTGGCTGAAGCCA GGAGTGGACTACCAATTAC CGTGACGCTGTGACTGTGA CCACAACATAAGTGATCCAC TACAAACCATCTCTATTAA TTATCGGACCGAAATT (서열 290)
PRD-1180	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF	DKTHTCPPCPA ELLGGGPSVFLF PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF	GGSGSGSGS (서열 186)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWTLF HAGRAHYRITYG ETGGNSPVQEFTV PGRGVTATISGLK PGVDYITIVYAVT VTTTKVIHYKPIS INYRTEI (서열 275)	GACAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCGAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCA TGCGTGGTGGTGACGTGAG CCACGAAGACCCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGG

[0263]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHNTQKS LSLSPGGSGSG SGSGSGSGVSD VPRDLEVVAAAT PTSLLISWTL HAGRAHYRIT YGETGGNSPVQ EFTVPGRGVTA TISGLKPGVDY TITVYAVTVTT TKVIHYKPI NYRTEI (서열 259)	PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)			AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCGGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGAACATACAAGACCA CGCCTCCCGTGTGGACTCC GACGGCTCCTTCTCTCTTA CAGCAAGCTCACCCTGGAGA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGCGG CAGCGGGTCTGGATCTGGCA GTGGGAGCGGCTCTGGCGTG AGCGACGTGCCCGGGATCT AGAAGTGGTGGCTGCTACCC CCACAAGCTTGCTGATCTCC TGGACACTGCCTCAGCTGG CCGGGCTCATTACTATAGAA TTACCTACGGGGAGACAGGC GGGAACCTCCCGTGAGGA ATTCACCGTGCTGGAAGGG GCGTGACTGCCACCATCAGT GGGCTGAAGCCAGGAGTGA CTACACAATTACCGTGACG CTGTGACTGTGACCACAAC AAAAGTGATCCACTACAAAC CATCTCTATTAATTATCGGA CCGAAATT (서열 291)
PRD-1284	DKHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHNTQKS LSLSPGLQLEE	DKHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTL PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWDAP RGLARYRITYGE TGGNSPVQEFTVF GRGTTATISGLKP GVDYTIITVYAVTI DRDGRSFDPI NYRTEI (서열 277)	GACAAAACCTCACATGCCCC ACCGTGCCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACC CAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTGACA TGGCTGGTGGTGGAGTGA CCACGAAGACCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAGCCGCGGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG

[0264]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	해산 서열
	SAAEAQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLIIS WDAPRGLARYY RITYGETGGNS PVQEFTVFGRG TTATISGLKPG VDYTITVYAVT IDRDGTRSFDP ISINYRTEI (서열 260)				AACCAGGTCAGCCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGTACCCCAACAGC TTGCTGATCAGCTGGGACGC TCCGAGAGGTCTGGCTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGC GAAACAGGAGGCAATAGCCC TGTCAGGAGTTCACGTGTGT TCGGTCGTGGTACCACAGCT ACCATCAGCGGCTTAAACC TGGCGTTGATATACCATCA CTGTGTATGCTGCACTATC GACCGTGACGGTACCCGACG CTTGCAGCCAATTTCATTAA ATTACCGGACCGAAATT (서열 292)
PRD-1285	DKHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFY SDIAVEWESNG QPENNYKTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPELQLEE SAAEAQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLIIS WDAPAGLARYY RITYGETGGNS PVQEFTVFGRG NTATISGLKPG VDYTITVYAVT IFRDGPVTWDP ISINYRTEI (서열 261)	DKHTCPPCPA ELLGGPSVFLP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTL PSRDELTKNQVS LTCVLKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTPFVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLIISWDAP AGLARYYRITYGE TGGNSPVQEFTVV GRGNTATISGLKP GVDYITITVYAVTI FRDGPVTWDPISI NYRTEI (서열 278)	GACAAAACCTACACATGCC ACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAAC CAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCA TGCGTGGTGGTGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GCGGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCCTAC CGTCCTGCACAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGTACACCCCTGCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA

[0265]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애트렉틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
					ACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGCTACCCCCACAAGC TTGCTGATCAGCTGGGACGC TCCGGCTGGTCTGGCTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGC GAAACAGGAGGCAATAGCCC TGTCAGGAGTTCACTGTGG TCGGTCGTGGTAACACAGCT ACCATCAGCGGCCTTAAACC TGGCGTTGATTATACCATCA CTGTGTATGCTGCTCACTATC TTCCGTGACGGTCCCGTCAC CTGGGACCAATTCCATTA ATTACCGGACCGAAATT (서열 293)
PRD-1286	DKHTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTIISKAKG QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFP SDIAVEWESNG QPENNYKTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPELQLEE SAAEQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLLI WDAPKGLARY RITYGETGGNS PVQEFVVVGRG NTATISGLKPG VDYTITVYAVT IFRDGFVTWDP ISINYRTEI (서열 262)	DKHTHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKT EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTL PSRDELTKNQVS LTCCLVKGFP IAVEWESNGQPE NNYKTTPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLLI KGLARYYRITYGE TGGNSPVQEFVV GRGNTATISGLKP GVDYITVYAVTI FRDGFVTWDPISI NYRTEI (서열 279)	GACAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCCCATGATCT CCCGACCCCTGAGGTGACA TGCCTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGAGG AGCAGTACAAACAGCAGTAC CGTGTGGTCAAGCTCCTCAC CGTCTGCACAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCAGCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGCTACCCCCACAAGC TTGCTGATCAGCTGGGACGC TCCGAAGGGTCTGGCTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGC

[0266]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
					GAAACAGGAGGCAATAGCCC TGTCACAGGAGTTCACTGTGG TCGGTCGTGGTAACACAGCT ACCATCAGCGGCCTTAAACC TGGCGTTGATTATACCATCA CTGTGTATGCTGTCACATATC TTCCGTGACGGTCCCCTCAC CTGGGACCAATTCCATTA ATTACCGGACCGAAATT (서열 294)
PRD-1287	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTL PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTPPP VLDSGGSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSQVMH EALHNHYTQKS LSLSPQLLEE SAAEAQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WSLPNPGNAHY YRITYGETGGN SPVQEFVTPGR GVTATISGLKP GVDYITITVYAV TVTDTGFITYK PISINRYTEI (서열 263)	DKTHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTL PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTPPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWSLP NPGNAHYRITYG ETGGNSPVQEFV PGRGVTATISGLK PGVDYITITVYAVT VTDGTFITYKPIS INRYTEI (서열 280)	GACAAAACACACATGCC ACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAAACC CAAGGACACCTCATGATCT CCCGACCCCTGAGGTGACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAGACCCCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GCGGTGGAGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCCGGGAGG AGCAGTACACACGACGTAC CGTGTGGTCAGCTCCTCAC CGTCTGCACAGGACTGCG TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAA GGGCAGCCCCGAGAACACA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGTGAGCTGACCAAG AACAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGAAACATACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGACGT GCCACGGATCTAGAAGTGG TGGCTGTACCCCAAGC TTGCTGATCAGCTGGTCTCT GCCGAATCCGGTAACGCC ATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAG CCCTGTCCAGGAGTTCAGTG TGCTGTGCTGTGTATACA GCTACCATCAGCGGCCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCA TCACTGTGTATGCTGTCACT GTTACTGACACAGGTTTCAT CACGTACAAACCAATTTCCA TTAATTACCGGACCGAAATT (서열 295)

[0267]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
PRD-1288	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWDYDGVVEVHN AKTKPREEQYN STYRVSVSLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTIISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPELQLEE SAAEAQDGELD GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WSLPHQGKANY YRITYGETGGN SPVQEFVTPGR GVTATISGLKP GVDYITITVYAV TVTDTGYLKYK PISINYRTEI (서열 264)	DKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMSRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTIISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQDGELD (서열 184)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWSLP HQQKANYRITYG ETGGNSPVQEFV PGRGVTATISGLK PGVDYITITVYAVT VTDYGLKYKPI INRYRTEI (서열 281)	GACAAACTCACACATGCC ACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCTCATGATCT CCCGACCCCTGAGGTCACA TGCGTGGTGGTGGAGCTGAG CCACGAGACCTGAGGTC AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGAGG AGCAGTACACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGTCACAGGACTGGC TGAATGGCAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAAACAAAGC CTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAA GGGACGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTCTCTTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCG CTGAGGCTCAGGACGGAGAA CTGGATGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGCTACCCCAACAGC TTGCTGATCAGCTGGTCTCT GCCGACCAAGGTAAAGCCA ATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAG CCCTGTCCAGGAGTTCATG TGCTTGGTCTGCTGTTTACA GCTACCATCAGCGGCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCA TCACTGTGTATGCTGTCACT GTTACTGATACAGGTTACCT CAAGTACAAACCAATTCCA TTAATTACCGGACCGAAATT (서열 296)
PRD-1301	GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WDAPRGLARY RITYGETGGNS PVQEFVFGGR TTATISGLKPG	GVSDVPRDLEV AATPTSLISWD APRGLARYRIT YGETGGNSPVQ FTVFGRTTATI SGLKPGVDYIT	EPKSSD (서열 182)	KTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPK KDTLMSRTPEVT CVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST	GGCGTGAGCGAGCTGCCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAACAGCTTGGTG ATCAGCTGGGACGCTCCGAG AGGTCTGGCTCGATATTACC GCATCACTTACGCGAAACA

[0268]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	VDYTIITVYAVT IDRDGTRSFDP ISINYRTEIEP KSSDKTHTCPP CPAPELLGGPS VFLFPPKPKDT LMSRTPEVTC VVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVE VHNAKTKFREE QYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKA LPAPIEKTISK AKGQPREPQVY TLPPSRDELTK NQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWE SNGQPENNYKT TPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKS RWQGNVFSVS VMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (서열 265)	VYAVTIDRDGTR SFDPIISINYRTE I (서열 277)		YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQGNVFSVSVMH EALHNHYTQKSL LSPGK (서열 283)	GGAGGCAATAGCCCTGTCCA GGAGTTCACTGTGTTCGGTC GTGGTACCACAGCTACCATC AGCGGCCCTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGT ATGCTGTCACTATCGACCGT GACGGTACCCGAGCTTCGA CCCAATTTCCATTAATTACC GGACCGAAATTGAGCCTAAG AGTCCGACAAAACCCACAC ATGCCACCTTGTCCAGCCC CCGAACGTGTGGGCGGCCCT TCAGTCTTCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCTCA TGATCTCCCGGACCCCTGAG GTACATGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAAGACCTG AGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACACAGC ACGTACCGTGTGGTCAAGCT CCTCACCGTCTGCACAGG ACTGGCTGAATGCCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAA CAAAGCCCTCCCGACCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCTGC CCCCATCCCGGATGAGCTG ACCAAGAACAGGTGAGCCT GACCTGCTGGTCAAAGGCT TCTATCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACTACA AGACCACGCTCCCGTGTG GACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCG TGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCGGTGATGCATGAGGCTC TGCACAACCACTACACCGAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCC CGGAAA (서열 297)
PRD-1302	GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WDAPAGLARY RITYGETGNS PVQEFVVG NTATISGLKPG VDYTIITVYAVT IFRDGPVTWDP ISINYRTEIEP KSSDKTHTCPP CPAPELLGGPS VFLFPPKPKDT LMSRTPEVTC VVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVE VHNAKTKFREE QYNSTYRVVSV	GVSDVPRDLEV AATPTSLISWD APAGLARYRIT YGETGNSPVQE FTVVGNTAT SGLKPGVDYTI VYAVTIFRDGPV TWDPIISINYRTE I (서열 278)	EPKSSD (서열 182)	KHTTCPPEL LGGPSVFLFPPK KDTLMSRTPEVT CVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENN YKTTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQGNVFSVSVMH EALHNHYTQKSL	GGCGTGAGCGAGTGCCTG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAAGCTTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGC TGGTCTGGCTCGATATTACC GCATCACTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCA GGAGTTCACTGTGGTCCGTC GTGGTAACACAGCTACCATC AGCGGCCCTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGT ATGCTGTCACTATCTCCGT GACGGTCCCGTCACCTGGGA CCCAATTTCCATTAATTACC GGACCGAAATTGAGCCTAAG AGTCCGACAAAACCCACAC ATGCCACCTTGTCCAGCCC

[0269]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드빅틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	해산 서열
	LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKA LPAPIEKTISK AKGQPREPQVY TLPPSRDELTK NQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWE SNGQPENNYKT TPPVLDSGDSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCS VMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (서열 266)			LSPGK (서열 283)	CCGAACTGCTGGGCGGCCCT TCAGTCTTCTCTTCCCCC AAAACCCAGGACACCTCA TGATCTCCCGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAAGACCTG AGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAGCCG GGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAA CAAAGCCCTCCAGCCCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCTGC CCCCATCCCGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTGAGCCT GACCTGCTGGTCAAAGGCT TCTATCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACATA AGACCACGCCCTCCGTGTG GACTCCGACGGCTCCTTCT CCTCTACAGCAAGCTCACCG TGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCGGTGATGATGAGGCTC TGCACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCC CGGGAAA (서열 298)
PRD-1303	GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WDAPKGLARY RITYGETGGNS PVQEFTVVGRG NTATISGLKPG VDYTITVYAVT IFRDGPVTWDP ISINYRTEIEP KSSDKHTHTCP CPAPELLGGPS VFLFPPKPKDT LMSRTPEVTC VVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVE VHNAKTKPREE QYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKA LPAPIEKTISK AKGQPREPQVY TLPPSRDELTK NQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWE SNGQPENNYKT TPPVLDSGDSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCS	GVSDVPRDLEV AATPTSLLISWD APKGLARYYRIT YGETGGNSPVQE FTVVGRGNTATI SGLKPGVDYIT VYAVTIFRDGPV TWDPISINYRTE I (서열 279)	EPKSSD (서열 182)	KHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKP KDTLMSRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCVLKGFYPSDI AVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSMH EALHNHYTQKSLS LSPGK (서열 283)	GGCGTGAGCGACGTGCCCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAAGCTTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGAA GGGTCTGGCTCGATATTACC GCATCACTTACGGCGAAACA GGAGGCAATAGCCCTGTCCA GGAGTTCACTGTGGTCGGTC GTGGTAACACAGCTACCATC AGCGGCCCTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGT ATGCTGTCACTATCTTCCGT GACGGTCCCGTCACCTGGGA CCCAATTTCCATTAATTACC GGACCGAAATTGAGCCTAAG AGCTCCGACAAAACCCACAC ATGCCACCTTGTCAGCCC CCGAACTGCTGGGCGGCCCT TCAGTCTTCTCTTCCCCC AAAACCCAGGACACCTCA TGATCTCCCGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAAGACCTG AGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAGCCG GGGAGGAGCAGTACAACAGC ACGTACCGTGTGGTCAGCGT

[0270]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	VMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (서열 267)				CCTCACCGCTCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAA CAAAGCCCTCCCGACCCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCTGC CCCCATCCCGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTGAGCCT GACCTGCCGTGGTCAAAGGCT TCTATCCAGCGACATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGAGAGCAACTACA AGACCACGCCTCCCGTGTG GACTCCGACGGCTCCTCTT CCTCTACAGCAAGCTCACCG TGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTC TGACAACCACTACACGCAG AAGAGCCTCTCCTGTCTCC CGGGAAA (서열 299)
PRD- 1304	GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WSLPNPGNAHY YRITYGETGGN SPVQEFVPGR GVTATISGLKP GVDYITITVAV TVDTGTFITYK PISINRYTEIE PKSSDKTHTCP PCPAPELLGGP SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGV EVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIS KAKGQPREPQV YTLPPSRDELT KNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEW ESNGQPENNYK TTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSC SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (서열 268)	GVSDVPRDLEV AATPTSLISWS LPNPGNAHYRI TYGETGGNSPVQ EFTVPGRGVTAT ISGLKPGVDYTI TVYAVTVDTGF ITYKPISINRYT EI (서열 280)	EPKSSD (서열 182)	KTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKP KDTLMI SRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSL LSPGK (서열 283)	GGCGTGAGCGAGGTGCCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAACAAGCTTGCTG ATCAGCTGGTCTCTGCCGAA TCCGGGTAAACGCCATTATT ACCGCATCACTTACGGCGAA ACAGGAGGCAATAGCCCTGT CCAGGAGTTCAGTGTGCCTG GTCGTGGTGTACAGCTACC ATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTG TGTATGCTGTCACTGTTACT GACACAGGTTTCATCACGTA CAAACCAATTCCATAATT ACCGGACCGAAATTGAGCCT AAGAGCTCCGACAAAACCCA CACATGCCACCTTGTCAG CCCCCGAAGTGTGGGCGGC CCTTCAGTCTTCTCTTCCC CCCCAAACCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCTCACCGTCTTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCG AGAACCACAGGTGTACACCC TGCCCCATCCCGGATGAG CTGACCAAGAACAGGTGAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCAGCGACATC

[0271]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	해산 서열
					GCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACGCCTCCCGTG TTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTC TCCCGGGAAA (서열 300)
PRD- 1305	GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WSLPHQ GKANY YRITYGETGGN SPVQEFVTPGR GVTATISGLKP GVDYTIITVYAV TVTDTGYLKYK PISINYRTEIE PKSSDKHTCP PCPAPELLGGP SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGV EVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIS KAKGQPREPQV YTLPPSRDELT KNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEW ESNGQPENNYK TTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDK SRWQQGNVFC SVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK (서열 269)	GVSDVPRDLEV AATPTSLISWS LPHQ GKANYRI TYGETGGNSPVQ EFTVPGRVGTAT ISGLKPGVDYTI TVYAVTVTDTGY LKYKPIISINYRT EI (서열 281)	EPKSSD (서열 182)	KHTCPCPCPAPEL LGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSN KALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTL PPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFC SVMH EALHNHYTQKSLS LSPGK (서열 283)	GGCGTGAGCGACGTGCCCCG GGATCTAGAAGTGGTGGCTG CTACCCCAAGCTTGCTG ATCAGCTGGTCTTGC CGCA CCAAGGTAAAGCCAATTATT ACCGCATCACTTACGGCGAA ACAGGAGGCAATAGCCCTGT CCAGGAGTTCAGTGTGCTG GTCGTGGTGTACAGCTACC ATCAGCGGCCTTAAACCTGG CGTTGATTATACCATCACTG TGATGCTGTCACTGTACT GATACAGGGTACCTCAAGTA CAAACCAATTTCATTAAATT ACCGGACCGAAATTGAGCCT AAGAGCTCCGACAAAACCCA CACATGCCACCTTGTCCAG CCCCGAACTGCTGGGCGGC CCTTCAGTCTTCTCTTCCC CCCAAAACCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTCAACTGG TACGTGGACGGCTGGAGGT GCATAATGCCAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAAC AGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCCTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGAAGGTCTC CAACAAGCCCTCCAGCCCC CCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAGGGCAGCCCG AGAACCACAGGTGTACACCC TGCCCCATCCCGGATGAG CTGACCAAGAACCAGGTGAG CCTGACCTGCTGGTCAAAG GCTTCTATCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAAC ACAAGACCACGCCTCCCGTG TTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCCTCTACAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTC TCCCGGGAAA (서열

[0272]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴					
서열					
클론	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
					301)
PRD-1471	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQS SLTCLVKGFPY SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCVMH EALHNHYTQKS LSLSPQLLEE SAAEAQEGELE GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WTLPHAGRAHY YRITYGETGGN SPVQEFVTPGR GVTATISGLKP GVDYITITVYAV TVTTTKVIHYK PISINRTEI (서열 270)	DKTHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKT KPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQS LTCILVKGFPYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQEGELE (서열 187)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLLISWTLF HAGRAHYRITYG ETGGNSPVQEFTV PGRGVTATISGLK PGVDYITITVYAVT VTTTKVIHYKPIS INRTEI (서열 275)	GACAAACTCACACATGCCC ACCGTGCCCGAGCACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACC CAAGGACACCCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGT CACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGAGG AGCAGTACACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCCTGCACAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAGC CCTCCCGACCCCTCAGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGACGCCCGGAGAACACA GGTGACACCCCTGCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCGAGC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACATACCGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGAAGGAGAA CTGGAAGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGTACCCCAACAAGC TTGCTGATCTCTGGACACT GCCTCAGCGTGGCCGGGCTC ATTACTATAGAATTACCTAC GGGGAGACAGGCGGGAACCTC TCCCGTGCAGGAATTCACCG TGCCTGGAAGGGCGTGACT GCCACCATCAGTGGGCTGAA GCCAGGAGTGGACTACACAA TTACCGTGTACGCTGTGACT GTACCACAACATAAGTGAT CCACTACAAACCATCTCTA TTAATTATCGACCGAAATT (서열 302)

[0273]

Fc-융합원 항-미오스타틴 에드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
PRD-1472	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWKYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMH EALHNHYTQKS LSLSPSELQLEE SAAEAQEGELE GVSDVPRDLEV VAATPTSLIS WDAPAGLARYY RITYGETGGNS PVQEFVVGRG NTATISGLKPG VDYTIITVYAVT IFRDGPVTWDP ISINYRTEI (서열 271)	DKTHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQEGELE (서열 187)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWDAP AGLARYYRITYGE TGGNSPVQEFTVV GRGNTATISGLKP GVDYTIITVYAVTI FRDGPVTWDPISI NYRTEI (서열 278)	GACAAAACTCACACATGCC ACCGTGCCCGACACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACCC CAAGGACACCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTGACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGAGG AGCAGTACACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCTCAC CGTCTGCACACGAGCTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CTTCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAA GGGCGAGCCCCGAGAACACA GGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGATGAGGTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGACGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGTGACTCC GACGGCTCTCTTCTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGAAGGAGAA CTGGAAGCGTGAGCGAGCT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGTACCCCAACAAGC TTGCTGATCAGCTGGGACGC TCCGGCTGGTCTGGCTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGC GAAACAGGAGGCAATAGCCC TGTCAGGAGTCACTGTGG TCGGTCTGGTAACACAGCT ACCATCAGCGGCTTAAACC TGGCGTTGATTATACCATCA CTGTGTATGCTGTCACTATC TTCCGTGACGGTCCCGTCAC CTGGGACCAATTTCCATTA ATTACCGGACCGAAATT (서열 303)
PRD-1473	DKTHTCPPCPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWKYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA	DKTHTCPPCPA ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK	ELQLEESAA EAQEGELE (서열 187)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLISWDAP KGLARYYRITYGE TGGNSPVQEFTVV GRGNTATISGLKP GVDYTIITVYAVTI FRDGPVTWDPISI NYRTEI (서열 279)	GACAAAACTCACACATGCC ACCGTGCCCGACACCTGAAC TCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCTCTTCCCCCAAACCC CAAGGACACCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTGACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC

[0274]

Fc-융합된 항-미오스타틴 에드백틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMH EALHNHYTQKS LSLSPQLQLEE SAAEAQEGELE GVSDVPRDLEV VAATPTSLLIS WDAPKGLARYY RITYGETGGNS PVQEFVTVGRG NTATISGLKPG VDYTITVYAVT IFRDGPVTWDP ISINYRTEI (서열 272)	GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)			CAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGCACACGAGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAA GGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGACACCTGCCCCCAT CCCGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTGAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGAGCC GGAGAACAACTACAAGACCA CGCTCCCGTGTGACTGCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGCTTCTCATGTCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGAAGGAGAA CTGGAAGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTGG TGGCTGCTACCCCAACAAGC TTGCTGATCAGCTGGGACGC TCCGAAGGGTCTGGCTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGC GAAACAGGAGGCAATAGCCC TGTCAGGAGTTCATGTGG TCGGTCGTGGTAACACAGCT ACCATCAGCGGCTTAAACC TGGCGTTGATTATACCATCA CTGTGTATGCTGTCACTATC TTCCGTGACGGTCCCGTCAC CTGGGACCAATTTCATTA ATTACCGGACCGAAATT (서열 304)
PRD-1474	DKHTCPCPPA PELLGGPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQYN STYRVVSVLTV LHQDWLNGKEY KCKVSNKALPA PIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PSRDELTKNQV SLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMH EALHNHYTQKS	DKHTCPCPPAP ELLGGPSVFLFP PKPKDTLMI SRT PEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLF PSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHY TQKSLSLSP (서열 276)	ELQLEESAA EAQEGELE (서열 187)	GVSDVPRDLEVVA ATPTSLLISWSLP HQGKANYRITYG ETGGNSPVQEFV PGRGVTATISGLK PGVDYTITVYAVT VTDGTYLKYKPI SINYRTEI (서열 281)	GACAAACTCACATGCCC ACCGTGCCAGCACCTGAAC TCCTGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAAACC CAAGGACACCCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTACA TGCGTGGTGGTGAGCTGAG CCACGAAGACCTGAGGTCA AGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCTGCACAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAA GGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGACACCTGCCCCCAT

[0275]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드벡틴					
클론	서열				
	아미노산 서열	N-말단 도메인	링커	C-말단 도메인	핵산 서열
	LSLSPELQLEE SAAEAQEGELE GVSDVPRDLV VAATPTSLIS WSLPHQKANY YRITYGETGGN SPVQEFVTPGR GVTATISGLKP GVDYITIVYAV TVDITGYLKYK PISINYRTEI (서열 273)				CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCTGACCTG CCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACACAAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTA CAGCAAGCTCACCGTGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGG AACGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGAGCT GCAGCTGGAGGAAGCGCCG CTGAGGCTCAGGAAGGAGAA CTGGAAGGCGTGAGCGACGT GCCACGGGATCTAGAAGTG TGGCTGTACCCCCACAAGC TTGCTGATCAGCTGGTCTCT GCCGCACCAAGGTAAAGCCA ATTATTACCGCATCACTTAC GGCGAAACAGGAGGCAATAG CCCTGTCCAGGAGTTCACCTG TGCTGGTCTGGTGTACACA GCTACCATCAGCGGCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCA TCACTGTGTATGCTGTCACT GTTACTGATACAGGGTACCT CAAGTACAAACCAATTCCA TTAATTACCGGACCGAAATT (서열 305)

[0276]

[0277]

본 발명의 예시적인 리더 (N-말단 연장부) 및 C-말단 꼬리 서열의 서열 번호는 표 7에 제시된다.

[0278]

<표 7>

예시적인 서열의 개요			
서열 번호	설명	명칭	서열
306	예시적인 리더	AdNT1	MGVSDVPRDL
307	예시적인 리더	AdNT2	GVSDVPRDL
308	예시적인 리더	AdNT3	VSDVPRDL
309	예시적인 리더	AdNT4	SDVPRDL
310	예시적인 리더	AdNT5	DVPRDL
311	예시적인 리더	AdNT6	VPRDL
312	예시적인 리더	AdNT7	PRDL
---	예시적인 리더	AdNT8	RDL
---	예시적인 리더	AdNT9	DL
211	예시적인 꼬리	AdCT1	EIDKPSQ
---	예시적인 꼬리	AdCT2	EI
313	예시적인 꼬리	AdCT3	EIEPKSS
314	예시적인 꼬리	AdCT4	EIDKPC
315	예시적인 꼬리	AdCT5	EIDKP
316	예시적인 꼬리	AdCT6	EIDK
317	예시적인 꼬리	AdCT7	EIDKPS
318	예시적인 꼬리	AdCT8	EIEKPSQ
319	예시적인 꼬리	AdCT9	EIDKPSQLE
320	예시적인 꼬리	AdCT10	EIEDEDEDEDED
321	예시적인 꼬리	AdCT11	EGSGS
322	예시적인 꼬리	AdCT12	EIDKPCQ
189	예시적인 꼬리	AdCT13	GSGC
323	예시적인 꼬리	AdCT14	EGSGC
324	예시적인 꼬리	AdCT15	EIDKPCQLE
325	예시적인 꼬리	AdCT16	EIDKPSQHSHHHHH
326	예시적인 꼬리	AdCT17	GSGCHHHHHH
327	예시적인 꼬리	AdCT18	EGSGCHHHHHH
328	태그	T1	HHHHHH

[0279]

[0280]

IV. 핵산-단백질 융합 기술

[0281]

한 측면에서, 본 발명은 미오스타틴에 결합하는 피브로넥틴 유형 III 도메인을 포함하는 애드벡틴을 제공한다.

특이적 결합 특성을 갖는 Fn3 도메인을 신속하게 제조하고 시험하는 한 방법은 브리스톨-마이어드스 스쿼프 알앤디 캄파니(Bristol-Myers Squibb R&D Company)의 자회사인 애드넥서스(Adnexus)의 핵산-단백질 융합 기술이다. 본 개시내용은 단백질에의 결합에 중요한 신규 폴리펩티드 및 아미노산 모티프를 확인하기 위해 핵산-단백질 융합 (RNA- 및 DNA-단백질 융합)을 이용하는, '프로퓨전'이라 칭해지는 시험관내 발현 및 태그부착 기술을 이용한다. 핵산-단백질 융합 기술은 단백질을 그의 코딩 유전자 정보와 공유적으로 커플링시키는 기술이다. RNA-단백질 융합 기술 및 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질 라이브러리 스크리닝 방법에 관한 상세한 설명에 대해, 문헌 [Szostak et al., 미국 특허 번호 6,258,558, 6,261,804, 6,214,553, 6,281,344, 6,207,446, 6,518,018 및 6,818,418; Roberts et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1997;94:12297-12302; 및 Kurz et al., Molecules, 2000;5:1259-64] (이들 모두는 본원에 참조로 포함됨)을 참조한다.

[0282] V. 벡터 및 폴리뉴클레오티드

[0283] 본원에 개시된 다양한 단백질 또는 폴리펩티드들 중 임의의 것을 코딩하는 핵산은 화학적으로 합성될 수 있다. 코돈 용법은 세포에서의 발현을 개선시키도록 선택될 수 있다. 이러한 코돈 용법은 선택되는 세포 유형에 따라 달라질 것이다. 이. 콜라이 및 기타 박테리아 뿐만 아니라 포유동물 세포, 식물 세포, 효모 세포 및 곤충 세포에 대해 특수화된 코돈 용법 패턴들이 개발되어 있다. 예를 들어 문헌 [Mayfield et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100(2):438-442 (Jan. 21, 2003); Sinclair et al., Protein Expr. Purif., 26(1):96-105 (October 2002); Connell, N.D., Curr. Opin. Biotechnol., 12(5):446-449 (October 2001); Makrides et al., Microbiol. Rev., 60(3):512-538 (September 1996); 및 Sharp et al., Yeast, 7(7):657-678 (October 1991)]을 참조한다.

[0284] 핵산 조작을 위한 일반적인 기술은 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989), 또는 Ausubel, F. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing 및 Wiley-Interscience, New York (1987)] 및 그의 주기적인 최신판 (본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다. 일반적으로, 폴리펩티드를 코딩하는 DNA는 포유동물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 적합한 전사 또는 번역 조절 요소에 작동가능하게 연결된다. 이러한 조절 요소는 전사 프로모터, 전사를 제어하는 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 코딩하는 서열, 및 전사 및 번역의 종결을 제어하는 서열을 포함한다. 통상적으로 복제 기점에 의해 부여되는, 숙주 내에서 복제하는 능력, 및 형질전환체의 인식을 용이하게 하는 선택 유전자가 추가로 포함된다.

[0285] 본원에 기재된 단백질은 직접적으로, 뿐만 아니라 바람직하게는 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에 특이적 절단 부위를 갖는 신호 서열 또는 다른 폴리펩티드인 이중 폴리펩티드와의 융합 폴리펩티드로서 재조합 방식으로 생산될 수 있다. 바람직하게는 선택된 이중 신호 서열은 숙주 세포에 의해 인식 및 프로세싱 (즉, 신호 펩티다제에 의해 절단)되는 것이다. 포유동물 시스템에서 폴리펩티드의 생산을 위한 예시적인 N-말단 리더 서열은 METDTLLLVWLLLVPGSTG (서열 177)이고, 이는 발현 후에 숙주 세포에 의해 제거된다.

[0286] 천연 신호 서열을 인식 및 프로세싱하지 않는 원핵 숙주 세포의 경우, 신호 서열은 예를 들어 알칼리성 포스파타제, 페니실리나제, 1 pp 또는 열-안정성 장독소 II 리더의 군으로부터 선택된 원핵 신호 서열로 치환된다.

[0287] 효모 분비를 위해, 천연 신호 서열은 예를 들어 효모 인버타제 리더, 인자 리더 (사카로미세스(Saccharomyces) 및 클루이베로미세스(Kluyveromyces) 알파-인자 리더 포함), 또는 산 포스파타제 리더, 씨. 알비칸스(C. albicans) 글루코아밀라제 리더, 또는 미국 특허 번호 5,631,144에 기재된 신호 서열에 의해 치환될 수 있다. 포유동물 세포 발현시에는, 포유동물 신호 서열 뿐만 아니라 바이러스 분비 리더, 예를 들어 단순 헤르페스 gD 신호가 이용가능하다. 이러한 전구체 영역에 대한 DNA는 리딩 프레임에서 단백질을 코딩하는 DNA에 라이게이션될 수 있다.

[0288] 발현 벡터 및 클로닝 벡터는 둘 다 벡터가 하나 이상의 선택된 숙주 세포 내에서 복제될 수 있게 하는 핵산 서열을 함유한다. 일반적으로, 클로닝 벡터에서 상기 서열은 벡터가 숙주 염색체 DNA와 독립적으로 복제될 수 있게 하는 것이고, 복제 기점 또는 자율 복제 서열을 포함한다. 이러한 서열은 다양한 박테리아, 효모 및 바이러스에 대해 널리 공지되어 있다. 플라스미드 pBR322로부터의 복제 기점은 대부분의 그람-음성 박테리아에 적합하고, 2 마이크로미터 플라스미드 기점은 효모에 적합하고, 다양한 바이러스 기점 (SV40, 폴리오마, 아데노바이러스, VSV 또는 BPV)은 포유동물 세포에서의 클로닝 벡터에 유용하다. 일반적으로, 복제 기점 성분은 포유동물 발현 벡터에서는 필요하지 않다 (전형적으로, SV40 기점은 단지 초기 프로모터를 함유하기 때문에 사용될 수 있음).

- [0289] 발현 및 클로닝 벡터는 선택 마커라고도 불리는 선택 유전자를 함유할 수 있다. 대표적인 선택 유전자는 (a) 항생제 또는 다른 독소, 예를 들어 암피실린, 네오마이신, 메토틱세이트 또는 테트라시클린에 대한 내성을 부여하거나, (b) 영양요구성 결핍을 보완하거나, 또는 (c) 복합 배지로부터 이용가능하지 않은 핵심 영양소를 공급하는 단백질 (예를 들어, 바실루스(Bacilli)에 대한 D-알라닌 라세마제를 코딩하는 유전자)을 코딩한다.
- [0290] 발현 및 클로닝 벡터는 대체로, 숙주 유기체에 의해 인식되고 본 발명의 단백질을, 예를 들어 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질을 코딩하는 핵산에 작동가능하게 연결된 프로모터를 함유한다. 원핵 숙주에 사용하기에 적합한 프로모터는 phoA 프로모터, 베타-락타마제 및 락토스 프로모터 시스템, 알칼리성 포스파타제, 트립토판 (trp) 프로모터 시스템, 및 하이브리드 프로모터, 예컨대 tan 프로모터를 포함한다. 그러나, 다른 공지된 박테리아 프로모터도 적합하다. 박테리아 시스템에 사용하기 위한 프로모터는 또한 본 발명의 단백질을 코딩하는 DNA에 작동가능하게 연결된 샤인-달가노(Shine-Dalgarno) (S.D.) 서열을 함유할 것이다. 프로모터 서열은 진핵생물에 대해 공지되어 있다. 실질적으로 모든 진핵 유전자는 전사가 개시되는 부위로부터 대략 25 내지 30개 염기 상류에서 발견되는 AT-풍부 부위를 갖는다. 다수의 유전자의 전사 출발점으로부터 70 내지 80개 염기 상류에서 발견되는 또 다른 서열은 CNCAAT 영역 (여기서, N은 임의의 뉴클레오티드일 수 있음)이다. 코딩 서열의 3' 말단에 폴리 A 꼬리의 부가를 위한 신호일 수 있는 AATAAA 서열이 대부분의 진핵 유전자의 3' 말단에 존재한다. 모든 이러한 서열들이 진핵 발현 벡터 내로 적합하게 삽입된다.
- [0291] 효모 숙주와 사용하기에 적합한 프로모터 서열의 예는 3-포스포글리세레이트 키나제 또는 다른 당분해 효소, 예컨대 엔올라제, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 헥소키나제, 피루베이트 데카르복실라제, 포스포프룩토키나제, 글루코스-6-포스페이트 이소머라제, 3-포스포글리세레이트 뮤타제, 피루베이트 키나제, 트리오스포스페이트 이소머라제, 포스포글루코스 이소머라제 및 글루코키나제를 포함한다.
- [0292] 포유동물 숙주 세포에서 벡터로부터의 전사는 프로모터가 숙주 세포 시스템과 상용성이라면, 예를 들어 바이러스, 예컨대 폴리오마 바이러스, 계두 바이러스, 아데노바이러스 (예컨대 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 시토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 가장 바람직하게는 원숭이 바이러스 40 (SV40)의 게놈으로부터 얻은 프로모터, 이중 포유동물 프로모터, 예를 들어 액틴 프로모터 또는 이뮤노글로불린 프로모터, 열-쇼크 프로모터에 의해 제어될 수 있다.
- [0293] 고등 진핵생물에 의한 본 발명의 단백질을 코딩하는 DNA의 전사는 종종 인핸서 서열을 벡터 내로 삽입하여 증가된다. 다수의 인핸서 서열이 현재 포유동물 유전자 (글로빈, 엘라스타제, 알부민, α-태아단백질 및 인슐린)로부터 공지되어 있다. 그러나, 전형적으로는 진핵 세포 바이러스로부터의 인핸서를 사용할 것이다. 그의 예는 복제 기점의 하류 쪽 (bp 100-270)의 SV40 인핸서, 시토메갈로바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 기점 하류 쪽의 폴리오마 인핸서 및 아데노바이러스 인핸서를 포함한다. 또한, 진핵생물 프로모터의 활성화를 위한 증진 요소에 대해서는 문헌 [Yaniv, Nature, 297:17-18 (1982)]을 참조한다. 인핸서는 위치 5' 또는 3'에서 펩티드-코딩 서열까지 벡터 내로 스플라이싱될 수 있지만, 바람직하게는 프로모터로부터 5'의 부위에 위치한다.
- [0294] 진핵 숙주 세포 (예컨대 효모, 진균, 곤충, 식물, 동물, 인간, 또는 기타 다세포 유기체로부터의 핵화된 세포)에서 사용되는 발현 벡터들 역시 전사의 종결 및 mRNA의 안정화에 필요한 서열들을 포함하게 된다. 이러한 서열은 진핵 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 5' 및 때때로 3' 비번역 영역으로부터 흔히 이용가능하다. 이들 영역은 본 발명의 단백질을 코딩하는 mRNA의 비번역 부분에서 폴리아데닐화 단편으로서 전사되는 뉴클레오티드 절편을 함유한다. 유용한 전사 종결 성분 중 하나는 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 영역이다. WO 94/11026 및 여기에 개시된 발현 벡터를 참조한다.
- [0295] 재조합 DNA는 또한 단백질을 정제하는데 유용할 수 있는 임의의 유형의 단백질 태그 서열을 포함할 수 있다. 단백질 태그의 예는 히스티딘 태그, FLAG 태그, myc 태그, HA 태그 또는 GST 태그를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 박테리아, 진균, 효모 및 포유동물 세포 숙주에 사용하기 위한 적절한 클로닝 및 발현 벡터는 문헌 [Cloning Vectors: A Laboratory Manual, (Elsevier, New York (1985))]에서 찾을 수 있으며, 상기 문헌의 관련 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.
- [0296] 통상의 기술자라면 알고 있을 바와 같이, 발현 구축물은 숙주 세포에 적절한 방법을 사용하여 숙주 세포에 도입된다. 비제한적으로 전기천공; 염화칼슘, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-덱스트란 또는 기타 물질을 사용한 형질감염; 미세사출 충격(microprojectile bombardment); 리포펙션; 및 감염 (벡터가 감염성 인자임)을 비롯하여 (이에 제한되지는 않음), 숙주 세포에 핵산을 도입하기 위한 다양한 방법들이 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [0297] 적합한 숙주 세포는 원핵생물, 효모, 포유동물 세포 또는 박테리아 세포를 포함한다. 적합한 박테리아는 그람

음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 이. 콜라이 또는 바실루스 종을 포함한다. 바람직하게는 에스. 세레비시아에(*S. cerevisiae*)와 같은 사카로미세스 종에 속하는 효모가 폴리펩티드의 생산에 사용될 수도 있다. 다양한 포유동물 또는 곤충 세포 배양 시스템이 또한 재조합 단백질을 발현시키는데 사용될 수 있다. 곤충 세포에서 이중 단백질의 생산을 위한 바콜로바이러스 시스템이 문헌 [Luckow et al. (Bio/Technology, 6:47 (1988))]에서 검토되었다. 적합한 포유동물 숙주 세포주의 예는 내피 세포, COS-7원숭이 신장 세포, CV-1, L 세포, C127, 3T3, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO), 인간 배아 신장 세포, HeLa, 293, 293T 및 BHK 세포주를 포함한다. 정제된 폴리펩티드는 재조합 단백질을 발현하기 위해 적합한 숙주/백터 시스템을 배양하여 제조된다. 많은 용도를 위해, 본원에 개시된 많은 폴리펩티드의 작은 크기 때문에, 이. 콜라이에서의 발현이 바람직한 발현 방법이 된다. 이어서, 단백질은 배양 배지 또는 세포 추출물로부터 정제된다.

[0298] VI. 단백질 생산

[0299] 본 발명은 또한 항-미오스타틴 애드넥틴 또는 그의 융합 폴리펩티드를 발현하는 세포주에 관한 것이다. 항-미오스타틴 애드넥틴을 생산하는 세포주의 생성 및 단리는 관련 기술분야에 공지된 기술, 예컨대 본원에 기재된 것을 사용하여 달성될 수 있다.

[0300] 숙주 세포는 본원에 기재된 단백질 생산을 위한 발현 또는 클로닝 백터에 의해 형질전환된 후, 필요에 따라 프로모터의 도입, 형질전환체의 선택, 또는 원하는 서열을 코딩하고 있는 유전자의 증폭을 위하여 변형된 통상적인 영양 배지에서 배양된다. 본원에 제시된 예에서, 고처리량 단백질 생산 (HTPP) 및 중간-규모 생산을 위해 사용된 숙주 세포는 HMS174-박테리아 균주로부터의 것이었다.

[0301] 본 발명의 애드넥틴은 또한, 예를 들어 원핵 세포 (예를 들어, 이. 콜라이)에서 애드넥틴을 생산하여 비글리코실화 형태로 수득될 수 있다. 주목할만하게, 본 발명의 애드넥틴의 비글리코실화 형태는 시험관내에서 시험될 때 글리코실화 애드넥틴과 동일한 친화도, 효력 및 작용 메커니즘을 나타낸다.

[0302] 본 발명의 단백질을 생산하는데 사용되는 숙주 세포는 다양한 배지에서 배양될 수 있다. 상업적으로 입수가 가능한 배지, 예컨대 햄의 F10 (시그마(Sigma)), 최소 필수 배지 (MEM) (시그마), RPMI-1640 (시그마) 및 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM) (시그마)가 숙주 세포의 배양에 적합하다. 또한, 문헌 [Ham et al., Meth. Enzymol., 58:44 (1979), Barites et al., Anal. Biochem., 102:255 (1980)], 미국 특허 번호 4,767,704, 4,657,866, 4,927,762, 4,560,655, 5,122,469, 6,048,728, 5,672,502, 또는 미국 특허 번호 RE 30,985에 기재된 다수의 배지도 숙주 세포에 대한 배양 배지로서 사용될 수 있다. 임의의 상기 배지는 호르몬 및/또는 다른 성장 인자 (예컨대, 인슐린, 트랜스페린 또는 표피 성장 인자), 염 (예컨대, 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 포스페이트), 완충제 (예컨대, HEPES), 뉴클레오티드 (예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제 (예컨대, 겐타마이신 약물), 미량 원소 (통상적으로 마이크로몰 범위의 최종 농도로 존재하는 무기 화합물로서 정의됨), 및 글루코스 또는 동등한 에너지 공급원으로 필요에 따라 보충될 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충제가 통상의 기술자에게 공지된 적합한 농도로 또한 포함될 수 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현에 선택된 숙주 세포와 함께 기존에 사용된 것들이고, 통상의 기술자에게 명백할 것이다.

[0303] 본원에 개시된 단백질은 또한 세포-번역 시스템을 사용하여 생산될 수 있다. 이러한 목적을 위해, mRNA를 생산하기 위한 시험관내 전사를 허용하도록, 및 사용되는 특정한 무세포 시스템 (진핵생물, 예컨대 포유동물 또는 효모 무세포 번역 시스템 또는 원핵생물, 예컨대 박테리아 무세포 번역 시스템)에서의 mRNA의 무세포 번역을 허용하도록 폴리펩티드를 코딩하는 핵산이 변형되어야 한다.

[0304] 본 발명의 단백질은 또한 화학적 합성에 의해 (예를 들어, 문헌 [Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd Edition, The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill. (1984)]에 기재된 방법에 의해) 생산될 수 있다. 단백질에 대한 변형 역시 화학적 합성에 의해 생성될 수 있다.

[0305] 본 발명의 단백질은 일반적으로 단백질 화학 분야에 공지된 단백질에 대한 단리/정제 방법에 의해 정제될 수 있다. 비-제한적인 예는 추출, 재결정화, 염석 (예를 들어, 황산암모늄 또는 황산나트륨을 사용), 원심분리, 투석, 한외여과, 흡착 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 정상 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 겔 여과, 겔 투과 크로마토그래피, 친화도 크로마토그래피, 전기영동, 역류 분배 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 정제 후에, 폴리펩티드는 상이한 완충제 내로 교환되고/거나, 여과 및 투석을 포함하나 이에 제한되지는 않는 관련 기술분야에 공지된 임의의 다양한 방법에 의해 농축될 수 있다.

[0306] 정제된 폴리펩티드는 바람직하게는 적어도 85% 순수하거나, 또는 바람직하게는 적어도 95% 순수하고, 가장 바람직하게는 적어도 98% 순수하다. 순도의 정확한 수치값과 무관하게, 폴리펩티드는 제약 제품으로서 사용하기에

충분히 순수하다.

[0307] VII. 생물물리학적 및 생화학적 특성화

[0308] 표적 분자 (예를 들어, 미오스타틴)에 대한 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 결합은 평형 상수 (예를 들어, 해리, K_D) 및 동역학적 상수 (예를 들어, 온-레이트 상수, k_{on} 및 오프-레이트 상수, k_{off})의 측면에서 평가할 수 있다. 애드넥틴은 일반적으로 500 nM, 100 nM, 10 nM, 1 nM, 500 pM, 200 pM 또는 100 pM 미만의 K_D 로 표적 분자에 결합할 것이지만, 보다 높은 K_D 값이 허용될 수 있고, 이 경우 k_{off} 는 충분히 낮거나 또는 k_{on} 은 충분히 높다.

[0309] 결합 친화도에 대한 시험관내 검정

[0310] 미오스타틴에 결합하여 그를 길항하는 항-미오스타틴 애드넥틴은 다양한 시험관내 검정을 사용하여 확인될 수 있다. 바람직하게는, 검정은 다중 후보 애드넥틴을 동시에 스크리닝하도록 하는 고처리량 검정이다. 일부 실시양태에서, 미오스타틴과 90% 아미노산 동일성을 공유하는 BMP-11은 시험관내 검정을 포화 조건 하에서 수행할 때 그 검정에서 미오스타틴에 대한 대용물로서 사용될 수 있다. 주목할만하게, Fc 도메인에 융합된 항-미오스타틴 애드넥틴은 미오스타틴과 BMP-11 둘 다에 결합할 수 있지만, 모노애드넥틴은 미오스타틴에 우선적으로 결합한다. 이론에 얽매이지 않으면서, 이는 1가 애드넥틴과 비교하여 증가된 2가 Fc-융합된 애드넥틴 결합력을 반영할 수 있다. BMP11에 대한 유사한 증진된 결합은 20kDa PEG 모이어티의 두 말단에 융합된 애드넥틴을 포함하는 2가 PEG화 애드넥틴, 예컨대 ATI-1341에서 관찰된다.

[0311] 항-미오스타틴 애드넥틴의 결합 친화도를 결정하기 위한 예시적인 검정은 하기 실시예에서 기재되고, 용액 상 방법, 예컨대 동역학적 배제 검정 (KinExA) (Blake et al., JBC 1996;271:27677-85; Drake et al., Anal Biochem 2004;328:35-43), 비아코어 시스템 (스웨덴 옴살라)에 의한 표면 플라즈몬 공명 (SPR) (Welford et al., Opt. Quant. Elect 1991;23:1; Morton and Myszk, Methods in Enzymology 1998;295:268) 및 균질 시간 분해 형광 (HTRF) 검정 (Newton et al., J Biomol Screen 2008;13:674-82; Patel et al., Assay Drug Dev Technol 2008;6:55-68)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0312] 일부 실시양태에서, 생체분자 상호작용은 비아코어 시스템을 이용하여 실시간으로 모니터링될 수 있으며, 상기 시스템은 SPR을 사용하여 표면에서 최대 300 nm 떨어진 굴절률의 변화로 인한 유리 지지체 상의 금 박막 표면에서의 광 공명각의 변화를 검출한다. 비아코어 분석은 회합률 상수, 해리율 상수, 평형 해리 상수 및 친화도 상수를 생성한다. 결합 친화도는 비아코어 표면 플라즈몬 공명 시스템 (비아코어, 인크.)를 사용하여 회합률 및 해리율 상수를 평가하여 수득된다. 바이오센서 칩은 표적과의 공유 커플링을 위해 활성화된다. 이어서 표적은 회석되고, 고정 물질의 반응 단위로 신호를 얻기 위해 칩에 상에 분사된다. 공명 단위 (RU)의 신호는 고정 물질의 질량에 비례하기 때문에, 이는 매트릭스 상의 고정 표적 밀도의 범위를 나타낸다. 회합 및 해리 데이터는 1:1 이분자 상호작용에 대한 전체 순 비율 표현을 해결하기 위해 전체적 분석에서 동시에 피팅되며, k_{on} , k_{off} 및 R_{max} (포화에서의 최대 반응)에 대한 최적 적합성 값을 생성한다. 결합, K_D 의 평형 해리 상수는 k_{off}/k_{on} 으로서 SPR 측정으로부터 계산된다.

[0313] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 6에 기재된 SPR 친화도 검정에서 500 nM 이하, 400 nM 이하, 300 nM 이하, 200 nM 이하, 150 nM 이하, 100 nM 이하, 90 nM 이하, 80 nM 이하, 70 nM 이하, 60 nM 이하, 50 nM 이하, 40 nM 이하, 30 nM 이하, 20 nM 이하, 15 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하 또는 1 nM 이하의 K_D 를 나타낸다. 바람직하게는, K_D 는 15 nM 이하이다. 보다 바람직하게는, K_D 는 2.0 nM 이하이다.

[0314] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 4에 기재된 HTRF 검정에서 5 nM 이하, 4 nM 이하, 3 nM 이하, 2.5 nM 이하, 2 nM 이하, 1.5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.2 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 IC_{50} 을 나타낸다. 바람직하게는, IC_{50} 은 1.5 nM 이하이다. 보다 바람직하게는, IC_{50} 은 0.5 nM 이하이다.

[0315] 일부 실시양태, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 7에 기재된 동역학적 배제 검정에서 2 nM 이하, 1.5 nM 이하, 1 nM 이하, 900 pM 이하, 850 pM 이하, 800 pM 이하, 750 pM 이하, 700 pM 이하, 650 pM 이하, 600 pM 이하, 550 pM 이하, 500 pM 이하, 450 pM 이하, 400 pM 이하, 350 pM 이하, 340 pM 이하, 330 pM 이하, 300 pM 이하, 250 pM 이하, 200 pM 이하, 150 pM 이하 또는 100 pM 이하의 K_D 를 나타낸다. 바람직하게는, K_D 는 850 pM 이하이다.

- [0316] 본원에 기재된 검정은 예시적이고, 단백질 사이의 결합 친화도를 결정하기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법 (예를 들어, 형광 기반-전달 (FRET), 효소-연결된 면역흡착 검정 및 경쟁적 결합 검정 (예를 들어, 방사성 면역검정))이 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 결합 친화도를 평가하는데 사용될 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0317] 길항제 활성을 위한 시험관내 검정
- [0318] 미오스타틴 활성을 길항하기 위한 항-미오스타틴 애드넥틴의 능력은 다양한 시험관내 검정을 사용하여 용이하게 결정될 수 있다. 바람직하게는, 검정은 다중 후보 애드넥틴을 동시에 스크리닝하도록 하는 고처리량 검정이다. 일부 실시양태에서, 미오스타틴 활성에 대한 항-미오스타틴 애드넥틴의 길항 효과는 실시예 3에서 기재된 바와 같은 세포-기반 액티빈 반응 요소 (ARE)-루시페라제 리포터 검정에서 결정될 수 있다. 특정 실시양태, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 미오스타틴을 항-미오스타틴 애드넥틴과 함께 공-인큐베이션한 후 세포를 그 혼합물로 처리한 대조군에 비해 미오스타틴-유도된 ARE-루시페라제 활성을 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 초과로 감소시킨다. 예시적인 대조 반응은 세포를 미오스타틴 단독으로 처리하는 것 또는 과량의 벤치마크 미오스타틴 억제제, 예컨대 인간 액티빈 RIIB Fc 키메라 (알앤디 시스템즈) 또는 문헌 [Morrison et al. (Experimental Neurology 2009; 217:258-68)]에 기재된 바와 같은 ActRIIb-Fc와 함께 예비인큐베이션한 미오스타틴으로 처리하는 것을 포함한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 3에 기재된 바와 같이 ARE-루시페라제 리포터 활성을 500 nM 이하, 400 nM 이하, 300 nM 이하, 200 nM 이하, 100 nM 이하, 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM, 0.5 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하 또는 0.10 nM 이하의 IC50으로 억제한다.
- [0319] 다른 실시양태에서, 미오스타틴 활성에 대한 항-미오스타틴 애드넥틴의 길항 효과는 실시예 5에서 기재된 바와 같이 미오스타틴-처리된 세포에서 SMAD 인산화의 정도를 측정하여 결정될 수 있다. 특정 실시양태, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 미오스타틴을 항-미오스타틴 애드넥틴과 함께 공-인큐베이션한 후 세포를 그 혼합물로 처리한 대조군에 비해 미오스타틴-유도된 SMAD 인산화를 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 97% 또는 그 초과로 감소시킨다. 예시적인 대조 반응은 세포를 미오스타틴 단독으로 처리하는 것 또는 과량의 벤치마크 미오스타틴 억제제, 예컨대 인간 액티빈 RIIB Fc 키메라 (알앤디 시스템즈) 또는 문헌 [Morrison et al. (Experimental Neurology 2009;217:258-68)]에 기재된 바와 같은 ActRIIb-Fc와 함께 예비인큐베이션한 미오스타틴으로 처리하는 것을 포함한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 5에서 기재된 바와 같이 12-점 또는 4-점 억제 반응에서 SMAD 인산화를 1 nM 이하, 0.8 nM 이하, 0.6 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 IC50으로 억제한다. 다른 실시양태에서, 10 nM에서의 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실시예 5에서 기재된 바와 같이 미오스타틴에 의한 SMAD 인산화를 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97% 또는 적어도 98% 또는 그 초과로 억제한다.
- [0321] 추가로, 세포, 조직 배양 및 운동 뉴런 질환의 연구를 위한 조직학적 방법을 사용하는 여러 시험관내 모델 시스템이 공지되어 있다. 예를 들어, 글루타메이트 흥분독성에 적용된 래트 척수 기관유형 슬라이스는 운동 뉴런 변성을 예방하는데 있어서 항-미오스타틴 애드넥틴의 유효성을 시험하기 위한 모델 시스템으로서 유용하다 (Corse et al., Neurobiol. Dis. (1999) 6:335 346). ALS의 연구에 사용하기 위한 시험관내 시스템의 논의에 대해서는, 예를 들어 문헌 [Bar, P. R., Eur. J. Pharmacol. (2000) 405:285 295; Silani et al., J. Neurol. (2000) 247 Suppl 1:128 36; Martin et al., Int. J. Mol. Med. (2000) 5:3 13]을 참조한다.
- [0322] 본원에 기재된 검정은 예시적이고, 미오스타틴 활성에 대한 관독으로서의 역할을 할 수 있는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법이 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 미오스타틴 길항 효과를 시험하는데 사용하기에 적합함을 이해하여야 한다 (예를 들어, SMAD 표적 유전자 (예를 들어, Smad 7; Ciarmela et al., Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2011;96:755-65)의 mRNA 또는 ARE-함유 유전자의 mRNA의 실시간 RT-PCR).
- [0323] 생체내 모델
- [0324] 예를 들어 근육, 신경근육, 신경계 및 대사 장애와 연관된 근육 소모와 연관된 질환, 장애 및 상태의 증상을 재

현하는 다양한 관련 기술분야-인식된 동물 모델이 존재한다. 이러한 모델은 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능을 시험하는데 사용될 수 있다.

[0325] 예를 들어, 이러한 동물 모델의 비제한적 예는, 예를 들어 X-연관 근육 이영양증 마우스 (mdx) 모델 (US2011/0008375, Gehrig et al., Nature 2012;484:394-8), 예컨대 4종의 추가 mdx 마우스 계통-mdx2cv, mdx3cv, mdx4cv 또는 mdx5cv 마우스 (Phelps et al., Human Molecular Genetics. 1996;5(8):1149-1153), 디스트로핀 상동체 유트로핀의 추가 절제가 있는 mdx 마우스 (mdx/utr^{-/-}) (Deconinck et al., Cell. 1997;90(4):717-727), 알파-SG-널 C57BL/6 마우스 (Duclos et al. (1998) J. Cell Biol. 142, 1461-1471), 및 최근에 문헌 [Nakamura et al., (J Biomed Biotechnol. 2011; Article ID No: 184393)]에서 검토된 것, 예를 들어 뮤린 DMD 유전자의 엑손 52가 결실된 mdx52 마우스, 골든 리트리버 근육 이영양증 (GRMD) 모델, 개 X-연관 근육 이영양증 (CXMD_J) 모델, 및 비대증 고양이 근육 이영양증 (HFMD) 모델 (예를 들어, 문헌 [Shelton et al., Neuromuscular Disorders. 2005;15(2):127-138])을 포함한다.

[0326] 운동뉴런 장애, 예컨대 ALS의 연구를 위한 동물 모델은 ALS-연관 돌연변이 Cu/Zn 슈퍼옥사이드 디스무타제 (SOD1) 유전자 (mSOD1G93A 및/또는 mSOD1G37R)를 갖는 트랜스제닉 마우스이다. 이러한 마우스는 가족성 ALS의 많은 임상 및 병리학적 양상을 갖는 우세 유전 성체-발병 마비성 장애를 발달시킨다 (예를 들어, 문헌 [Gurney et al., Science (1994) 264:1772 1775; Nagano et al., Life Sci (2002) 72:541 548]). 다른 동물 모델은 진행성 운동 뉴런병증 (pnm)에 대한 두가지 자연 발생 뮤린 모델 및 와블러(wobbler)를 포함한다 (Haeggeli and Kato, Neurosci. Lett. (2002) 335:39 43). 운동뉴런 질환, 예컨대 ALS의 연구에 사용하기 위한 다양한 동물 모델의 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Jankowsky et al., Curr Neurol Neurosci. Rep. (2002) 2:457 464; Elliott, J. L., Neurobiol. Dis. (1999) 6:310 20; 및 Borchelt et al., Brain Pathol. (1998) 8:735 757]을 참조한다.

[0327] ALS 외에 다른 신경변성 또는 신경병리학적 질환의 동물 모델은 척수 및 연수 근육 위축 (SBMA)을 평가하기 위한 트랜스제닉 마우스 모델 (Katsuno et al., Neuron (2002) 35:843 854), 인간 마비성 회색질척수염에 대한 동물 (Ford et al., Microb. Pathog. (2002) 33:97 107), 척수성 근육 위축의 동물 모델 (Schmid et al., J. Child Neurol. 22, 1004-1012, 2007), 원위 근병증 및 유전성 봉입체 근병증에 대한 동물 모델 (Malicdan et al., Acta Myol. 2007 December; 26(3): 171-175), 유전적 탈수초성 질환의 뮤린 모델 (Suzuki et al., Microsc. Res. Tech. 1995;32:204-214), 및 문헌 [Meyer ZuHoerste et al. (Curr. Opin. Neurol. 2006;19:464-473)]에 기재된 것을 포함한다.

[0328] 위축 및/또는 무활동으로 인한 근육 부피 손실에 대하여 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능을 시험하기 위한 동물 모델은 일측성 고정화 (Madaro et al., Basic Applied Myology 2008;18:149-153), 아킬레스건 열상 (건절단술) (Bialek et al., Physiol Genomics 2011;43:1075-86), 및 문헌 [Powers et al. (Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2005;288:R337-44)]에 개시된 것, 예컨대 동물의 뒷다리 현탁화, 사지 고정화 및 제어된 기계 환기의 마우스 모델을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0329] 대사 장애의 치료에서 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능을 시험하기 위한 적절한 동물 모델은 문헌 [Ramamo et al. (Indian J Med Res 2007;125:451-472) 및 Kennedy et al. (Disease Models & Mechanisms 2010;3:156-166)] (이들 둘 다 그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 동물 모델의 비제한적 예는 Lep^{ob/ob} 마우스, Lepr^{db} 마우스, 쿠오 콘도(Kuo Kondo) 마우스, KK^{Ay} 마우스, 뉴질랜드 비만 (NZO) 마우스, NONcNZO10 마우스, 츠무라 스즈키(Tsumara Suzuki) 비만 당뇨병 (TSOD) 및 츠무라 스즈키 비-비만 (TSNO) 마우스, M16 마우스, 주커(Zucker) 지방성 래트, 주커 당뇨병성 지방성 래트, SHR/N-cp 래트, JCR/LA-cp 래트, 오즈카 롱 에반스 토쿠시마(Otsuka Long Evans Tokushima) 지방성 래트, 비만 레서스 원숭이, 코헨(Cohen) 당뇨병성 래트, 고토-카키자키(Goto-Kakizaki) 래트 및 비-비만 돌연변이 C57 BL/6 (아키타(Akita)) 마우스를 포함한다. 제2형 당뇨병은 또한, 예를 들어 고지방 사료를 비-비만, 비-당뇨병성 C57BL6 마우스에 공급하는 식이에 의해 유도될 수 있다 (Surwit et al., Diabetes 1988;37:1163-7). 제2형 당뇨병은 또한, 예를 들어 골드티오글루코스 (Le Marchand Brustel et al., Am J Physiol 1978;234:E348-58) 또는 스트렙토조토신에 의해 화학적으로 유도될 수 있거나, 수술적으로 유도될 수 있다 (예를 들어, 부분으로 췌장절제된 당뇨병성 동물) (McNeil JH., Experimental models of diabetes. Florida, US: CRC Press LLC; 1999; Sasaki et al., In Vivo 2000;14:535-41). 많은 유전적 동물 모델이 또한 대사 장애의 증상 및 표현형, 예컨대 상기 문헌 [Kennedy et al., 2010]에서 검토된 것을 재현하기 위해 공지되어 있다.

[0330] 일부 실시양태에서, 근육 질량 또는 부피를 증가시키기 위한 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능은 실시

예 9에서 기재된 바와 같이 마우스의 피하 주사에 의해 시험될 수 있다. 미오스타틴의 억제제가 근육 질량을 증가시킬 경우, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 체중 및 근육 질량을 증가시킬 것으로 예상하고, 그 정도는 애드넥틴의 효력을 결정하는데 사용될 수 있다.

[0331] 일부 실시양태에서, 특히 항-미오스타틴 애드넥틴이 마우스에서 면역원성 (예를 들어, 인간 피브로넥틴 유형 III 도메인의 사용으로 인한)이고 장기 치료가 바람직할 때, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 세포성 또는 체액성 면역 반응을 시작할 수 없는 SCID 마우스에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, SCID 마우스는 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴을 사용한 장기 치료를 받아들이는 면역손상 마우스 모델을 개발하기 위해 다른 유전적 모델, 예컨대 본원에 기재된 것 (예를 들어, 당뇨병성 마우스)과 교배될 수 있다.

[0332] VIII. 치료 용도

[0333] 한 측면에서, 본 발명은 미오스타틴-관련 질환 또는 장애, 예를 들어 근육 소모 장애, 근육 위축, 대사 장애 및 골 변성 장애의 치료에 유용한 항-미오스타틴 애드넥틴을 제공한다. 따라서, 특정 실시양태에서 본 발명은 대상체에게 유효량의 미오스타틴-결합 폴리펩티드, 즉 항-미오스타틴 애드넥틴을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 미오스타틴-관련 질환 또는 장애를 악화시키거나 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴은 포유동물, 특히 인간에게 제약상 허용된다. "제약상 허용되는" 폴리펩티드는 유의한 유해 의료 결과 없이, 예컨대 본질적으로 내독소 무함유 또는 매우 낮은 내독소 수준으로 동물에게 투여되는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0334] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 치료할 특정한 질환 또는 장애에 유용한 것으로 관련 기술분야에 공지된 작용제와 조합되어 (공동으로 또는 개별적으로) 대상체에게 투여될 것이다.

[0335] 일부 실시양태에서, 항-미오스타틴 애드넥틴 요법에 대한 표적 환자 집단은, 예를 들어 연령, 기존 상태, 유전적 구성 및/또는 동반이환율로 인해 치료할 질환, 장애 또는 상태에 대한 표준 요법을 받아들이지 않는 집단이다. 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 실질적 부작용 (예를 들어, 재생 성능) 또는 안전성 관심사와 연관된 기존 요법에 대한 대안으로서의 역할을 할 수 있다.

[0336] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴이 유용할 예시적인 질환, 장애 및 상태는 하기에 보다 상세하게 기재된다.

[0337] 근육, 신경계 및 대사 질환과 장애

[0338] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 근육 소모 및/또는 근육 위축과 연관된 근육, 신경계 및 대사 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 생체내 미오스타틴 과다발현은 악액질의 특징을 갖는 징후 및 증상을 유도하고, 미오스타틴 결합제는 미오스타틴의 근육 소모 효과를 부분적으로 해결할 수 있다 (Zimmers et al., Science 2002;296:1486-8). AIDS 환자는 또한 AIDS가 없는 환자 또는 체중 감소를 나타내지 않는 AIDS 환자와 비교하여 미오스타틴 면역반응성 물질의 증가된 혈청 수준을 나타낸다 (Gonzalez-Cadavid et al., PNAS 1998;95:14938-43). 또한, 미오스타틴의 심장-특이적 제거는 심부전을 가진 마우스에서 골격근 위축을 감소시키고, 반대로 심장에서 미오스타틴을 특이적으로 과다발현시키는 것은 근육 소모를 유도하기에 충분하다는 것이 관찰되었다 (Breitbart et al., AJP-Heart; 2011;300:H1973-82). 대조적으로, 미오스타틴 녹아웃 마우스는 그의 야생형 대응물과 비교하여 증가된 근육 질량 및 지방 축적의 연령-의존성 감소를 나타낸다 (McPherron et al., J. Clin. Invest. 2002;109:595-601).

[0339] 본 발명의 방법에 따라 치료할 수 있는 예시적인 장애는, 예를 들어 운동 뉴런 질환, 신경근육 및 신경계 장애를 비롯한, 근병증 및 신경병증을 포함한다.

[0340] 예를 들어, 항-미오스타틴 애드넥틴은 유전성 근병증 및 신경근육 장애 (예를 들어, 근육 이영양증 (Gonzalez-Kadavid et al., PNAS, 1998;95:14938-43), 운동 뉴런 장애, 선천성 근병증, 염증성 근병증 및 대사성 근병증), 뿐만 아니라 후천성 근병증 (예를 들어, 약물 유발 근병증, 독소 유발 근병증, 감염 유발 근병증, 부신생물성 근병증 및 중대 질병과 연관된 다른 근병증)을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0341] 이러한 장애는 뒤시엔느 근육 이영양증, 진행성 근육 이영양증, 베커 유형 근육 이영양증, 데제린-랑도우지 근육 이영양증, Erb의 근육 이영양증, 에머리 드레이푸스 근육 이영양증, 지대 근육 이영양증, 안인두 근육 이영양증 (OPMD), 안면견갑상완 근육 이영양증, 선천성 근육 이영양증, 영아 신경축삭 근육 이영양증, 근긴장성 이영양증 (스타이너트병), 원위 근육 이영양증, 네말린 근병증, 가족성 주기성 마비, 비이영양성 근긴장증, 주기성 마비, 척수성 근육 위축, 척수성 근육 위축 (SMA), 근위축성 축삭 경화증 (ALS), 원발성 축삭 경화증 (PLS), 진행성 근육 위축 (PMA), 원위 근병증, 근세관성/중심핵성 근병증, 네말린 근병증, 미세핵병, 중심핵병, 테스민

병증, 봉입체 근염, 피부근염, 다발근염, 미토콘드리아 근병증, 선천성 근무력 증후군, 중증 근무력증, 소아마비 후 근육 기능장애, 스테로이드 근병증, 알콜성 근병증, 수술전후 근육 위축 및 ICU 신경근육병증을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0342] 항-미오스타틴 애드넥틴으로 치료될 수 있는 유전성 및 후천성 신경병증 및 신경근병증은 경직 척추 증후군, 근육-눈-뇌 질환, 유전 운동 및 감각 신경병증, 카르코트-마리-치아 질환, 만성 염증성 신경병증, 진행성 비후성 신경병증, 순대양 신경병증, 루푸스, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 다발성 경화증, 사르코이드증, 당뇨병성 신경병증, 알콜성 신경병증, 신경병증 관련 질환 (예를 들어, HIV/AIDS, 라임병), 독소 관련 신경병증 (예를 들어, 중금속, 화학요법), 압박 신경병증 (예를 들어, 종양, 포착 신경병증) 및 손상 또는 외상과 연관된 신경병증 (예를 들어, 마미 증후군, 하반신마비, 사지마비)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0343] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 근육 이영양증 (예를 들어, 뒤시엔느 근육 이영양증, 베커 유형 근육 이영양증), ALS 및 근육감소증을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0344] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴으로 치료될 수 있는 근육 소모와 연관된 추가의 장애는 악액질, 소모 증후군, 근육감소증, 울혈성 폐쇄성 폐 질환, 낭성 섬유증 (폐 악액질), 심장 질환 또는 부전 (심장 악액질), 암, AIDS로 인한 소모, 신부전으로 인한 소모, 신질환, 파행, 투석과 연관된 악액질, 요독증, 류마티스 관절염, 근육 손상, 수술, 손상된 근육의 복구, 쇠약, 불사용 위축, 골다공증, 골관절염, 인대 성장 및 복구를 포함한다.

[0345] 본 발명의 방법은 또한 불사용으로 인한 근육 위축을 앓고 있는 대상체에서 근육 부피를 증가시키는데 사용될 수 있다. 불사용 위축은 장기간 부동 또는 불사용을 유도하는 임의의 장애 또는 상태, 예를 들어 장기간 요양, 휠체어 생활, 사지 고정화, 기계 환기를 통한 횡경막의 무부하, 실질 기관 이식, 관절 교체, 졸중, CNS 손상 관련 허약, 척수 손상, 중증 화상으로부터의 회복, 좌식 만성 혈액투석, 외상후 회복, 패혈증후 회복 및 마이크로 중력에 대한 노출 (이에 제한되지는 않음)을 포함하는 다수의 원인으로부터 유발될 수 있다 (Powers et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2005;288:R337-44).

[0346] 또한, 근육 대비 지방 비의 연령 관련 증가, 및 연령 관련 근육 위축은 미오스타틴에 관련된 것으로 보인다. 예를 들어, 평균 혈청 미오스타틴-면역반응성 단백질은 청년 (19-35세), 중년 (36-75세) 및 노년 (76-92세) 남성 및 여성 군에서 연령이 증가함에 따라 증가한 반면, 평균 근육 질량 및 체지방 질량은 이들 군에서 연령이 증가함에 따라 감소하였다 (Yarasheski et al. J Nutr Aging 6(5):343-8 (2002)). 따라서, 노화로 인한 근육 위축을 가진 대상체 및/또는 예를 들어 근육감소증으로 인해 쇠약한 대상체는 또한 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴을 사용한 치료로부터 이익을 얻을 것이다.

[0347] 또한, 유효 투여량의 항-미오스타틴 애드넥틴을 식용 동물에게 투여하여 이들 동물에서 근육 질량을 증가시키는 방법이 또한 고려된다. 성숙 C-말단 미오스타틴 폴리펩티드는 모든 종에서 동일하기 때문에, 항-미오스타틴 애드넥틴은 임의의 농업상 중요한 종, 예를 들어 소, 닭, 칠면조 및 돼지 (이에 제한되지는 않음)에서 효과적으로 근육 질량을 증가시키고 지방을 감소시킬 것으로 예상된다.

[0348] 근육 소모 장애 또는 근육 위축의 치료에 있어서 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능은, 예를 들어 근육 질량 또는 부피의 증가, 근육 세포 수의 증가 (증식증), 근육 세포 크기의 증가 (비대증) 및/또는 근육 강도의 증가를 측정하는 하나 이상의 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 근육 부피 증가 효과는 하기 기재된 실시예에서 입증된다. "증가된 근육 질량"을 결정하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 근육 함량은 표준 기술, 예컨대 수중 체중측정 (예를 들어, 문헌 [Bhasin et al. New Eng. J. Med. (1996) 335:1-7] 참조) 또는 이중-에너지 X선 흡수측정법 (예를 들어, 문헌 [Bhasin et al. Mol. Endocrinol. (1998) 83:3155-3162] 참조)을 사용하여 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 투여 전 및 후에 측정될 수 있다. 근육 크기의 증가는 적어도 약 5-10%, 바람직하게는 적어도 약 10-20% 또는 그 초과에 체중 증가에 의해 증명될 수 있다.

[0349] 대사 장애

[0350] 미오스타틴 활성 및/또는 신호전달을 감소시키는 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 대사 장애, 예컨대 비만, 제II형 당뇨병, 당뇨병 연관 장애, 대사 증후군 및 고혈당증을 치료하는데 유용하다.

[0351] 미오스타틴은 제II형 당뇨병의 발병기전에 관련된다. 미오스타틴은 지방 조직에서 발현되고, 미오스타틴 결핍

마우스는 연령이 증가함에 따라 감소된 지방 축적을 나타낸다. 더욱이, 글루코스 부하, 지방 축적 및 전체 체중은 미오스타틴 결핍 아구티 치사 황색 및 비만 ($Lep^{ob/ob}$) 마우스에서 감소된다 (Yen et al., FASEB J. 8:479, 1994; McPherron et al., 2002). US2011/0008375에 개시된 바와 같이, 미오스타틴 길항제는 노화 마우스 모델에서 근육 대비 지방 비를 감소시키고, 골격근 질량 및 체지방 체질량을 보존하고, STZ-유도된 당뇨병성 마우스에서 신장 비대증을 약화시킬 수 있다.

[0352] 본원에 사용된 "비만"은 건강에 부정적인 영향이 미칠 수 있을 정도로 과잉 체지방이 축적된 상태이다. 이는 통상적으로 체질량 지수 (BMI) 30 kg/m² 이상으로서 정의되고, BMI 25 kg/m² 이상으로 정의되는 과체중과는 구별된다 (예를 들어, [World Health Organization (2000) (PDF). Technical report series 894: Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization] 참조). 지나친 체중은 다양한 질환, 특히 심혈관 질환, 제II형 당뇨병, 폐쇄성 수면 무호흡, 특정 유형의 암 및 골관절염과 연관된다.

[0353] 비만 대상체는, 예를 들어 BMI (BMI는 대상체의 체중을 그 또는 그녀의 키의 제곱으로 나눔으로써 계산됨), 허리둘레 및 허리-엉덩이 비 (절대적 허리둘레: 남성에서 >102 cm 및 여성에서 >88 cm) 및 허리-엉덩이 비 (허리둘레를 엉덩이둘레로 나눈 것: 남성의 경우 >0.9 및 여성의 경우 >0.85) (예를 들어, 문헌 [Yusuf S, et al., (2004). Lancet 364: 937-52] 참조), 및/또는 체지방률 (전체 체중의 백분율로 표현된 전체 체지방: 25% 초과 의 체지방을 갖는 남성 및 33% 초과 의 체지방을 갖는 여성이 비만임; 체지방률은 사람의 BMI로부터 하기 식에 의해 평가될 수 있음: 체지방% = (1.2 * BMI) + (0.23 * 연령) - 5.4 - (10.8 * 성별), 여기서 성별은 여성인 경우 0이고 남성인 경우 1임)을 결정하여 확인될 수 있다. 체지방률 측정 기술은, 예를 들어 컴퓨터 단층촬영 (CT 스캔), 자기 공명 영상화 (MRI) 및 이중 에너지 X선 흡수측정법 (DEXA)을 포함한다.

[0354] 용어 "제II형 당뇨병"은 신체의 인슐린이 효과적으로 작용하지 않을 때 유발되는 만성 평생 질환을 지칭한다. 제II형 당뇨병의 주요 성분은 "인슐린 저항성"이며, 여기서 췌장에 의해 생산된 인슐린은 지방 및 근육 세포와 연결될 수 없어서 내부 글루코스가 에너지를 생성하도록 하여 고혈당증 (높은 혈액 글루코스)을 야기한다. 보상하기 위해, 췌장은 보다 많은 인슐린을 생산하고, 이러한 인슐린 범람을 감지하는 세포는 보다 더 저항성이 되어, 높은 글루코스 수준 및 종종 높은 인슐린 수준의 악순환을 초래한다.

[0355] 본원에 사용된 어구 "당뇨병과 연관된 장애" 또는 "당뇨병 연관 장애" 또는 "당뇨병 관련 장애"는 통상적으로 당뇨병과 연관 또는 관련된 상태 및 기타 질환을 지칭한다. 당뇨병과 연관된 장애의 예는, 예를 들어 고혈당증, 고인슐린혈증, 고지혈증, 인슐린 저항성, 글루코스 대사 장애, 비만, 당뇨병성 망막병증, 황반 변성, 백내장, 당뇨병성 신병증, 사구체경화증, 당뇨병성 신경병증, 발기 기능장애, 월경전 증후군, 혈관 재협착, 궤양성 결장염, 관상동맥 심장 질환, 고혈압, 협심증, 심근경색, 졸중, 피부 및 결합 조직 장애, 족부 궤양, 대사성 산증, 관절염 및 골다공증을 포함한다.

[0356] 대사 장애의 치료에 있어서 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능은, 예를 들어 인슐린 감수성의 증가, 대상체로부터 세포에 의한 글루코스 흡수의 증가, 혈액 글루코스 수준의 감소 및 체지방의 감소를 측정하는 하나 이상의 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0357] 예를 들어, 제II형 당뇨병을 갖거나 당뇨병을 발달시킬 위험이 있는 대상체에서 HbA1c 수준이 모니터링될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "헤모글로빈 1AC" 또는 "HbA1c"는 헤모글로빈 B 쇄의 비-효소적 당화의 생성물을 지칭한다. 당뇨병을 가진 사람에 대한 HbA1c 수준의 바람직한 목표 범위는 미국 당뇨병 협회 (ADA) 가이드라인, 즉 [the Standards of Medical Care in Diabetes (Diabetes Care 2012;35(Suppl 1):S511-563)]로부터 결정될 수 있다. 현행 HbA1c 목표 수준은 일반적으로 당뇨병을 가진 사람의 경우 <7.0%이고, 당뇨병을 갖지 않은 사람은 전형적으로 6% 미만의 HbA1c 값을 갖는다. 따라서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴의 효능은 대상체에서 관찰된 HbA1c 수준의 감소에 의해 결정될 수 있다.

[0358] 본 발명의 방법은 항-미오스타틴 애드넥틴을 단독으로, 또는 혈당 조절에 대해 관련 기술분야에 공지된 기타 작용제 (예를 들어, 인슐린, GLP1) 또는 관련 기술분야-인식된 당뇨병-관련 합병증을 치료하기 위한 기타 작용제와 조합하여 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0359] 다른 장애

[0360] 미오스타틴 녹아웃 마우스는 증가된 근육 질량, 뿐만 아니라 마우스 상완골의 증가된 무기질 함량 및 밀도, 및 근육이 부착되는 영역에서의 지주골과 피질골 둘 다의 증가된 무기질 함량을 나타낸다 (Hamrick et al. Calcif Tissue Int'l 2002;71:63-8). 이는 근육 질량을 증가시키는 것이 골 강도를 개선시키고 골다공증 및 다른 변성

골 질환을 감소시키는 것을 도울 수 있음을 제시한다.

[0361] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴이 유용한 추가의 질환 또는 장애는 상처 치유, 항섬유화 질환, 램버트-이튼 증후군 및 파킨슨병을 포함한다.

[0362] 조합 요법

[0363] 본원에 제공된 항미오스타틴 애드넥틴은 항당뇨병제, 항고혈당제, 항고인슐린혈증제, 항망막병증제, 항신경병증제, 항신경변성제, 항신장병증제, 항아테롬성동맥경화증제, 항허혈제, 항고혈압제, 항비만제, 항이상지질혈증제, 항이상지질혈증제, 항고지질혈증제, 항고트리글리세리드혈증제, 항고콜레스테롤혈증제, 항재협착제, 항체장제, 지질 강하제, 식욕억제제, 기억 증진제, 항치매제, 또는 인지 촉진제, 식욕 억제제, 심부전 치료제, 말초 동맥 질환 치료제 및 항염증제와 조합되어 이용될 수 있다.

[0364] 항-미오스타틴 애드넥틴과 조합되어 사용되는 항당뇨병제는 인슐린 분비촉진제 또는 인슐린 감작제, GPR40 수용체 조절제 또는 기타 항당뇨병제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이들 작용제는 디펩티딜 펩티다제 IV (DP4) 억제제 (예를 들어, 시타글립틴, 삭사글립틴, 알로글립틴, 빌다글립틴 등), 비구아니드 (예를 들어, 메트포르민, 펜포르민 등), 술폰닐 우레아 (예를 들어, 글리부리드, 글리메피리드, 글리피지드 등), 글루코시다제 억제제 (예를 들어, 아카르보스, 미글리톨 등), PPAR γ 효능제, 예컨대 티아졸리디논 (예를 들어, 로시글리타존, 피오글리타존 등), PPAR α/γ 이중 효능제 (예를 들어, 무라글리타자르, 테사글리타자르, 알레글리타자르 등), 글루코키나제 활성화제 (문헌 [Fyfe et al., Drugs of the Future, 34(8):641-653 (2009)] (본원에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같음), GPR119 수용체 조절제 (MBX-2952, PSN821, APD597 등), SGLT2 억제제 (다파글리플로진, 카나글리플로진, 레모글리플로진 등), 아밀린 유사체, 예컨대 프람린티드, 및/또는 인슐린을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 당뇨병의 치료를 위한 현행 및 신생 요법의 검토는 문헌 [Mohler et al., Medicinal Research Reviews, 29(1):125-195 (2009), 및 Mizuno et al., Current Medicinal Chemistry, 15:61-74 (2008)]에서 찾을 수 있다.

[0365] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 임의로 하나 이상의 식욕저하제, 예컨대 디에틸프로피온, 펜디메트라진, 펜테르민, 오를리스타트, 시부트라민, 로르카세린, 프람린티드, 토피라메이트, MCHR1 수용체 길항제, 옥신 토모들린, 날트렉손, 아밀린 펩티드, NPY Y5 수용체 조절제, NPY Y2 수용체 조절제, NPY Y4 수용체 조절제, 세틸리스타트, 5HT_{2c} 수용체 조절제 등과 조합되어 이용될 수 있다. 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 글루카곤-유사 펩티드-1 수용체 (GLP-1 R)의 효능제, 예컨대 엑세나티드, 리라글루티드, GPR-1(1-36) 아미드, GLP-1(7-36) 아미드, GLP-1(7-37) (미국 특허 번호 5,614,492 (Habener) (이의 개시내용은 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 바와 같음)과 조합되어 이용될 수 있으며, 이들은 주사를 통해, 비강내로, 또는 경피 또는 협착 장치에 의해 투여될 수 있다. 비만의 치료를 위한 현행 및 신생 요법의 검토는 문헌 [Melnikova et al., Nature Reviews Drug Discovery, 5:369-370 (2006); Jones, Nature Reviews: Drug Discovery, 8:833-834 (2009); Obici, Endocrinology, 150(6):2512-2517 (2009); 및 Elangbam, Vet. Pathol., 46(1):10-24 (2009)]에서 찾을 수 있다.

[0366] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 치료할 특정한 질환 또는 장애에 적절한 경우, 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 투여될 수 있다. 추가의 작용제의 비제한적 예는 대사 장애, 예컨대 제II형 당뇨병 및 근육감소증을 치료하는데 유용하고, GLP-1, GLP-1-유사, 아밀린 및 FGF21을 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 항섬유화 질환, 신경근육 질환, 운동 뉴런 질환 및 근육감소증을 치료하는데 유용하고, 그렐린, SARM, 릴루졸, 테스토스테론, 안드로겐, 성장 호르몬, 호르몬 대체 요법, COX-2 억제제, 트로포닌 활성화제, β 2 효능제, CTLA4-Ig (예를 들어, 아바타셉트, 벨라타셉트) 및 항-TGF β 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 악액질 및 다른 소모성 증후군을 치료하는데 유용하고, TGF β 수용체 키나제 억제제, 항-IL-6 및 유비퀴틴-프로테아솜 억제제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 근긴장증 및 PLS와 연관된 근육 경련을 치료하는데 유용하고, 피토인, 퀴닌, 바클로펜 및 티자니딘을 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 신경병증에 유용하고 항우울제 (예를 들어, 트리스클릭 및 선택적 세로토닌-노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI)), 항경련제, 칸나비노이드, 보툴리눔 독소 유형 A, NMDA 길항제 (예를 들어, 케타민), 식이 보충제 (예를 들어, 알파 리포산 및 벤포티아민)를 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 만성 염증성 신경병증을 치료하는데 유용하고 코르티코스테로이드, 정맥내 이뮤노글로불린 및 면역억제 약물 (예를 들어, 시클로포스파미드, 시클로스포린, 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸, 항흉선세포 글로불린, 리툽시맙)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 것; 및 길랑 바레 증후군, 근육감소증, 골절 및 골 손실을 치료하는데 유용하고, 보니바 (이반드로네이트) 및 PTH를 포함하나 이에 제한되지는 않는 것을 포함한다.

- [0367] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 대중 요법에 사용된 하나 이상의 추가의 작용제와 함께 투여될 수 있다. ALS의 증상을 치료하기 위한 이러한 작용제의 비제한적 예는 미토콘드리아 투과성 전이 (MPT) 기공 활성화제, 신속 골격 트로포닌 활성화제, 대식세포 조절제 (예를 들어, NP001), 리소솜 저장 질환-치료제 (예를 들어, NP003) 및 니코틴성 아세틸콜린 수용체 (nAChR) 길항제를 포함한다. DMD/BMD의 증상을 치료하는데 사용하기 위한 추가의 작용제의 비제한적 예는 ATP 수준을 증가시키는 작용제이다.
- [0368] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 질환 변형 요법에 사용된 하나 이상의 추가의 작용제와 함께 투여될 수 있다. ALS를 치료하기 위한 이러한 작용제의 비제한적 예는 자유 라디칼 스캐빈저 (예를 들어, 에다라본 (노르페나존), CV-3611), VEGF 효능제 (예를 들어, sNNO029), 노고-A 단백질 I (예를 들어, GSK122324), SOD1 억제제 (예를 들어, ISIS-SOD1Rx) 및 PGE 신타제 1 억제제 (예를 들어, AAD-2004)를 포함한다. DMD/BMD를 치료하기 위한 이러한 작용제의 비제한적 예는 엑손 스킵핑을 촉진하는 작용제 (예를 들어, 안티센스 분자, 예컨대 트리사페르센 (PRO051/GSK2402968), PRO044, 에테플러센, AVI-4658, AVI-5038, 아탈루렌 (PTC124)), 유전자 요법제, 항염증제 (예를 들어, CRD007) 및 항섬유화제 (예를 들어, HT-100)을 포함한다.
- [0369] 상기한 바와 같이, 엑손 스킵핑을 촉진하는 작용제는 뒤시엔는 근육 이영양증 및 베커 유형 근육 이영양증을 치료하기 위해 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴과 조합되어 사용될 수 있다. 기능적 디스트로핀을 복원하기 위해 표적화될 수 있는 특정 엑손의 예는 엑손 7, 8, 17, 43, 44, 45, 46, 50, 51, 52, 53 및 55를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Lu et al., Molecular Therapy 2011;19:9-15] 참조). 일부 실시양태에서, 1종 초과 작용제, 예를 들어 안티센스 올리고뉴클레오티드는 다중-엑손 스킵핑을 유도하는데 사용될 수 있다.
- [0370] IX. 제약 조성물
- [0371] 본 발명은, 항-미오스타틴 애드넥틴 또는 본원에 기재된 그의 융합 단백질을 포함하고, 본질적으로 내독소 무함유이거나 또는 적어도 적절한 규제 당국 (예를 들어, FDA)에 의해 결정된 바와 같은 허용되는 수준 이하의 엔도톡신을 함유하는 제약 조성물을 추가로 제공한다.
- [0372] 본 발명의 조성물은 경구 투여를 위한 환제, 정제, 캡슐, 액체 또는 지속 방출 정제; 정맥내, 피하 또는 비경구 투여를 위한 액체; 또는 국부 투여를 위한 겔, 로션, 연고, 크림, 또는 중합체 또는 기타 지속 방출 비히클의 형태일 수 있다.
- [0373] 조성물을 제조하는 것으로 관련 기술분야에 널리 공지된 방법은, 예를 들어 문헌 ["Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (20th ed., ed. A. R. Gennaro AR., 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.)]에서 발견된다. 비경구 투여를 위한 조성물은, 예를 들어 부형제, 멸균수, 염수, 폴리알킬렌 글리콜, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜, 식물 기원의 오일 또는 수소화 나프탈렌을 함유할 수 있다. 생체적합성, 생분해성 락티드 중합체, 락티드/글리콜리드 공중합체 또는 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 공중합체는 화합물의 방출을 제어하는데 사용될 수 있다. 나노미립자 조성물 (예를 들어, 생분해성 나노입자, 고체 지질 나노입자, 리포솜)은 화합물의 생체분포를 제어하는데 사용될 수 있다. 기타 잠재적으로 유용한 비경구 전달 시스템은 에틸렌-비닐 아세테이트 공중합체 입자, 삼투성 펌프, 이식가능 주입 시스템 및 리포솜을 포함한다. 조성물 중 화합물의 농도는 투여될 약물의 투여량 및 투여 경로를 비롯한 수많은 인자들에 따라 달라진다.
- [0374] 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 이용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트란을 비롯한 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, 아연-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈, 플루로닉(PLURONIC)TM 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.
- [0375] 본 발명의 폴리펩티드는 임의로 제약 산업에서 통상적으로 사용되는 제약상 허용되는 염, 예컨대 비-독성 산 부가염 또는 금속 착물로서 투여될 수 있다. 산 부가염의 예는 유기 산, 예컨대 아세트산, 락트산, 파모산, 말레산, 시트르산, 말산, 아스코르브산, 숙신산, 벤조산, 팔미트산, 수베르산, 살리실산, 타르타르산, 메탄술폰산, 톨루엔술폰산 또는 트리플루오로아세트산 등; 중합체성 산, 예컨대 탄닌산, 카르복시메틸 셀룰로스 등; 및 무기

산, 예컨대 염산, 브로민화수소산, 황산 인산 등을 포함한다. 금속 착물은 아연, 철 등을 포함한다. 한 예에서, 폴리펩티드는 열 안정성을 증가시키기 위해 아세트산나트륨의 존재 하에 제제화된다.

[0376] 활성 성분은 또한 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조되는 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐)에, 또는 마크로에멀전에 봉입될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0377] 지속-방출 제제를 제조할 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 본 발명의 단백질을 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포(LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 이루어진 주사가 가능한 마이크로구체), 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다. 중합체, 예컨대 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산은 100일을 초과하여 분자를 방출할 수 있는 반면, 특정 히드로겔은 단백질을 보다 짧은 기간 동안 방출한다. 본 발명의 캡슐화된 단백질이 체내에 장시간 동안 남아있을 경우에, 이들은 37°C에서의 수분에 대한 노출 결과로서 변성 또는 응집되어, 생물학적 활성이 상실될 수 있고 면역원성 상의 변화가 가능해진다. 관련 메카니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 고안될 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설피드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 발견되면, 안정화는 술폰히드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량의 제어, 적절한 첨가제의 사용 및 특정 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 달성될 수 있다.

[0378] 경구 사용을 위한 본 발명의 조성물은 비-독성의 제약상 허용되는 부형제와의 혼합물 중에 활성 성분(들)을 함유하는 정제를 포함한다. 이러한 부형제는 예를 들어 불활성 희석제 또는 충전제 (예컨대 수크로스 및 소르비톨), 윤활제, 활택제, 및 항-부착제 (예컨대 스테아르산마그네슘, 스테아르산아연, 스테아르산, 실리카, 수소화 식물성 오일 또는 활석)일 수 있다. 경구 사용을 위한 조성물은 또한 chewable 정제로, 또는 활성 성분이 불활성 고체 희석제와 혼합되어 있는 경질 젤라틴 캡슐로, 또는 활성 성분이 물 또는 오일 매질과 혼합되어 있는 연질 젤라틴 캡슐로 제공될 수도 있다.

[0379] 생체내 투여를 위해 사용될 수 있는 제약 조성물은 전형적으로 멸균이어야 한다. 이는 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다. 상기 조성물이 동결건조되는 경우, 이 방법을 이용한 멸균이 동결건조 및 재구성 이전 또는 이후에 수행될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조된 형태로 또는 용액으로 저장될 수 있다. 또한, 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트가 구비된 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘에 의해 관통될 수 있는 마개가 있는 정맥내 용액 백 또는 바이알 내에 넣는다.

[0380] 제약 조성물이 제제화되면, 이는 용액, 현탁액, 겔, 에멀전, 고체 또는 탈수되거나 동결건조된 분말로서 멸균 바이알 내에 저장될 수 있다. 이러한 제제는 즉석사용 형태 또는 투여에 앞서 재구성을 필요로 하는 형태 (예를 들어, 동결건조) 중 하나로 저장될 수 있다.

[0381] 본원의 조성물은 또한 치료할 특정 적응증에 필요한 경우에는 1종 초과 활성 화합물, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 화합물을 함유할 수 있다. 이러한 분자는 의도된 목적에 유효한 양으로 조합되어 적합하게 존재한다.

[0382] X. 투여

[0383] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴을 포함하는 제약 조성물은 경구, 비경구, 폐, 경피, 근육내, 비강내, 협측, 설하 또는 좌제 투여를 비롯한 표준 투여 기술을 사용하여 본원에 기재된 바와 같은 병리상태의 위험이 있거나 병리상태를 나타내는 대상체에게 투여될 수 있다. 적절하게는, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴 투여는 비경구이다. 본원에 사용된 용어 비경구는 정맥내, 근육내, 피하, 직장, 질 또는 복강내 투여를 포함한다. 정맥내 또는 복강내 또는 피하 주사에 의한 말초 전신 전달이 바람직하다.

[0384] 치료 유효 용량은 투여되는 대상체에 대하여 치료 효과를 생성하는 용량을 지칭한다. 치료적으로 이용될 제약 조성물의 유효량은, 예를 들어 치료 정황 및 목적에 좌우될 것이다. 통상의 기술자는 치료를 위한 적절한 투여량 수준이 부분적으로 분자 전달시 결합제 분자가 사용되는 적응증, 투여 경로 및 환자의 크기 (체중, 체표면 또는 기관 크기) 및 상태 (연령 및 일반적 건강상태)에 따라 달라질 것이다.

- [0385] 예를 들어, 치료 유효 용량은 먼저 세포 배양 검정에서 또는 동물 모델, 예컨대 마우스, 래트, 토끼, 개, 돼지 또는 원숭이에서 평가될 수 있다. 또한, 동물 모델은 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수 있다. 이어서, 이러한 정보를 사용하여 인간에서의 투여에 유용한 용량 및 경로를 결정할 수 있다.
- [0386] 정확한 투여량은 대상체 요구 치료와 관련된 인자에 비추어 결정될 것이고, 표준 기술을 사용하여 확인될 수 있다. 투여량 및 투여는 활성 화합물의 충분한 수준을 제공하거나 목적하는 효과를 유지하도록 조절된다. 고려될 수 있는 인자들은 질환 상태의 중증도, 대상체의 일반적 건강상태, 대상체의 연령, 체중 및 성별, 투여 시간 및 빈도, 약물 조합(들), 반응 감수성 및 요법에 대한 반응을 포함한다. 일반적으로, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 하루에 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 하루에 0.01 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 가장 바람직하게는 하루에 0.01 mg/kg 내지 약 20 mg/kg으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 약 1 내지 50 mg, 보다 바람직하게는 약 10-50 mg의 매주 투여량으로 투여된다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 30-200 mg, 바람직하게는 50-150 mg, 보다 바람직하게는 60-120 mg의 매일 용량으로 투여된다.
- [0387] 투여 빈도는 사용되는 제제 중 결합제 분자의 약동학적 파라미터에 따라 것이다. 일반적으로, 조성물은 목적하는 효과를 달성하는 투여량에 도달될 때까지 투여된다. 따라서, 상기 조성물은 단일 용량으로서, 또는 시간이 지남에 따라 다중 용량으로 (동일하거나 상이한 농도/투여량으로), 또는 연속 주입으로서 투여될 수 있다. 적절한 투여량의 추가의 개선은 통상적으로 이루어진다. 적절한 투여량은 적절한 용량-반응 데이터의 사용을 통해 확인할 수 있다. 예를 들어, 항-미오스타틴 애드넥틴은 매일 (예를 들어, 매일 1회, 2회, 3회 또는 4회) 또는 덜 빈번하게 (예를 들어, 2일마다 1회, 매주 1회 또는 2회, 또는 매일) 제공될 수 있다. 또한, 관련 기술분야에 공지되어 있는 바와 같이, 연령은 물론, 체중, 일반적 건강상태, 성별, 식이, 투여 시간, 약물 상호작용 및 질환의 중증도에 대한 조정이 필요할 수 있고, 통상의 기술자에 의한 일상적인 실험으로 확인가능할 것이다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 한번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다.
- [0388] 항-미오스타틴 애드넥틴 또는 그의 융합체, 및 하나 이상의 추가의 치료제의 투여는 동시 투여이든 또는 순차적 투여이든 관계없이 치료 용도에 대해 상기한 바와 같이 수행될 수 있다. 동시 투여에 적합한 제약상 허용되는 담체, 희석제 및 부형제는 투여될 특정 치료제의 종류에 좌우된다는 것이 통상의 기술자에 의해 이해될 것이다.
- [0389] XI. 검출 방법 및 진단법
- [0390] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 다양한 진단 용도에 유용하다. 예를 들어, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 증가된 미오스타틴 수준과 연관된 장애 또는 질환을 진단하는데 사용될 수 있다. 유사한 방식으로, 항-미오스타틴 애드넥틴은 미오스타틴-연관 상태로 치료할 대상체에서 미오스타틴 수준을 모니터링하기 위해 검정에 사용될 수 있다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 변형되거나 변형되지 않고 사용될 수 있고, 검출가능한 모이어티와의 공유 또는 비공유 부착에 의해 표지될 수 있다. 검출가능한 모이어티는 검출가능한 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 생성할 수 있는 임의의 모이어티일 수 있다. 예를 들어, 검출가능한 모이어티는 방사성동위원소, 예컨대 H3, C14 또는 13, P32, S35 또는 I131; 형광 또는 화학발광 화합물, 예컨대 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민 또는 루시페린; 또는 효소, 예컨대 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 양고추냉이 퍼옥시다제일 수 있다.
- [0391] 단백질을 검출가능한 모이어티와 접합시키기 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법이 이용될 수 있으며, 이러한 방법에는 문헌 [Hunter, et al., Nature 144:945 (1962); David, et al., Biochemistry 13:1014 (1974); Pain, et al., J. Immunol. Meth. 40:219 (1981); 및 Nygren, J. Histochem. and Cytochem. 30:407 (1982)]에 기재된 방법이 포함된다. 시험관내 방법은 단백질과 상용성인 화학, 예컨대 Cys 및 Lys와 같은 특정 아미노산에 대한 화학을 비롯한 관련 기술분야에 널리 공지된 접합 화학을 포함한다. 모이어티 (예컨대 PEG)를 본 발명의 단백질에 연결하기 위해, 연결기 또는 반응성 기가 사용된다. 적합한 연결기는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 디설피드 기, 티오에테르 기, 산 불안정성 기, 광불안정성 기, 펩티다제 불안정성 기 및 에스테라제 불안정성 기를 포함한다. 바람직한 연결기는 용도에 따라 디설피드 기 및 티오에테르 기이다. Cys 아미노산이 없는 폴리펩티드에 대해, 접합을 위한 위치가 생성되는 한편 단백질의 활성은 존재하도록 하는 위치에서 Cys가 조작될 수 있다.
- [0392] 검출가능한 모이어티와 연결된 항-미오스타틴 애드넥틴은 생체내 영상화에 또한 유용하다. 이러한 폴리펩티드가 방사선 비투과성 작용제 또는 방사성동위원소에 연결될 수 있고, 이를 대상체에게, 바람직하게는 혈류 내로 투여하고, 대상체 내의 표지된 단백질의 존재 및 위치를 분석한다. 이러한 영상화 기술은 악성종양의 병기 결정 및 치료에서 유용하다. 핵 자기 공명, 방사선학 또는 관련 기술분야에 공지된 기타 검출 수단에 의해 대상

체 내에서 검출가능한 임의의 모이어티로 단백질이 표지될 수 있다.

- [0393] 항-미오스타틴 애드넥틴은 또한 친화도 정제 작용제로서 유용하다. 이러한 과정에서, 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 적합한 지지체, 예컨대 세파덱스(Sephadex) 수지 또는 여과지 상에 폴리펩티드가 고정된다.
- [0394] 항-미오스타틴 애드넥틴은 경쟁적 결합 검정, 직접 및 간접 샌드위치 검정 및 면역침전 검정과 같은 임의의 공지된 검정 방법에 이용될 수 있다 (Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp. 147-158 (CRC Press, Inc., 1987)).
- [0395] 특정 측면에서, 본 개시내용은 샘플 내의 표적 분자를 검출하는 방법을 제공한다. 이 방법은 샘플을 본원에 기재된 항-미오스타틴 애드넥틴과 접촉시키고, 여기서 상기 접촉은 항-미오스타틴 애드넥틴-표적 복합체가 형성되도록 하는 조건 하에 수행하는 단계; 및 상기 복합체를 검출하여, 상기 샘플 내의 상기 표적을 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 검출은 임의의 관련 기술분야-인식된 기술, 예를 들어 방사선촬영, 면역학적 검정, 형광 검출, 질량 분광분석법 또는 표면 플라스몬 공명을 사용하여 수행할 수 있다. 샘플은 인간 또는 기타 포유동물로부터 유래될 수 있다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 표지 모이어티, 예컨대 방사성 모이어티, 형광 모이어티, 발색 모이어티, 화학발광 모이어티 또는 합텐 모이어티로 표지될 수 있다. 항-미오스타틴 애드넥틴은 고체 지지체 상에 고정될 수 있다.
- [0396] XII. 키트 및 제조품
- [0397] 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴은 예정량의 시약과 본 발명의 치료 또는 진단 방법에서의 사용 지침서와의 포장 조합물인 키트로 제공될 수 있다.
- [0398] 예를 들어, 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 기재된 장애 또는 상태의 치료 또는 예방에 유용한 물질을 함유하는 제조품이 제공된다. 제조품은 용기 및 표지를 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지 및 시험 튜브를 포함한다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 장애 또는 상태를 예방 또는 치료하는데 유용한 본 발명의 조성물을 보유하고, 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 상기 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통될 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 중의 활성제는 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴이다. 용기 상의 또는 용기와 연관된 표지는 조성물이 선택된 상태를 치료하는데 사용된다는 것을 나타낸다. 제조품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 포스페이트-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이는 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 시린지, 및 사용 지침서를 갖는 포장 삽입물을 비롯하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.
- [0399] 참조에 의한 포함
- [0400] 특허 문서 및 웹사이트를 비롯하여 본원에 기재된 모든 문서 및 참고문헌은 전체적으로 또는 부분적으로 본 문서에 기록된 것과 동일한 정도로 본 문서에 참조로 개별적으로 포함된다.
- [0401] 실시예
- [0402] 본 발명은 이제 하기 실시예를 참조로 기재되며, 이들 실시예는 단지 예시적이고 본 발명을 제한하려는 의도는 없다. 본 발명이 상세하게 그의 특정 실시양태들과 관련하여 기재되었지만, 본 발명의 취지 및 범주를 벗어나지 않으면서 다양한 변화 및 변형이 본 발명에 이루어질 수 있다는 것이 통상의 기술자에게 명백할 것이다.
- [0403] 실시예 1 - 단백질 생산
- [0404] 고처리량 단백질 생산 (HTPP)
- [0405] HIS₆태그의 상류의 PET9d 벡터 내로 클로닝되고 이. 콜라이 BL21 DE3 plysS 세포 내로 형질전환된 선택된 결합제를 24-웰 포맷으로 50 μ g/mL 카나마이신을 함유하는 5 mL LB 배지 내에 접종하고, 37°C에서 밤새 성장시켰다. 밤샘 배양물로부터 200 μ l을 흡인하여 유도가능 발현을 위한 새로운 5 mL LB 배지 (50 μ g/mL 카나마이신) 배양물을 제조한 후, 그것을 적절한 웰에 분배하였다. 배양물을 A₆₀₀ 0.6-0.9까지 37°C에서 성장시켰다. 1 mM 이소프로필- β -티오갈락토시드 (IPTG)로 유도시킨 후, 배양물을 30°C에서 6시간 동안 발현시키고, 4°C에서 2750 g으로 10분 동안 원심분리하여 수거하였다.
- [0406] 세포 펠릿 (24-웰 포맷)을 450 μ l의 용해 완충제 (50 mM NaH₂PO₄, 0.5 M NaCl, 1x 컴플리트(Complete)TM 프로

테아제 억제제 카테일-EDTA 무함유 (로슈(Roche)), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM 이미다졸, 1 mg/ml 리소자임, 30 μ g/ml DNase, 2 μ g/ml 아프로토닌, pH 8.0)에 재현탁시켜 용해시키고, 실온에서 1-3시간 동안 진탕시켰다. 용해물을 정제하고, 96-웰, 1.2 ml 포획 플레이트가 구비된 96-웰 와트만(Whatman) GF/D 유니필터(Unifilter) 내로 전달하여 96-웰 포맷으로 재구성하고, 양압에 의해 여과하였다. 이와 같이 정제시킨 용해물을, 평형 완충제 (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 40 mM 이미다졸, pH 8.0)로 평형화한 96-웰 니켈 또는 코발트-킬레이팅 플레이트에 옮기고, 5분 동안 인큐베이션하였다. 비결합된 물질을 양압에 의해 제거하였다. 세척 완충제 #1 (50 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM 이미다졸, pH 8.0)을 이용하여 0.3 ml/웰로 수지를 2회 세척하였다. 각 세척물을 양압에 의해 제거하였다. 용리에 앞서, 각 웰을 50 μ l 용리 완충제 (PBS + 20 mM EDTA)로 세척하고, 5분 동안 인큐베이션하고, 세척물을 양압에 의해 폐기하였다. 각 웰에 추가 100 μ l의 용리 완충제를 적용하여 단백질을 용리하였다. 실온에서 30분 인큐베이션 후에, 플레이트(들)를 5분 동안 200 g로 원심분리하고, 용리된 단백질을, 용리 전에 용리 포획 플레이트의 바닥에 첨가된 5 μ l의 0.5 M MgCl_2 를 함유하는 96-웰 포획 플레이트에 수거하였다. 단백질 표준물로서 야생형 10 F_n3 도메인을 이용하는 전체 단백질 검정을 사용하여 용리된 단백질을 정량하였다.

[0407] 불용성 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질 결합제의 발현 및 정제

[0408] 발현을 위해, 선택된 클론(들), 이어서 HIS₆태그를 pET9d 벡터 내로 클로닝하고, 이. 콜라이 BL21 DE3 plysS 세포에서 발현시켰다. 20 ml의 접종 배양물 (단일 플레이팅된 콜로니로부터 생성됨)을 사용하여 50 μ g/ml 카나마이신 및 34 μ g/ml 클로람페니콜을 함유하는 1 리터의 LB 배지 또는 TB-밤샘 발현 배지 (자가 유도)에 접종하였다. LB 배지 내의 배양물을 37°C에서 A₆₀₀ 0.6-1.0까지 인큐베이션하고, 이때 이를 1 mM 이소프로필- β -티오갈락토시드 (IPTG)로 유도하고, 4시간 동안 30°C에서 성장시켰다. TB-밤샘 발현 배지에서 성장시킨 배양물을 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하고, 이때 온도를 18°C로 낮추고, 19시간 동안 성장시켰다. 배양물을 30분 동안 $\geq 10,000$ g으로 4°C에서 원심분리하여 수거하였다. -80°C에서 세포 펠릿을 냉동시켰다. 해동시킨 후, 세포 펠릿을 얼음 상에서 울트라-투락스(Ultra-turrax) 균질화기 (IKA 워크스(IKA works))를 사용하여 25 ml의 용해 완충제 (20 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 1x 컴플리트™ 프로테아제 억제제 카테일-EDTA 무함유 (로슈), pH 7.4)에 재현탁시켰다. 모델 M-110S 마이크로플루이다이저(Microfluidizer) (마이크로플루이딕스(Microfluidics))를 사용하여 고압 균질화 ($\geq 18,000$ psi)에 의해 세포 용해를 완성하였다. 불용성 분획을 30분 동안 $\geq 23,300$ g으로 4°C에서 원심분리하여 분리하였다. 용해물의 원심분리로부터 회수한 불용성 펠릿을 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl (pH 7.4)로 세척하였다. 펠릿을 초음파처리하면서 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl (pH 7.4) 중 6 M 구아니딘 히드로클로라이드에 재용해시키고, 37°C에서 1-2시간 동안 인큐베이션하였다. 재용해된 펠릿을 0.45 μ m 필터로 여과하고, 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl/6 M 구아니딘 (pH 7.4) 완충제로 평형화한 히스트랩(Histrap) 칼럼 상에 로딩하였다. 로딩 후에, 칼럼을 추가의 25 칼럼 부피에 대해 동일한 완충제로 세척하였다. 결합된 단백질을 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl/6 M 구아니딘-HCl (pH 7.4) 중 50 mM 이미다졸로 용리시켰다. 정제된 단백질을 50 mM 아세트산나트륨/150 mM NaCl (pH 4.5) 또는 PBS (pH 7.2)에 대한 투석에 의해 재폴딩하였다.

[0409] 가용성 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질 결합제의 발현 및 정제

[0410] 불용성 결합제의 정제에 대한 대안으로서, 가용성 결합제의 정제를 또한 사용할 수 있다. 발현을 위해, 선택된 클론(들), 이어서 HIS₆태그를 pET9d 벡터 내로 클로닝하고, 이. 콜라이 BL21 DE3 plysS 세포에서 발현시켰다. 20 ml의 접종 배양물 (단일 플레이팅된 콜로니로부터 생성됨)을 사용하여 50 μ g/ml 카나마이신 및 34 μ g/ml 클로람페니콜을 함유하는 1 리터의 LB 배지 또는 TB-밤샘 발현 배지 (자가 유도)에 접종하였다. LB 배지 내의 배양물을 37°C에서 A₆₀₀ 0.6-1.0까지 인큐베이션하고, 이어서 이를 1 mM 이소프로필- β -티오갈락토시드 (IPTG)로 유도하고, 4시간 동안 30°C에서 성장시켰다. TB-밤샘 발현 배지에서 성장시킨 배양물을 37°C에서 5시간 인큐베이션하고, 이후 온도를 18°C로 낮추고, 19시간 동안 성장시켰다. 배양물을 30분 동안 $\geq 10,000$ g으로 4°C에서 원심분리하여 수거하였다. -80°C에서 세포 펠릿을 냉동시켰다. 해동시킨 세포 펠릿을 얼음 상에서 울트라-투락스 균질화기 (IKA 워크스)를 사용하여 25 ml의 용해 완충제 (20 mM NaH_2PO_4 , 0.5 M NaCl, 1x 컴플리트™ 프로테아제 억제제 카테일-EDTA 무함유 (로슈), pH 7.4)에 재현탁시켰다. 모델 M-110S 마이크로플루이다이저 (마이크로플루이딕스)를 사용하여 고압 균질화 ($\geq 18,000$ psi)에 의해 세포 용해를 완성하였다. 30분 동안 $\geq 23,300$ g으로 4°C에서 원심분리하여 가용성 분획을 분리하였다. 상청액을 0.45 μ m 필터를 사용하여 정화하였다. 정화

된 용해물을 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl (pH 7.4)로 예비-평형화한 히스트랩 칼럼 (GE) 상에 로딩하였다. 이어서 칼럼을 25 칼럼 부피의 동일한 완충제, 이어서 20 칼럼 부피의 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl/25 mM 이미다졸 (pH 7.4), 그 다음 35 칼럼 부피의 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl/40 mM 이미다졸 (pH 7.4)로 세척하였다. 단백질을 15 칼럼 부피의 20 mM 인산나트륨/500 mM NaCl/500 mM 이미다졸 (pH 7.4)로 용리시키고, A₂₈₀에서의 흡광도를 기준으로 하여 분획을 모으고, 1x PBS 또는 50 mM 트리스, 150 mM NaCl (pH 8.5) 또는 50 mM NaOAc, 150 mM NaCl (pH 4.5)에 대하여 투석하였다. 침전물을 0.22 μm로 여과하여 제거하였다.

[0411] 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 이용한 애드넥틴의 부위-특이적 PEG화

[0412] 조작된 시스테인 잔기를 함유하는 애드넥틴을, 시스테인 상의 티올기와 PEG 또는 n-에틸말레이미드 (NEM)의 말레이미드 관능기 사이의 마이클(Michael)-부가 화학을 통해 PEG 또는 시스테인-차단 시약과 접합시켰다. 2-분지형 40kDa PEG (NOF 코포레이션, P/N GL2-400MA)에 의한 PEG화를 위해, PEG를 약산성 내지 중성 조건 하에서 단백질 용액에 몰 과량으로 첨가하였다. 반응이 밤새 2시간 동안 실온에서 진행되도록 하였다. 이어서, 미반응 PEG-말레이미드 및 비-PEG화 애드넥틴으로부터 PEG화 애드넥틴을 분리하기 위해 반응물을 이온 교환 칼럼에 적용하였다. 4-분지형 40kDa PEG (NOF, P/N GL4-400MA) 또는 20kDa 비스-PEG (NOF 코포레이션, P/N DE-200MA)에 의한 PEG화를 위해, 애드넥틴을 시트레이트 완충제 (pH 6.5) 중 SP FF로부터 정제하였다. DTT에 의한 환원 후, 샘플을 G25 칼럼 상에서 동일한 완충제 내로 탈염하여 DTT를 제거하고, 실온에서 2시간 동안 20kDa 비스-PEG 또는 4-분지형 40K PEG와 2:1 (PEG:애드넥틴) 비로 반응시키고, 과량의 BME의 첨가에 의해 반응을 중지시켰다. 샘플을 리소스(Resource) 15S 칼럼 (GE #17-0944-10)에 의해 정제하여 비-PEG화 종 (및 20kDa 비스-PEG 반응의 경우에 모노-PEG화 종)을 선택적으로 제거하였다. 최종 정제용 SEC 칼럼 (GE #17-1071-01, 슈퍼덱스(Superdex) 200, 26/60)을 사용하여 (필요한 경우) 고분자량 종 및 미반응 애드넥틴을 제거하였다. CYS-차단된 애드넥틴을 제조하기 위해, 10배 몰 과량의 NEM (피어스 케미칼(Pierce Chemical))을 상기 언급된 시트레이트 (pH 6.5) 완충제 중의 G25 탈염 단계 직후에 첨가하였다. 이를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 과량의 BME의 첨가에 의해 반응을 중지시켰다. 이어서, 샘플을 PBS에 대하여 투석하였다. 정제된 접합 애드넥틴을 SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분석하였다.

[0413] 태그부착되지 않은 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질 결합체의 정제 및 PEG화

[0414] 선택된 결합체를 HIS₆태그가 없는 pET9d 벡터로 클로닝하고, 이. 콜라이 BL21 DE3 plysS 세포에서 발현시켰다. 단일 플레이팅된 콜로니로부터 사전 분리된 접종 배양물 25 ml를 pH 6.85 배지 + 50 ug/ml 카나마이신 (pH 조절을 위한 염화암모늄, 시트르산, 시트르산암모늄제2철, 황산마그네슘, 일염기성 인산나트륨 1수화물, 무수 텍스트로스, 글리세롤, 파이톤 펩톤, 과립화된 효모 추출물, 카나마이신 술페이트, 황산암모늄)을 사용하여 OD 600 nm이 1-2에 도달할 때까지 125 ml 플라스크에서 성장시켰다. 10 L 발효조 (7.5 L 시작 부피의 배지 배지)를 최종 OD 600 nm 0.003에서 접종하였다. 배양물을 650 rpm 및 >30%의 용존 O₂ 수준에서 일정하게 혼합하며 pH를 유지하면서 25℃에서 밤새 성장시켰다. 다음날, 온도를 37℃로 이동시키고, OD 600 nm이 20-25에 도달할 때까지 배양물을 성장시켰다. 목표 OD가 달성되면, 온도를 30℃로 이동시키고, 배양물을 IPTG (최종 농도: 1 mM)로 유도시켰다. 공급 배지 (pH 조절을 위한 글리세롤, 파이톤 펩톤, 과립화된 효모 추출물, 카나마이신 술페이트 및 인산)를 40 ml 배지/L 형성 부피/hr의 비로 첨가하였다. 세포를 4℃에서 30분 동안 10,000 g로 원심분리하여 수거하였다. 세포 펠릿을 -80℃에서 냉동시켰다.

[0415] 세포 페이스트를 10 ml 완충제/g 세포 페이스트의 비로 1x PBS에서 해동시켰다. 해동되면, 샘플을 균질화될 때까지 울트라투락스 균질화기 (IKA 워크스)에 의해 분쇄하였다. 이어서, 용액을 18,000 psi에서 마이크로플루이다 이저를 통해 2회 통과시켰다. 가용성 분획을 4℃에서 10,000 g 이상으로 30분 동안 원심분리하여 분리하였다. 상청액을 아세트산나트륨 (pH 4.5)에 의해 1:1로 희석하고, 0.2 μm 필터로 정화하였다. 정화된 용해물을 50 mM 아세트산나트륨 (pH 4.5)으로 예비-평형화한 SP FF 칼럼 (SP1; GE) 상에 로딩하였다. 이어서, 칼럼을 2 칼럼 부피의 동일한 완충제, 이어서 8 칼럼 부피의 50 mM 아세트산나트륨/350 mM NaCl (pH 4.5)로 세척하였다. 단백질을 50 mM 아세트산나트륨/700 mM NaCl (pH 4.5)로 용리시켰다. A₂₈₀에서의 흡광도를 기준으로 하여 용리물을 모았다.

[0416] SP1 용리물을 20 mM 인산나트륨 (pH 6.7)으로 1:5로 희석하고, 20 mM 인산나트륨/100 mM NaCl (pH 6.7)로 예비-평형화한 SP FF 칼럼 (SP2) 상에 로딩하였다. 이어서, 칼럼을 2 칼럼 부피의 동일한 완충제로 세척하였다. 단백질을 20 mM 인산나트륨/0.5 M NaCl (pH 6.7)을 이용하여 칼럼으로부터 용리시켰다. A₂₈₀에서의 흡광도를 기준으로 하여 용리물을 모았다.

- [0417] SP2 용리물을 20 mM 인산나트륨 (pH 6.7)을 이용하여 100 mM NaCl로 희석시키고, 20 mM 인산나트륨/100 mM NaCl (pH 6.7)로 예비-평형화한 Q FF 칼럼 (GE) 상에 로딩하였다. FT 피크 (생성물 함유)를 수집하였다. FT 피크가 기준선으로 복귀할 때까지 칼럼을 평형 완충제로 세척하였다.
- [0418] 조작된 시스테인 잔기를 함유하는 애드넥틴을, 시스테인 상의 티올기와 PEG 시약의 말레이미드 관능기 사이의 마이클-부가 화학을 통해 PEG와 접합시켰다. Q FT 분획을 40kDa 분지형 PEG를 이용하여 2:1의 PEG 대 단백질의 비로 PEG화하였다. 샘플은 실온에서 밤새 인큐베이션하였다. PEG화 반응물을 2 부분으로 50 mM 아세트산나트륨 (pH 4.5)으로 희석시키고, 50 mM 아세트산나트륨 (pH 4.5)으로 예비-평형화한 SP FF 칼럼 (GE) 상에 로딩하였다. 칼럼을 2 칼럼 부피의 동일한 완충제로 세척하였다. PEG화 단백질을 50 mM 아세트산나트륨/200 mM NaCl (pH 4.5)을 이용하여 칼럼으로부터 용리시켰다. A₂₈₀에서의 흡광도를 기준으로 하여 용리물을 모았다. PEG화 단백질을 30kDa 밀리포어 바이오맥스(Millipore Biomax) 막을 사용하여 농축시켰다. 샘플을 0.22 μm 필터로 여과하고, 예를 들어 4℃, -20℃ 또는 -80℃에서 저장하였다.
- [0419] Fc-포맷화 피브로넥틴-기반 스캐폴드 단백질 결합체의 일시적 발현 및 정제
- [0420] DNA 생성을 위해, 선택된 후보를, 이. 콜라이 Top10 세포가 형질전환된 pDV-16 플라스미드 내로 클로닝하였다. pDV-16은 변형 버전의 pTT5 (입스 두로처(Yves Durocher), NRC 캐나다)이며, 여기에는 인간 IgG1-Fc 코딩 서열이 도입되었고, 그 앞에 신호 서열이 있고, Fc의 각 말단에 애드넥틴 코딩 서열이 삽입되도록 제한 부위가 포함되었다. 형질전환된 세포를, 100 μg/ml 암피실린을 함유하는 1 L의 루리아(Luria) 브로쓰에 접종하고 37℃에서 18시간 동안 225 rpm으로 회전식 인큐베이터에서 인큐베이션하여 확장시켰다. 박테리아 펠릿을 4℃에서 30분 동안 10000 g 초파로 원심분리하여 수거하였다. 정제된 플라스미드 DNA를 퀴아젠 플라스미드 플러스 메가 키트(QIAGEN Plasmid Plus Mega Kit) (퀴아젠)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 기재된 바와 같이 분리하였다. 정제된 DNA를 260 nm에서의 흡광도를 사용하여 정량하고, 사용 전에 -80℃에서 냉동시켰다.
- [0421] HEK 293-EBNA1 (클론 6E) (입스 두로처, NRC 캐나다) 세포를 37℃, 5% CO₂에서 10 L 지이 헬스케어 웨이브(Healthcare Wave) 백 내의 2 L의 F17 배지에서 2x10⁶ 개 세포/ml로 확장시키고, 18 rpm으로 8도 각으로 진탕시켜 혼합하였다.
- [0422] DNA는 형질감염을 위해 다음과 같이 제조하였다: F17 배지를 37℃로 가온하였다. DNA 및 PEI 형질감염 시약을 멸균 생물안전성 후드에서 해동시켰다. DNA (2.25 mg)를 멸균 폴리프로필렌 배양 플라스크에서 100 ml의 가온된 F17 배지에 첨가하고, 스윙링에 의해 서서히 혼합하였다. 별개의 플라스크에서, 6.75 mg의 PEI (1 mg/ml)를 100 ml의 예비-가온된 F17 배지와 합하고, 스윙링에 의해 서서히 혼합하였다. 플라스크를 5분 동안 방치시킨 후에, DNA를 함유하는 플라스크에 PEI 용액을 첨가하고 스윙링에 의해 서서히 혼합하면서 내용물을 합하였다.
- [0423] DNA:PEI 혼합물을 함유하는 플라스크의 내용물을, 생물안전성 후드에서 15분 동안 실온에서 인큐베이션한 후의 HEK 293-6E 세포를 함유하는 웨이브 백에 첨가하였다. 형질감염된 HEK 293-6E 세포를 함유하는 백을 37℃, 5% CO₂에서 24시간 동안 인큐베이션하고, 18 RPM으로 8도 각으로 진탕시켜 혼합하였다. 24시간 후에, F17 배지에 용해된 100 ml의 멸균 여과 20% 트립톤 N1 (오르가노테크니(Organotechnie), 캐나다)을 배양물에 무균으로 첨가하였다. 세포 및 배지를 상기한 바와 같은 인큐베이션 추가 72시간 후에 수거하였다. 대안적으로, 진탕 플라스크 (2 L 플라스크 내 0.5 L 배지)에서의 일시적인 HEK 발현을 DNA:PEI 1:2의 비로 수행할 수 있었다. 세포를 4℃에서 30분 동안 6000 g로 원심분리하여 조건화 배지로부터 분리하였다. 조건화 배지를 유지하고, 0.2 μm 필터를 통해 여과하고, 4℃에서 저장하였다.
- [0424] 조건화 배지를, 5 ml/분의 비로 PBS에서 예비-평형화한 지이 맵셀렉트 슈어(GE MabSelect Sure) 수지를 함유하는 10 ml 크로마토그래피 칼럼에 적용하였다. 여과된 조건화 배지를 로딩한 후에, 칼럼을 실온에서 적어도 100 ml의 PBS로 세척하였다. 정제된 생성물을 100 mM 글리신/100 mM NaCl (pH 3.0)의 적용으로 칼럼으로부터 용리시켰다. 분획을 1/6 부피의 1M 트리스 (pH 8)를 함유하는 튜브 내로 수집하거나 또는 A280 흡광도에 따라 모은 후에 1M 트리스 (pH 8)를 100 mM까지 첨가하여 pH를 중성화하였다. 고분자량 종의 함량이 단백질 A 용리 후에 5%를 초과하는 경우, 샘플을 PBS에서 슈퍼텍스 200 (26/60) 칼럼 (지이 헬스케어)에 의해 추가로 정제하였다. 단백질체를 함유하는 SEC 분획을 모으고 농축시켰다. 생성된 단백질 A 또는 SEC 풀을 4℃에서 PBS에 대하여 철저하게 투석하고, -80℃에서 냉동시키기 전에 0.22 μm 컷오프 필터를 사용하여 멸균 여과하였다.
- [0425] 벌크 제조: 포유동물 발현 및 일차 회수: UCOE CHO 시스템

- [0426] CHO-S 세포에서 편재성 염색질 개방 요소 (UCOE) [밀리포어로부터의 변형된 UCOE 벡터]를 함유하는 pUCOE 벡터 내로 클로닝된 항-미오스타틴 애드넥틴-Fc 융합체를 형질감염시켜 포유동물 리서치 셀 뱅크(Research Cell Bank, RCB)를 생성하였다. 12.5 µg/mL 퓨로마이신을 함유하는 선택 배지 (CD CHO 배지 (인비트로젠) 내 0.04% (v/v) L-글루타민 (인비트로젠) 및 0.01% (v/v) HT 보충제 (인비트로젠))에서 세포를 확장시켜 RCB를 확립하였다. 낮은 계대배양 수 세포를 원심분리를 통해 무균으로 분리하고, banking 배지 (CD CHO 배지 (인비트로젠) 내 0.04% (v/v) L-글루타민 (인비트로젠), 0.01% (v/v) HT 보충제 (인비트로젠) 및 7.5% (v/v) DMSO)에 1×10^7 개 세포/mL의 최종 농도로 재현탁시켰다. 이러한 세포를 처음에 70% 이소프로필 알콜 조에서 -80°C에서 밤새 냉동시키고, 이어서 다음 날 장기간 저장을 위해 액체 질소로 옮겼다.
- [0427] 단일 RCB 바이알을 12.5 µg/mL 퓨로마이신을 함유하는 25 mL의 선택 배지 내로 해동시키고 배양물을 동일한 배지에서 확장시켜 세포 배양을 개시하였다. 세포를 분리 전의 $1-2 \times 10^6$ 개 세포/mL 내지 0.2×10^6 개 세포/mL의 농도에 도달하도록 하였다. 세포를 생물반응기 시딩 전 2-4주 사이에 일반적으로 유지시켰다. 확장 배양물을 마지막까지 계대배양하고, 8 L의 생산 배지 (0.01% (v/v) HT 보충제 (인비트로젠), 0.04% (v/v) 글루타맥스 (깁코(Gibco)) 및 0.005% (v/v) 플루로닉 F-68 (깁코)을 함유하는 인비트로젠 CD CHO 배지)를 함유하는 15 L 생물반응기가 0.2×10^6 개 세포/mL의 최종 밀도로 시딩될 수 있는 지점까지 성장하도록 하였다. 생물반응기 배양물을 VCD (생존 세포 밀도), 퍼센트 생존율, pH 및 글루코스 농도에 대해 매일 모니터링하였다. 생물반응기 배양물에 공급 배지를 10% 총 부피 볼류스 첨가로 제3일 및 제6일에 공급하였다. 배양물을 제7일과 제9일 사이에 퍼센트 생존율 >70%로 수거하였다. 배양 동안, 생물반응기 배양물을 pH 7.1, 온도 37°C, %DO2 40% 및 100의 일정한 RPM으로 제어하였다.
- [0428] 수거 날, 생물반응기 배양물을 6.0/3.0 µm 깊이 필터로 직접 통과시킨 후, 멸균 백 내로의 멸균 0.8/0.2 µm 여과를 수행하였다. 정화된 멸균 배양물을 2-8°C에서 밤새 저장하였다. 이어서, 정화된 배양물을 30,000 kDa 막을 사용하는 편평시트 TFF를 통해 농축시켰다. 수거 역가에 따라 대략의 농도는 6x였다. 이어서, 농축된 상청액을 PETG 병 내로 멸균 여과하고, 직접 처리하거나 -80°C에서 저장하였다.
- [0429] 항-미오스타틴-애드넥틴-Fc 융합체 정제
- [0430] 수거된 배양물 상청액 (순수한 것 또는 농축된 것)을 PBS로 사전 평형화한 맵셀렉트 프로테인 A 칼럼 상에 로딩하였다. 칼럼을 5CV의 50mM 트리스 (pH8.0), 1M 우레아, 10% PG로 세척하였다. 애드넥틴-Fc 융합체를 100 mM 글리신 (pH 3.3)을 이용하여, 피크를 수집하면서, 1CV의 200 mM 아세트산나트륨 (pH 4.5)으로 사전 충전시킨 용기 내로 용리시켰다. 피크 용리는 A280에서의 흡광도를 기준으로 하였다.
- [0431] 프로테인 A 용리물을 2 M 시트르산의 첨가에 의해 pH 3.0으로 희석하고, 바이러스 불활성화를 위해 실온에서 1 시간 동안 놓아두었다. 이어서, 샘플을 pH 4.5에 도달할 때까지 200 mM 삼염기성 인산나트륨으로 희석하였다. 필요한 경우, 용액을 10ms/cm 미만의 보다 낮은 전도도에 이를 때까지 물로 추가로 희석하였다.
- [0432] 희석된 프로테인 A 용리물을 음성 포획 모드에서 50mM 아세트산나트륨 (pH 4.5)으로 사전 조건화한 도소(Tosoh) Q 600C AR (도소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience)) 상에 통과시켰다. A280에서의 흡광도를 기준으로 하여 유통 피크를 수집하였다. 칼럼을 50mM 아세트산나트륨으로 세척하고, 0.2N NaOH로 스트리핑하였다.
- [0433] Q 600C AR 유통물을 30K NMWCO 중공 섬유 막 (GE)을 이용하는 접선 흐름 여과를 사용하여 보유물을 매우 서서히 혼합하면서 제제화하였다. 애드넥틴-Fc 융합체를 6 다이아볼륨(diavolume)을 위해 25mM 인산나트륨, 150mM 트레할로스 (pH 7.0) 내로 정용여과한 다음, 목표 단백질 농도로 농축시켰다.
- [0434] 실시예 2 - 항-미오스타틴 단백질의 생물물리학적 평가
- [0435] 크기 배제 크로마토그래피: 중간규모 과정으로부터 생성된 후보 애드넥틴에 대하여 표준 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 수행하였다. A214 nm 및 A280 nm에서의 UV 검출 및 형광 검출 (여기 280 nm, 방출 350 nm)을 동반하는 애질런트 1100 또는 1200 HPLC 시스템 상의 슈퍼팩스 200 10/30 또는 슈퍼팩스 75 10/30 칼럼 (지이 헬스케어)을 사용하여 중간규모 물질의 SEC를 수행하였다. 이용된 SEC 칼럼에 적절한 유량으로 100 mM 황산나트륨/100 mM 인산나트륨/150 mM 염화나트륨 (pH 6.8)의 완충제를 사용하였다. 분자량 보정에는 겔 여과 표준물 (바이오라드 레보러토리즈(BioRad Laboratories), 캘리포니아주 허큘레스)을 사용하였다. 중간규모의 정제된 애드넥틴에 대한 SEC의 결과는 표 9 및 10에 제시된 바와 같이 구상 겔 여과 표준물 (바이오라드) 대비 대략 10 kDa 범위의 우세한 단량체성 애드넥틴 및 용리를 보여주었다.

- [0436] 열안정성: HTPP 애드넥틴의 열 스캐닝 형광 (TSF) 분석을 수행하여 애드넥틴을 상대 열 안정성에 의해 스크리닝 하였다. 샘플을 PBS 중 0.2 mg/ml로 정규화하였다. PBS로 1:40으로 희석시킨 1 μ l의 스피로(Sypro) 오렌지 염료를 25 μ l의 각 샘플에 첨가하고, 플레이트를 투명한 96 웰 마이크로플레이트 접착 밀봉제로 밀봉하였다. 샘플을 바이오라드 RT-PCR 기계를 사용하여 25℃에서 95℃로 분당 2도의 비로 온도 상승시켜 스캐닝하였다. 데이터를 바이오라드 CFX 매니저 2.0 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. TSF에 의해 얻은 Th 값은 40℃ 내지 70℃의 용융 범위에 걸쳐 DSC에 의해 얻은 Tm 값과 매우 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 이는 상기 기술에 대해 허용가능한 작동 영역이라고 생각된다. 전이 곡선의 기울기가 너무 작아서 그의 유도 피크 (시간에 따른 형광의 변화율)가 노이즈와 구별될 수 없을 경우에 ND ("데이터 없음")의 결과가 얻어진다. "ND" 결과는 열안정성의 지표로 해석될 수 없다. 투석된 HTPP 및 중간규모 애드넥틴의 시차 주사 열량측정법 (DSC) 분석을 수행하여 애드넥틴의 각각의 T_m을 결정하였다. 0.5 mg/ml 용액을 70 p.s.i 압력 하에 15℃에서 110℃로 분당 1도의 비로 온도 상승시켜 VP-모세관 시차 주사 열량계 (지이 마이크로칼(GE Microcal))에서 스캐닝하였다. 데이터를 오리진 소프트웨어(Origin Software) (오리진랩 코퍼레이션(OriginLab Corp))를 사용하여 최적 적합성을 사용하여 적절한 완충제의 대조 실행에 대비하여 분석하였다. TSF 및 DSC 분석의 결과는 표 8 내지 10에 요약된다. 표 8 내지 10에 제시된 바와 같이, 다수의 클론은 60℃ 초과인 언폴딩 온도를 나타냈으며, 이는 의약 제제화에 적합한 고도의 생물물리학적으로 안정한 구조를 나타낸다. 애드넥틴은 일반적으로 명백한 안정성 손실 없이 PEG화 또는 Fc-포맷팅에 허용된다. 일부 경우에서, 이러한 포맷은 개선된 안정성을 제공하였다. 예를 들어, 비변형 애드넥틴으로서의 3116_A07은 TSF에 의해 60℃의 T_m을 가졌으나, PEG화할 경우 (ATI-1377)에 DSC에 의한 T_m은 68℃였고, Fc-X 포맷에서 (PRD-1286) DSC에 의한 T_m은 66℃였다.
- [0437] 실시예 3 - 세포-기반 루시페라제 검정
- [0438] 루시페라제 리porter 플라스미드인 액티빈-반응성 요소 (ARE)-luc를 반딧불이 루시페라제 리porter와 직렬로 ARE의 9회 반복물질을 라이게이션시켜 생성하였다. 플라스미드를 HepG2 세포 내로 일시적으로 형질감염시켰다. 플라스미드 pGL4.74[hRluc/Tk]를 공-형질감염시켜 형질감염 효율에 대해 정규화하였다. 96-웰 플레이트에 웰당 10,000개 세포를 플레이팅하였다. 단백질, 예컨대 미오스타틴, 액티빈 또는 BMP-11을 세포에 첨가하고, 이들이 그의 동족 수용체에 결합하는 경우, 하류 SMAD 신호전달이 촉발되어, ARE에 대한 인산화 SMAD 복합체의 결합이 일어난다. 세포에 노출된, 예를 들어 미오스타틴의 양은 생산된 루시페라제 단백질의 양 및 그에 따라 측정된 루시페라제 활성의 양에 정비례한다. 미오스타틴 길항제 (예를 들어, 항-미오스타틴 애드넥틴)를 미오스타틴과 함께 세포에 첨가하는 경우, ARE의 활성화가 감소되어, 루시페라제 생산 및 활성의 감소가 일어난다.
- [0439] 이 실험에서, (1) 항-미오스타틴 애드넥틴 및 미오스타틴, (2) 항-미오스타틴 애드넥틴 및 액티빈 A 또는 (3) 항-미오스타틴 애드넥틴 및 BMP-11을 세포에 첨가하기 전에 예비인큐베이션하였다. 미오스타틴 (알앤디 시스템즈)을 10-500 pM으로 사용하고, 액티빈 A (알앤디 시스템즈)를 10-500 pM으로 사용하고, BMP-11 (알앤디 시스템즈)을 10-500 pM으로 사용하였다. 이러한 다양한 조합으로 밤새 인큐베이션한 후, 세포를 용해시키고, 루시페라제 활성 (발광)을 듀얼-글로(Dual-Glo) 루시페라제 검정 시스템® (엔비전(EnVision))을 사용하여 측정하였다. IC50은 미오스타틴-유도된 ARE-루시페라제 활성의 50% 억제에 도달하는데 요구되는 애드넥틴의 농도로 정의된다.
- [0440] 표 8 내지 10에 제시된 바와 같이, 항-미오스타틴 애드넥틴은 ARE-luc 리porter 활성의 미오스타틴-매개된 증가를 억제하였다.
- [0441] 실시예 4 - HTRF 결합 검정
- [0442] HTRF 검정을 사용하여 미오스타틴에 대한 항-미오스타틴 애드넥틴의 결합 친화도를 측정하였다. 검정은 공여자 형광단으로서 Eu-W1024 표지를 사용하고 수용자 형광단으로서 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)® 647을 사용하는 경쟁적 HTRF 검정이었다. 비오티닐화 애드넥틴 1889E01 및 알렉사 플루오르® 647 표지된 rhActRIIb-Fc는 미오스타틴에 별개의 두 결합 부위에 동시에 결합할 수 있었다. Eu-W1024 표지된 스트렙타비딘은 비오티닐화 1889E01에 결합하는데 사용되었다. 2종의 형광단, Eu-W1024 및 알렉사 플루오르® 647은 1889E01/미오스타틴/ActRIIb-Fc 복합체의 형성에 의해 함께 모여지고, HTRF 신호는 엔비전 플레이트판독기 (퍼킨 엘머(Perkin Elmer)) 상에서 HTRF 프로토콜을 사용하여 판독할 수 있었다. 경쟁적 애드넥틴의 존재 하에, HTRF 신호는 감소하였다. IC50은 표 8 내지 10에 제시된다.
- [0443] <표 8>
- [0444] 항-미오스타틴 모노-애드넥틴에 대한 생물물리학적 특성화, ARE-루시페라제 리porter 검정 및 HTRF 결합 검정 결

과

ID	Tm - TSF	Tm-DSC	ARE-루시페라제 검정			HTRF
			Myo IC50 (nM)	BMP-11 IC50 (nM)	액티빈 A IC50 (nM)	Myo IC50 (nM)
1979_B06		48	0.11	3.3	194	ND
2062_G02		48	205	1500	>1500	ND
2522_C09	40		0.06	1.6	1000	ND
2523_G06	49	49	4.2	46	>2000	ND
2524_C11	ND	55	0.1	0.89	765	ND
2524_D09	54	49	0.06	0.55	84	ND
2524_E10	ND		0.09	5.6	>1000	ND
2524_H05	40		0.09	7.3	>1000	ND
2524_H11	49		0.03	6.2	>1000	ND
2525_B01	ND		0.11	3.2	73	ND
2525_D02	58	55	0.05	1.1	345	ND
2525_D05	ND	69	0.11	3.9	>1000	ND
2525_F07	46		0.13	3.4	>1000	ND
2987_A06		50	0.10	23	283	ND
2987_B04		48	0.12	3.3	239	ND
2987_B09		52	0.01	0.92	172	ND
2987_C02		50	0.06	7.1	464	ND
2987_D05		49	0.11	2.4	2000	ND
2987_E03		51	0.10	2.3	224	ND
2987_E08		52	0.05	2.8	352	ND
2987_F01		49	0.05	6.5	594	ND
2987_F06		52	0.08	20	538	ND
2987_G04		49	0.09	3.3	171	ND
2987_G09		54	0.05	0.91	>2000	ND
2987_H02		51	0.05	11	794	ND
2987_H07		57	0.02	5.5	>400	ND
3006_A10	62		0.08	2.0	>2000	0.15
3007_B08	57		0.06	0.23	423	0.14
3007_C09	63		0.04	0.89	417	0.14
3007_C10	66		0.03	1.0	>2000	0.14
3008_A03	59		0.11	22.6	>2000	0.22
3008_B08	57		0.35	9.3	254	0.37
3008_D04	56		0.09	1.2	720	0.14
3008_F01	63		0.08	0.12	>2000	0.21
3008_G01	57		0.03	0.31	>2000	0.11
3008_G03	58		0.09	1.3	>2000	0.13

[0445]

ID	Tm - TSF	Tm-DSC	ARE-루시페라제 검정			HTRF
			Myo IC50 (nM)	BMP-11 IC50 (nM)	액티빈 A IC50 (nM)	Myo IC50 (nM)
3115_D04	64		0.16	3.6	>1000	0.20
3115_E06	62		0.07	2.0	>1000	0.14
3116_A06	64		0.14	13	>1000	0.15
3116_A07	60		0.04	0.5	>1000	0.11
3116_C01	60		0.10	6.7	1000	0.35
3116_C06	61		0.14	8.9	>1000	0.18
3116_H06	60		0.10	1.6	>1000	0.13
3146_A08	69		0.70	48	>1000	0.26
ATI-1267		60	0.06	0.50	644	0.12
ATI-1275		53	0.03	0.14	19	0.19
ATI-1277		전 이 없음	0.14	1.18	2000	0.38
ATI-1340		54	0.05	4.87	324	0.16

[0446]

[0447]

<표 9>

[0448]

PEG화 항-미오스타틴 애드벡틴에 대한 생물물리학적 특성화, ARE-루시페라제 리포터 검정 및 HTRF 결합 검정 결과

ID	Tm - TSF	Tm- DSC	% 단량체 (SEC)	ARE-루시페라제 검정			HTRF
				Myo IC50 (nM)	BMP-11 IC50 (nm)	액티빈 A IC50 (nM)	Myo IC50 (nM)
ATI-1106				177	1414	>2000	
ATI-1107		63	98	19	888	>2000	ND
ATI-1266		60	97.8	0.12	0.89	2000	0.21
ATI-1276		56	94.6	0.08	0.15	110	0.28
ATI-1278		46	93.7	0.27	1.1	>2000	0.54
ATI-1338		59		0.28	5.8	>1000	0.24
ATI-1339		61		0.28	6.0	>1000	0.28
ATI-1341		53		0.03	0.14	14	0.13
ATI-1359		57	96.5	0.26	3.1	>1000	0.36
ATI-1375		67	>99	0.17	1.6	>1000	0.76
ATI-1376		70	>99	0.03	0.83	>1000	0.32
ATI-1377		68	>99	0.05	0.78	>1000	0.15
ATI-1378		74	>99	0.29	5.4	>1000	1.29
ATI-1379		69	>99	0.10	4.3	>1000	0.28

[0449]

[0450]

<표 10>

[0451]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 생물물리학적 특성화, ARE-루시페라제 리포터 검정 및 HTRF 결합 검정 결과

ID	Tm - TSF	Tm- DSC	% 단량체 (SEC)	ARE-루시페라제 검정			HTRF
				Myo IC50 (nM)	BMP-11 IC50 (nm)	액티빈 A IC50 (nM)	Myo IC50 (nM)
PRD-932				0.24	ND	ND	ND
PRD-1171				0.08	0.20	19	0.14
PRD-1173				0.02	0.10	6	0.12
PRD-1174		Tm1 61 Tm2 67 Tm3 83		0.04	0.10	4	0.09
PRD-1175				0.10	0.28	19	0.15
PRD-1177				0.16	0.28	21	0.64
PRD-1178		Tm1 60 Tm2 69 Tm3 84		0.08	0.25	16	0.27
PRD-1180		Tm1 68 Tm2 83		0.07	0.11	14	0.13
PRD-1284				0.02	0.04	44	0.62
PRD-1285		Tm1 67 Tm2 68 Tm3 80	97	0.05	0.03	216	0.49
PRD-1286		Tm1 66 Tm2 68 Tm3 81	99	0.10	0.11	94	0.73
PRD-1287				0.30	0.80	>1000	2.70
PRD-1288		Tm1 65 Tm2 69 Tm3 81	93	0.08	0.10	>1000	0.47
PRD-1301				0.06	0.06	15	0.07
PRD-1302				0.03	0.02	14	0.12
PRD-1303				0.02	0.03	314	0.11
PRD-1304				0.05	0.07	45	0.24
PRD-1305				0.06	0.07	113	0.10
PRD-1471		Tm1 62 Tm2 68 Tm3 81	99	0.16	0.16	60	0.47
PRD-1472		Tm1 62 Tm2 69 Tm3 80	100	0.07	0.05	1000	0.41
PRD-1473		Tm1 63 Tm2 69 Tm3 81	100	0.07	0.06	125	0.73

[0452]

ID	Tm - TSF	Tm- DSC	% 단량체 (SEC)	ARE-루시페라제 검정			HTRF Myo IC50 (nM)
				Myo IC50 (nM)	BMP-11 IC50 (nm)	액티빈 A IC50 (nM)	
PRD-1474		Tm1 63 Tm2 69 Tm3 81	100	0.08	0.09	>1000	0.45

[0453]

[0454]

[0455]

실시예 5 - 미오스타틴-유도된 SMAD2 인산화의 항-미오스타틴 애드넥틴-매개된 억제

인간 횡문근육종 RH41 세포 (DSMZ, 독일 브라운슈바이크)를 하기 기재된 12-, 2- 및 4-점 억제 반응 분석에 사용하였다. 세포를 배양 배지로부터 제거하고, 세척하여 혈청을 제거하고, 4시간 동안 BSA를 함유하는 검정 배지에서 휴지시켰다. 세포를 베르센을 사용하여 플라스크로부터 들어올려 96-웰, V-바닥 폴리프로필렌 플레이트에 5×10^5 개 세포/웰로 옮겼다. 12-점 억제 반응을 위해, 1000 nM에서 시작하는 5배 희석 농도 범위 (즉, 1000 nM, 200 nM, 40 nM, 8 nM, 1.6 nM, 0.32 nM, 0.064 nM, 0.0128 nM, 0.00256 nM, 0.000512 nM, 0.000102 nM, 0.0000204 nM)의 애드넥틴과 함께 1시간 동안 예비인큐베이션한 100 pM 재조합 미오스타틴 (알앤디 시스템즈)을 세포에 첨가하였다. 4-점 억제 반응을 위해, 일정 농도 범위 (30 nM, 3 nM, 0.1 nM 또는 0.001 nM)의 애드넥틴과 함께 1시간 동안 예비인큐베이션한 100 pM의 미오스타틴을 세포에 첨가하였다. 2-점 억제 반응을 위해, 일정 농도 범위 (10nM 또는 0.5nM)의 애드넥틴과 함께 1시간 동안 예비인큐베이션한 100 pM의 미오스타틴을 세포에 첨가하였다. 세포를 37℃에서 1시간 동안 미오스타틴-애드넥틴 혼합물로 처리하여 SMAD2 인산화 (pSmad 2)를 유도하였다. 세포를 얼음 상에 놓고 빙냉 PBS를 첨가하여 자극을 중지시켰다. 세포를 펠릿화하고, 표준 프로토콜에 따라 용해시키고, SMAD2 인산화를 ELISA 검정 (셀 시그널링 테크놀로지스(Cell Signaling Technologies))을 사용하여 검출하였다. 상기 농도 범위의 애드넥틴에 의해 달성된 억제를 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 소프트웨어를 사용하여 플롯팅하고, 100% 및 0% 억제를 제공하는 대조군에 대해 데이터 점을 정규화하였다. IC50은 미오스타틴-유도된 SMAD2 인산화의 50% 억제에 도달하는데 요구되는 애드넥틴의 농도로 정의된다. 표 11에 제시된 데이터는 모 클론 1979_B06 및 2062_G02 둘 다의 친화도 최적화로부터 유래된 애드넥틴이 미오스타틴-유도된 pSMAD 인산화를 강력하고도 완전하게 억제하였음을 나타내고, IC50 값이 0.78 nM 내지 0.06 nM 범위임을 입증하였다. 이는 모 클론 1979_B06 (IC50 = 12.8 nM) 및 2062_G02 (IC50 = 59.1 nM)에 비해 IC50 값에 있어서 16-75배 초과 개선의 개선을 나타낸다.

[0456]

<표 11>

[0457] 항-미오스타틴 애드넥틴에 의한 SMAD2 인산화 (pSMAD2)의 억제

pSmad2 검정			
ID	Myo IC50 (nM) 12-점	Myo IC50 (nM) 4-점	10 nM 에서 Myo % 억제
1979_B06 (일명 ATI-1133)	12.8±2.4		
2062_G02 (일명 ATI-1134)	59.1±16.2		
2522_C09	0.13		
2523_G06	0.78		
2524_C11	0.14		
2524_D09	0.11		
2524_E10	0.13		
2524_H05	0.13		
2524_H11	0.11		
2525_B01	0.14		
2525_D02	0.36		
2525_D05	0.20		
2525_F07	0.27		
3006_A10			51
3007_B08			97
3007_C09			80
3007_C10			76
3008_A03			87
3008_B08			90
3008_D04			92
3008_F01			86
3008_G01			98
3008_G03			91
3115_D04		0.06	
3115_E06		0.06	
3116_A06		0.27	
3116_A07		0.06	
3116_C01		0.26	
3116_C06		0.73	
3116_H06		0.06	
3146_A08		0.78	

[0458]

[0459] 실시예 6 - 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 SPR 친화도 측정

[0460] SPR 포맷 A를 사용하는 애드넥틴 결합 동역학

[0461] 항-인간 Fc 항체 (비아코어/GE)를 비아코어 CM5 칩 상에 NHS/EDC 커플링을 통해 제조업체의 명령에 따라 고정시켰다. ActRIIb-Fc (알앤디 시스템즈)는 참조물 및 활성 유동 세포 둘 다에서 포획되었고, 이어서 인간 미오스타틴 (알앤디 시스템즈), 인간 BMP-11 (GDF-11; 알앤디 시스템즈) 또는 인간 액티빈 A (알앤디 시스템즈) (각각 제조업체 제시 프로토콜에 따라 용해되었고 HBSP 실행 완충제에 희석됨)는 단지 활성 유동 세포 상에서만 포획되었다. 항-미오스타틴 애드넥틴의 농도 범위는 HBSP 실행 완충제에서 모든 유동 세포에 걸쳐 적용되었다. 사이클 사이 칩 표면의 재생을 3M MgCl₂의 30초 펄스 2회로 수행하였다. 참조물-차감된 센소그램의 동역학적 자취를 비아벨루에이션(Biaevaluation) 소프트웨어를 사용하여 1:1 결합 모델에 피팅하였다. 비아코어 동역학적 데이터의 개요는 표 12에 제시된다.

[0462] 표 12에 제시된 데이터는 최적화된 자손 애드넥틴이 각각 29 및 49 nM의 K_D를 나타내는 모 애드넥틴 1979_B06 및 2062_G02와 비교하여 0.06-1.47 nM 범위의 K_D로 미오스타틴에 단단하게 결합함을 나타낸다.

[0463] PEG화시, ARE-루시페라제 검정에서의 효력에 대해 PEG화의 효과가 존재하지 않았지만, 미오스타틴 친화도에 있어서는 0.76 내지 14.4 nM 범위의 K_D로 일부 손실이 존재하였다 (표 8 및 9 참조).

[0464] BMP-11에 대한 애드넥틴 선택성은 전적으로 비-선택적인 것에서부터 17배 이하까지의 범위이며, 반면에 액티빈

에 대한 결합성은 매우 약하거나 존재하지 않아서 액티빈에 대한 높은 선택성을 제시한다.

[0465] SPR 포맷 B를 사용하는 애드넥틴 결합 동역학 (Fc-포맷화 애드넥틴에 유용함)

[0466] 인간 미오스타틴 (알앤디 시스템즈), 인간 BMP-11 (GDF-11; 알앤디 시스템즈) 또는 인간 액티빈 A (알앤디 시스템즈)를 제조업체 제시 프로토콜에 따라 용해시키고, 비아코어 CM5 칩 상에 표준 NHS/EDC 커플링을 사용하여 아세테이트 (pH 4.0 또는 4.5) 완충제 중 1-10 µg/mL로 고정시켰다. 일정 농도 범위의 항-미오스타틴 애드넥틴을 HBSP 실행 완충제에 적용하였다. 사이클 사이 칩 표면의 재생을 60초간 10-50 mM NaOH로 수행하였다. 참조물-차감된 센소그램의 동역학적 자취를 비아이벨루에이션 소프트웨어를 사용하여 1:1 결합 모델에 피팅하였다. Fc-포맷화 애드넥틴의 경우, 심지어 낮은 고정화 밀도에서도 2가 Fc 및 이량체 미오스타틴의 결합력에 의해 상호작용 동역학이 구동된다. 비아코어 동역학적 데이터의 개요는 표 12에 제시된다. 표 12에 제시된 데이터는 이러한 SPR 포맷으로 실행된 일부 애드넥틴이 미오스타틴 및 BMP-11 및 또한 액티빈에 유사한 친화도로 결합함을 나타낸다. 그러나, ARE-루시페라제 검정에서 액티빈에 대한 실질적인 선택성은 액티빈에 대한 친화도가 이러한 SPR 검정 포맷에서 인위적으로 강조될 수 있음을 제시한다.

[0467] <표 12>

[0468] 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 SPR 동역학적 데이터의 개요. 포맷 A 및 B는 실시예 6에 기재되어 있다.

ID	Myo KD (nM)	BMP-11 KD (nM)	액티빈 A KD (nM)	포맷
1979 B06 (일명 ATI-1133)	29	489	결합 없음	A, 25C
2062 G02 (일명 ATI-1134)	48.8	697	결합 없음	A, 25C
2522 C09	0.51	0.45	결합 없음/약한 결합	A, 25C
2523 G06	1.465	10.65	결합 없음	A, 25C
2524 C11	0.62	0.67	결합 없음	A, 25C
2524 D09	0.64	0.81	약한 결합	A, 25C
2524 E10	1.34	1.42	결합 없음	A, 25C
2524 H05	0.88	0.87	약한 결합	A, 25C
2524 H11	1.12	1.22	결합 없음	A, 25C
2525 B01	1.29	1.58	약한 결합	A, 25C
2525 D02	0.24	0.30	결합 없음/약한 결합	A, 25C
2525 D05	1.28	1.99	결합 없음	A, 25C
2525 F07	0.79	0.97	결합 없음/약한 결합	A, 25C
2987 H07	0.99	2.25	약한 결합	A, 25C
ATI-1267	0.057	0.065	약한 결합	A, 25C
ATI-1275	0.15	0.15	약한 결합	A, 25C
ATI-1277	0.16	0.14	약한 결합	A, 25C
ATI-1107	128	~300	결합 없음	A, 25C
ATI-1266	0.76	2.57	약한 결합	A, 25C
ATI-1276	4.18	8.8	결합 없음	A, 25C
ATI-1278	6.04	3.3	결합 없음	A, 25C
ATI-1338	1.9	3.8	4.6	B, 37C
ATI-1339	3.6	6.9	6.5	B, 37C
ATI-1359	7.9	35.45	약한 결합	A, 25C
ATI-1375	12.6	33.2	약한 결합	A, 25C
ATI-1376	8.21	13.4	약한 결합	A, 25C
ATI-1377	8.21	14.2	약한 결합	A, 25C
ATI-1378	14.4	59.6	약한 결합	A, 25C
ATI-1379	9.5	21.6	약한 결합	A, 25C
PRD-932	1.43	ND	ND	B, 25C
PRD-1474 (일명 ATI-1465)	0.59	ND	ND	B, 37C

[0469]

[0470] 실시예 7 - 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 용액 상 친화도

[0471] Fc-융합된 항-미오스타틴 애드넥틴인 PRD-1474의 미오스타틴에 대한 용액 친화도를 동역학적 배제 검정 (KinExA)을 사용하여 측정하였다. PRD-1474의 사중 적정을 2 nM (n=2), 1 nM (n=1) 및 0.7 nM (n=1)의 단량체 농도의 미오스타틴으로 수행하였다. ATI-1310 고체 매트릭스 (조작된 유리 시스테인을 통해 폴리아크릴아미드

비드에 커플링됨) 상에서의 포획, 이어서 애드넥틴과 동시에 미오스타틴에 결합할 수 있는 미오스타틴 보조-수용체인 ActRIIB-Ig의 형광-표지된 구축물을 이용한 검출에 의해 상대 비결합 미오스타틴 농도를 측정하였다. ATI-1310은 미오스타틴에의 결합에 대해 PRD-1474와 경쟁하며 비결합 미오스타틴을 포획할 수 있는 관련 애드넥틴이다. 표 13에 제시된 전체적 Kd 분석은 330-60 pM의 95% 신뢰 구간을 갖는 170 pM의 Kd를 제공하였다. 또한, PRD-1177 및 ATI-1338의 친화도를 동일한 검정 포맷을 사용하여 측정하였다. PRD-1177의 삼중 적정을 1 nM (n=2) 및 0.8 nM (n=1)의 단량체 농도의 미오스타틴으로 수행하였다. ATI-1338의 삼중 적정을 5 nM (n=1), 1.6 nM (n=1) 및 1.4 nM (n=1)의 단량체 농도의 미오스타틴으로 수행하였다. 이러한 분석은 PRD-1177이 250 pM의 전체적 Kd 값 및 340-130 pM의 95% 신뢰 구간으로 미오스타틴에 결합함을 나타낸다 (표 13). ATI-1338은 850 pM의 전체적 Kd 값 및 1400-330 pM의 95% 신뢰 구간으로 미오스타틴에 결합한다.

[0472] <표 13>

[0473] 미오스타틴에의 결합에 대한 KinExA 용액 상 친화도 측정

애드넥틴	Kd	95% 신뢰 구간:	
		Kd 고	Kd 저
PRD-1474	170 pM	330 pM	60 pM
PRD-1177	250 pM	340 pM	130 pM
ATI-1338	850 pM	1400 pM	330 pM

[0474]

[0475] 실시예 8 - 3116_A06의 돌연변이 분석

[0476] 돌연변이에 대한 루프 위치의 상대 허용성을 이해하기 위해, 두가지의 유사하지만 다른 연구를 수행하였다. 제 1 연구는 전형적인 알라닌 스캐닝이며, 여기서 애드넥틴 3116_A06 (서열 118)의 루프에서의 개별 알라닌 돌연변이의 결합 및 효능을 생화학적 및 세포-기반 검정에서 평가하였다. 제 2 연구는 심층 돌연변이 스캐닝으로 구성되었으며, 여기서 본 발명자들은 3116_A06 (서열 118)의 동일한 위치에서의 단일-부위 돌연변이의 라이브러리를 생성하되 각 위치를 20개의 가능한 아미노산으로 치환하였다. 이어서, 이러한 라이브러리 성분을 단백질-mRNA 융합체로 발현시키고 단일 라운드의 mRNA 디스플레이 (섹션 IV에 기재된 바와 같음)에 적용하여, 비오틴화 미오스타틴과 연관된 라이브러리 성분을 비결합된 채로 남아있는 것으로부터 스트렙타비딘 자기 비드를 사용하여 분리하였다. 이러한 접근법에서, 투입 및 결합 집단의 차세대 서열분석은 각 서열의 상대 풍부화/고갈의 결정을 가능케 하여, 미오스타틴에 대한 그의 고유한 친화도를 반영하였다.

[0477] 알라닌 스캐닝: PCR 부위-지정 돌연변이유발을 사용하여 3116_A06 (서열 118)에서 BC 루프 (잔기 25-33), DE 루프 (잔기 55-58) 및 FG 루프 (잔기 80-89)에서의 단일 부위 알라닌 돌연변이를 생성하였다. 클론을 이. 콜라이에서 발현시키고 실시예 1에 기재된 바와 같은 HTPP에 의해 정제하였다. 크기 배제 크로마토그래피 (SEC, 실시예 2에 기재된 바와 같음)는 모든 알라닌-치환된 단백질이 우세하게 단량체성이었음을 확인시켜 주었다 (표 14). ARE-루시페라제 검정 (실시예 3) 및 HTRF 검정 (실시예 4) 둘 다를 수행하였다. HTRF 경쟁 결합 검정에서, 효력은 IC₅₀ = 1.5 nM 내지 >100 nM의 범위였다 (표 14). 대부분의 위치는 HTRF 검정에서 어느 정도 알라닌 치환을 허용하였고, 예외적으로 DE 루프의 Gly55, Arg56 및 Gly57의 경우에 결합이 급격히 감소하였다 (IC₅₀ >100 nM). BC 루프의 위치 Gly30, 및 FG 루프의 Val80, Thr81 및 Tyr88에서는 보다 약한 효과가 일어났으나, 여전히 모 서열 ("WT")에 비해 IC₅₀에 있어서 >10배 증가의 결합을 보였다. ARE-루시페라제 세포-기반 검정에서, 돌연변이체의 효력은 IC₅₀ = 0.6 nM 내지 >100 nM의 범위였다 (표 14). 알라닌 돌연변이의 영향은 HTRF 검정에 비해 세포-기반 검정에서 일반적으로 보다 컸다. DE 루프의 Gly55, Arg56 및 Gly57, 및 FG 루프의 Val80 및 Tyr88은 모두 이 검정에서 IC₅₀ >100 nM로 급격히 감소된 효력을 나타냈다. 보다 적절한 효과는 BC 위치 Leu26, Pro27, His28, Gly30 및 Asn33, 및 FG 위치 Thr81, Tyr85 및 Leu86에서 관찰되었으며, 모두 모 서열에 비해 >10배의 IC₅₀을 가졌다.

[0478] <표 14>

[0479] 3116_A06의 알라닌 돌연변이체에 대한 생화학적 특성화 및 세포-기반 효력

	돌연변이	SEC*	미오스타틴 HTRF IC50 (nM)	미오스타틴 ARE-luc IC50 (nM)
	WT 모	1	0.3	0.6
BC	S25A	1	0.8	2.9
	L26A	1	2.3	16
	P27A	1	1.0	10
	H28A	1	0.8	6.2
	Q29A	1	0.7	1.5
	G30A	2	5.1	40
	K31A	1	0.6	2.2
	N33A	1	2.0	9.8
DE	G55A	2	>100	>100
	R56A	1	55	>100
	G57A	1	>100	>100
	V58A	2	1.6	3.3
FG	V80A	1	4.0	>100
	T81A	1	4.9	32
	D82A	1	0.8	1.8
	T83A	1	1.3	1.8
	G84A	1	2.0	3.6
	Y85A	1	2.0	5.5
	L86A	2	1.4	12
	K87A	1	0.8	2.0
	Y88A	1	11	>100
	K89A	1	0.7	1.6

[0480]

[0481] *SEC 1: 고도 단량체성; SEC 2: 대부분 단량체성

[0482]

심층 돌연변이 스캐닝: 상기 기재된 바와 같은 전형적인 접근법에 부담이 되는 규모로, 모든 가능한 단일-부위 루프 돌연변이체의 상대 적합성의 동시 측정을 가능케 하기 위해 고처리량 서열분석을 단백질 디스플레이와 조합하였다 ("심층 돌연변이 스캐닝" 접근법의 검토를 위해, 문헌 [Araya et al., Trends in Biotechnology 29: 435-442, 2011] 참조; 유사한 접근법은 문헌 [Forsyth et al., mAbs 5: 523-532, 2013]에 추가로 예시됨).

[0483]

라이브러리 구축 및 선택: 3116_A06 (서열 118)의 3개의 루프, 즉 BC 루프 (위치 25-33), DE 루프 (위치 55-58) 및 FG 루프 (위치 80-89)의 각각에서 모든 가능한 단일-부위 돌연변이를 함유하는 3개의 개별 라이브러리를 생성하였다. 각각의 루프에 대해, 각각의 위치에 NNK 코돈 (여기서 N=A, C, G, T이고, K=G, T임)을 개별적으로 도입시킨 다중 올리고뉴클레오티드를 설계하였다. 이러한 축중성 코돈의 사용으로, NNK가 도입된 위치에서 모든 20개의 아미노산 (플러스 정지 코돈)의 코딩이 가능하였다. 올리고뉴클레오티드를 중첩 연장 PCR을 통해 조립하여 전장 애드벡틴 라이브러리를 생성하였고, 여기서 Lib-BC는 3116_A06의 모든 단일 아미노산 BC 루프 돌연변이를 함유하였고, Lib-DE는 3116_A06의 모든 단일 아미노산 DE 루프 돌연변이를 함유하였고, Lib-FG는 3116_A06의 모든 단일 아미노산 FG 루프 돌연변이를 함유하였다. 3개의 라이브러리를 문헌 [Xu et al., Chemistry & Biology 9: 933-942, 2002]에 따라 프로퓨전을 사용하여 mRNA-단백질 융합 분자로 발현시켰다. Lib-BC, Lib-DE 및 Lib-FG 프로퓨전 분자를 3 nM 비오틴화 미오스타틴에 대하여 개별적으로 선택하였고, 이후 결합 분자를 스트렙타비딘 자기 비드 상에 포획하였다. 결합체를 100 mM KOH를 사용하여 비드로부터 용리시켰다. 비드로부터 용리시킨 분자는 여전히 미오스타틴에 결합할 수 있는 3116_A06의 변이체를 나타냈으며, 반면에 용리에서는 발견되지 않았지만 초기 라이브러리에 존재하는 분자는 미오스타틴에 결합하지 않는 3116_A06의 변이체를 나타냈다.

[0484]

NGS 바코딩 및 혼합: 각각의 3개 라이브러리 (Lib-BC, Lib-DE 및 Lib-FG)로부터 유래된 2개의 집단인 투입 (미오스타틴 결합 전의 것) 및 결합체 (선택후 비드로부터 용리된 것)를 수집하고, 개별적으로 증폭시켰다. 각각의 집단에 PCR에 의해 5'- TruSeq 유니버설 어댑터(Universal Adaptor), 3'- Truseq 어댑터 II 및 고유한 6-뉴클레오티드 바코드를 덧붙였다. 이어서, 6 바코딩 집단 전체를 각각의 루프 내 무작위화 잔기의 수를 기준으로 하여 개별적으로 정량하고 혼합하여 (Lib-BC : Lib-DE : Lib-FG = 9:4:10), 통계적으로 유사한 무작위화 위치당

서열의 수를 얻었다. 모인 샘플을 MiSeq 150bp 쌍형성-말단 (일루미나(Illumina)) 차세대 서열분석에 의해 서열분석하였다.

[0485] NGS 데이터 분석: 차세대 서열분석으로부터의 정방향-관독 서열을 집단, 돌연변이 위치 및 돌연변이된 아미노산의 동일성에 따라 비닝하였다. 모든 불량한 품질의 서열 및 다중 돌연변이 부위를 함유하는 서열을 분석으로부터 제거하였다. 다음에, 선택후 집단 내 각각의 서열의 빈도를 투입 집단 내 그의 빈도로 나누어 풍부화 비(ER)를 유도하였다. 모 서열 (WT, 양성 대조군으로서 기능함) 및 정지 코돈을 함유하는 서열 (음성 대조군으로서 기능함, 우연히 생존의 배경 노이즈를 나타냄)의 ER의 비교는 신호 대 배경의 비 (S/B)가 3개의 루프 사이에서 변함을 나타냈는데, 이는 아마도 각각의 루프 라이브러리가 개별적으로 선택을 겪었기 때문이다. 이러한 이유로, 모든 서열을 그 자신의 특이적 루프에 대해 평균 정지 및 평균 wt ER로 정규화하여, ER^{norm} 을 유도하였다.

$$ER^{norm} = \frac{ER - ER_{정지}}{ER_{wt} - ER_{정지}}$$

[0486]

[0487] 단일 부위 알라닌 돌연변이체의 상대 적합성을 전형적인 알라닌 스캔으로부터의 생화학적 데이터와 비교하여 심층 돌연변이 스캔을 검증하였다. 전체적으로, 상관관계는 상당히 강했다 (도 8). NGS ER은 HTRF 및 ARE-루시페라제 검정에서 관찰된 영향과 매우 상관관계가 있는 루프에 걸쳐 알라닌 돌연변이체의 풍부화 및 고갈의 프로파일을 정의한다.

[0488] 또한, 도 9에 제시된 바와 같이, 생화학적 HTRF IC50을 각각의 알라닌 돌연변이체에 관하여 NGS ER^{norm} 에 대해 직접적으로 플롯팅하였다.

[0489] 알라닌 상관관계를 기준으로 하여, 모든 단일 부위 아미노산 돌연변이가 그의 NGS 풍부화 비를 통해 비닝될 수 있는 3개의 카테고리를 확립하였다: 가장 바람직한 돌연변이 ($ER^{norm} > 0.8$), 보다 바람직한 돌연변이 ($ER^{norm} > 0.5$) 및 바람직한 돌연변이 (루프 평균 $ER_{정지}$ 로부터로부터의 3 표준 편차 초과 ER^{norm}). 마지막 카테고리를 정의하는 ER^{norm} 의 하한치는 3개의 루프에 대해 상이하였다: BC = 0.25; DE = 0.15; FG = 0.35. 3116_A06의 루프에서의 모든 단일 부위 돌연변이체를 그의 정규화된 풍부화 비에 따라 비닝하여 돌연변이에 대한 각 위치의 상대 허용성을 결정하였다 (표 15).

[0490] <표 15>

[0491] 미오스타틴에 대한 결합을 유지하는 3116_A06의 루프 서열에서의 단일 부위 돌연변이

위치	바람직한 돌연변이	보다 바람직한 돌연변이	가장 바람직한 돌연변이
25	X ₅₁ ACDFHIKLNQRSTVWY	CFISVWY	FSW
26	X ₅₂ LMV	L	L
27	X ₅₃ ACDEIKLMNPQRSTVY	P	P
28	X ₅₄ ACDEFGHIKLMNQRSTVWY	CDEFGHIKLMNQRSTVWY	CFGIKLMNRSTVWY
29	X ₅₅ ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACEFGHIKLMPQRSTVY
30	X ₅₆ GS	G	G
31	X ₅₇ ACDEFGHIKLMNQRSTVWY	ACGHIKLMNQRSVWY	ACHKLMNRVWY
32	X ₅₈ ACGLMST	AGLMS	AGL
33	X ₅₉ ACFHNPPRSY	CHNQSY	HNQ
55	G	G	G
56	R	R	R
57	G	G	G
58	X ₆₀ ACDEFIKLMNQSTV	CEILMQTV	CEILMV
80	X ₆₁ ACFILMQTVWY	ACILMV	IV
81	X ₆₂ ACFGHIKLMNQRSTVWY	CFHILMQRSTVWY	CFILMTVWY
82	X ₆₃ ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACDEFGHILMNQSTVWY	ACDEFGHILMNQSTV
83	X ₆₄ ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACDEFGHIKLMNQRSTVWY	ACDFGILMNQSTVWY
84	X ₆₅ ACDEFGHIKLMNQRSTVWY	ADEFGHILMNQSTVWY	AGSTW
85	X ₆₆ ACFHILMNPPSTVWY	CFILMPTVWY	FIVWY
86	X ₆₇ ACEFGHIKLMNQRSTVWY	CFHIKLMNQRTVWY	FHILMVWY
87	X ₆₈ ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACEFGIKLMNPQRSTVWY	ACFGIKLMTVW
88	X ₆₉ FWY	WY	WY
89	X ₇₀ ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY	ACDEGHKLMNPQRSTV	AGKLMPQR

[0492]

[0493]

전체 심층 돌연변이 스캐닝 데이터를 사용하였을 때, BC 루프 위치 25, 26, 27, 30, 32 및 33, DE 루프 위치 55, 56 및 57, 및 FG 루프 위치 80 및 88가 가장 보존적인 것처럼 보였으며, 이들 위치에서 단지 단일 또는 소수의 아미노산 유형만이 미오스타틴에 대한 결합을 유지하였다. 한편, BC 루프 위치 28, 29 및 31, 및 FG 루프 위치 82, 83 및 87을 비롯한 다른 위치는 돌연변이에 대해 고도로 허용성이었다.

[0494]

실시에 9 - 항-미오스타틴 애드넥틴 약동학의 평가

[0495]

상이한 PEG화 포맷을 갖는 애드넥틴의 약동학적 프로파일을 연구하기 위해, 항-미오스타틴 애드넥틴 2987_H07을 2-분지형 40 KD PEG (ATI-1338), 4-분지형 40 KD PEG (ATI-1339) 및 비스 20 KD PEG (ATI-1341)로 포맷화하였다. 이러한 3개의 PEG화 애드넥틴을 이용한 피하 투여의 단일 용량 연구를 C57BL6 마우스에서 수행하였다. 전체 약물 농도를 ELISA 검정에 의해 결정하였다. ATI-1338의 정량화를 위한 생분석 PK 번역검정은 표준 샌드위치 포맷 ELISA 검정을 사용하였으며, 여기서 1338이 HIS-태그 단백질에 대한 모노클로날 항체에 의해 포획되었고, 이어서 폴리클로날 항-PEG 항체로 검출되었다. 표 16에 제시된 바와 같이, 2개의 40 KD PEG화 포맷인 ATI-1338 및 ATI-1339가 비스-20 KD PEG화 포맷인 ATI-1341보다 더 중요한 약동학적 증진 (즉, 보다 긴 반감기 ($t_{1/2}$) 및 보다 높은 용량-정규화 노출)을 제공하였다.

[0496]

<표 16>

[0497] 애드넥틴 2987_H07에 대한 3개의 PEG화 포맷의 약동학적 비교

PK 파라미터	ATI-1338	ATI-1339	ATI-1341
용량 (mg/kg)	5	3.9	4
C _{max} /용량 (nM/(mg/kg))	547	370	113
T _{max} (h)	24	24	4
AUC/용량 (nM*hr/(mg/kg))	32	23	2.1
t _{1/2} (h)	25	31	16

[0498]

[0499]

Fc-융합된 항-미오스타틴 애드넥틴 (PRD-1177, PRD-1286 및 PRD-1474)의 정맥내 및 피하 투여 후의 단일 용량 연구를 C57BL6 마우스에서 수행하여 약동학적 파라미터에 대한 Fc-융합체의 효과를 평가하였다. 전체 약물 농도를 ELISA 검정에 의해 결정하였다. PRD1177, 1474 및 1286 모두에 대한 Fc 접합체의 정량화를 위한 생분석 PK 면역검정은 ECL 기술을 사용하는 표준 샌드위치 포맷 ELISA 검정을 사용하였으며, 여기서 1177이 스캐폴드 애드넥틴에 대한 폴리클로날 항체에 의해 포획되었고, 이어서 항-인간 IgG 항체에 의해 검출되었다. 표 17에 제시된 바와 같이, 모든 3개의 Fc-융합된 애드넥틴은 PEG화 애드넥틴 ATI-1338 (25 h)보다 더 긴 반감기 (58 - 172 h)를 가졌다. 보다 낮은 SC 생체이용률은 아마도 생물학적 분자의 간질 및 림프 전이 동안 단백질분해를 반영한다. Fc-융합된 애드넥틴의 SC 생체이용률은 공개 문헌 (예를 들어 [Richter et al., AAPS J. 2012;14:559-70])을 기준으로 합리적인 범위 내에 있다.

[0500]

<표 17>

[0501]

3개의 Fc-융합된 항-미오스타틴 애드넥틴의 약동학적 비교

PK 파라미터	PRD-1177	PRD-1286	PRD-1474
용량 (mg/kg)	2	2	2
클리어런스 (mL/min/kg)	0.017	0.016	0.014
V _{dss} (L/kg)	0.093	0.190	0.054
t _{1/2} (h)	68	172	58
SC 생체이용률	60%	100%	94%

[0502]

[0503]

실시에 10 - 항-미오스타틴 애드넥틴 억제 메카니즘

[0504]

경쟁적 ELISA: 미오스타틴에 대한 ActRIIB 수용체 결합과 경쟁하는 항-미오스타틴 애드넥틴의 능력을 평가하기 위한 경쟁적 결합 검정을 경쟁적 ELISA를 사용하여 수행하였다. 눈크 맥시소르프(Nunc Maxisorp) 플레이트를 4 °C에서 밤새 0.2M 탄산나트륨 (pH 9.6) 완충제에서 2 µg/mL ActRIIb-Fc (알앤디 시스템즈)로 코팅하였다. PBS-T (0.05% 트윈-20을 함유하는 PBS)로 세척한 후에, 웰을 25°C에서 1시간 동안 OptEIA 완충제 (BD 바이오사이언시스(BD Biosciences))에 의해 진탕하면서 차단시켰다. 미오스타틴 (10 nM; 알앤디 시스템즈)을 25°C에서 1시간 동안 OptEIA 완충제에서 일정 농도 범위의 애드넥틴 또는 ActRIIb-Fc 경쟁자 (0.2 pM 내지 1 µM)로 진탕하면서 예비인큐베이션하였다. 차단되고 코팅된 검정 플레이트를 PBS-T로 세척하고, 이어서 미오스타틴/경쟁자 혼합물을 첨가하고, 25°C에서 30분 동안 진탕하면서 인큐베이션하였다. 검정 플레이트를 PBS-T로 세척하고, 이후 결합된 미오스타틴을 25°C에서 1시간 동안 OptEIA에 진탕하면서 희석시킨 1:1000 비오틀닐화 염소 항-미오스타틴 폴리클로날 (알앤디 시스템즈)로 검출하였다. PBS-T로 세척한 후에, OptEIA에 희석시킨 1:5000 스트렙타 비딘-HRP (썬모/피어스(Thermo/Pierce))를 첨가하고, 이어서 25°C에서 30분 동안 진탕하면서 인큐베이션하였다. 검정 플레이트를 TMB (BD 바이오사이언시스)로 전개하고, 2N 황산으로 퀀칭하고, A450에서 흡광도 판독하였다. 도 10에 제시된 바와 같이, 용액 중 ActRIIb-Fc는 예상한대로 플레이트 상에 코팅된 ActRIIb-Fc에 대한 미오스타틴 결합을 완전히 차단하였다. 그러나, 대조적으로, 1 µM 이하의 농도에서 PRD-1288 (PRD-1474와 단지 링커 서열에서만 상이함), PRD-1285 및 PRD-1286은 미오스타틴이 ActRIIb에 결합하는 것을 차단하지 않았다.

[0505] 경쟁 SPR: 미오스타틴 또는 미오스타틴에 대한 대용물로서의 BMP11에의 결합에 대해 유형 I 및 유형 II 수용체와 경쟁하는 항-미오스타틴 애드넥틴의 능력을 평가하기 위한 경쟁적 결합 검정을 통한 비아코어 T100 기기 상에서 SPR을 사용하여 2개의 상이한 포맷으로 수행하였다. "SPR 포맷 A"에서, 표준 에틸(디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC) / N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학과 에탄올아민 차단을 사용하여 10 mM 아세트이트 (pH 4.5) 중 100 ug/ml 단백질 A (피어스)를 CM5 센서 칩 (비아코어/지이 헬스케어) 상에 4500 RU로 고정시켜 센서 칩 표면을 제조하였다. 7-13 µg/ml의 농도에서 ALK4-Fc (알앤디 시스템즈), ALK5-Fc (알앤디 시스템즈), ActRIIB-Fc (사내 생산됨), 미오스타틴에의 결합에 대해 ActRIIB와 경쟁하지만 미오스타틴에의 결합에 대해 3116A06과는 경쟁하지 않는 항-미오스타틴/BMP11 모노클로날 항체 (mAb-A) (사내 생산됨) 또는 애드넥틴-Fc PRD-1474을, 10 µl/min의 60 s 주사를 사용하여 1600 - 4300 RU의 표면 밀도로 Fc 꼬리를 통해 포획하였다. 200 nM 애드넥틴 ATI-1523의 부재 또는 존재 하에 상기 표면 상에 100 nM 미오스타틴 (알앤디 시스템즈) 또는 BMP11 (알앤디 시스템즈)을 30 µl/min의 유량으로 180 s 회합 및 해리 시간으로 유동시켜 경쟁 실험을 수행하였다. 고정화 및 경쟁 실험에 대한 실행 완충제는 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.05% v/v 계면활성제 P20 (pH 7.4)이었고, 10 mM 글리신 (pH 1.5)의 2회 주사를 30 µl/min로 30 s 동안 사용하여 사이클 사이에 표면을 재생시켰다.

[0506] SPR 포맷 A에서, BMP11은 ALK4-Fc, ALK5-Fc, ActRIIB-Fc, mAb-A 및 PRD-1474 표면에 특이적으로 결합하였으며, 반면에 미오스타틴은 ActRIIB-Fc, mAb-A 및 PRD-1474에 특이적으로 결합하였지만, ALK4-Fc 또는 ALK5-Fc에는 결합하지 않았다. 미오스타틴 또는 BMP11 결합에 대한 ATI-1523의 효과를 평가하기 위해, 180 s 회합 상의 말기에 각각의 단백질에 대한 결합 반응을 각각 100%로 정규화하고, ATI-1523의 존재 하에 미오스타틴 또는 BMP11에 대한 결합 반응과 비교하였다 (표 18). ATI-1523은 예상한대로 대조 PRD-1474 표면에 대한 미오스타틴 또는 BMP11의 결합을 완전히 차단하였다. 미오스타틴과 ALK4-Fc 또는 ALK5-Fc와의 상호작용을 차단하는 ATI-1523의 능력을 평가하기 위한 검정에서, ALK4-Fc 및 ALK5-Fc에 또한 결합하는 BMP-11은 미오스타틴에 대한 대용물로서 사용되었는데, 이는 미오스타틴 단독으로는 이러한 실험 포맷 하에서 ALK4-Fc 및 ALK5-Fc에 유의하게 결합하지 않기 때문이다. ATI-1523은 ALK4-Fc (98% 감소) 및 ALK5-Fc (69% 감소)를 향한 BMP11에 대한 결합 신호를 유의하게 감소시켰으며, 이는 애드넥틴이 미오스타틴에의 결합에 대해 유형 I 수용체와 경쟁함을 제시한다. 대조적으로, 증가된 결합 반응이 ActRIIB-Fc 또는 mAb-A 표면 상에서 미오스타틴/ATI-1523 또는 BMP11/ATI-1523 복합체에 대해 관찰되었으며, 이는 미오스타틴/ATI-1523 또는 BMP11/ATI-1523 복합체가 상기 표면에 대해 결합할 수 있음을, 즉 애드넥틴이 ActRIIB-Fc 또는 mAb-A와 비-경쟁적임을 제시한다. ActRIIB-Fc 및 mAb-A 표면 상의 미오스타틴/ATI-1523 복합체에 대한 결합 반응의 큰 증가 (>1000% 증가)는 애드넥틴이 미오스타틴에 대한 가용화 효과를 갖는 것과 일치한다.

[0507] <표 18>

[0508] ALK4-Fc, ALK5-Fc, ActRIIB-Fc, mAb-A 또는 PRD-1474 표면 상에서 200 nM ATI-1523의 부재 또는 존재 하에 100 nM 미오스타틴 또는 100 nM BMP11에 대한 SPR 결합 반응

분석물	ALK4-Fc	ALK5-Fc	ActRIIB-Fc	mAb-A	PRD-1474
미오스타틴			100%	100%	100%
미오스타틴 + ATI-1523			1313%	1544%	-2%
BMP11	100%	100%	100%	100%	100%
BMP11 + ATI-1523	2%	31%	189%	258%	-1%

[0509]

[0510] "SPR 포맷 B"를 사용한 애드넥틴 경쟁: 항-미오스타틴 애드넥틴에 대한 작용 메커니즘을 "SPR 포맷 B"에서 추가로 평가하였으며, 여기서 미오스타틴 또는 BMP11 (10 mM 아세트이트 (pH 4.5) 중 10 µg/ml)을 CM5 센서 칩 표면 상에 EDC/NHS 커플링 화학을 사용하여 985 RU (미오스타틴) 또는 530 RU (BMP11)의 밀도로 직접 고정시켰다. 여기서, 단독 주사된 (30 µl/min로 180 s 동안 2 µM) 수용체 ALK4-Fc (알앤디 시스템즈), ALK5-Fc (알앤디 시스템즈) 또는 ActRIIB-단량체 (사내 생산됨)에 대한 결합 반응을, 표면에 대한 애드넥틴-Fc 융합체 PRD-1474의 예비-결합 (30 µl/min로 480 s 동안 1 µM) 후 상기 수용체에 대한 결합 반응과 비교하였다. 고정화 및 경쟁 실험에 대한 실행 완충제는 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 및 0.05% v/v 계면활성제 P20, pH 7.4였고, 50 mM NaOH의 4회 주사를 30 µl/min로 15 s 동안 사용하여 사이클 사이에 표면을 재생시켰다.

[0511] PRD-1474의 부재 하에, 각각의 수용체는 고정된 BMP11에 특이적으로 결합하였으며, 반면에 ALK4-Fc를 제외하고 단지 ALK5-Fc 및 ActRIIB-단량체만이 고정된 미오스타틴에 결합하였다. PRD-1474의 예비-결합은 BMP11을 향

한 ALK4-Fc에 대한 결합 신호를 유의하게 감소시켰고 (70% 감소), 또한 미오스타틴 또는 BMP11을 향한 ALK5-Fc의 결합을 감소시켰지만 (35-41% 감소), 미오스타틴 또는 BMP11 표면의 ActRIIB-단량체 결합에 대해 최소한의 영향을 미쳤다 (표 19). 이들 데이터를 "SPR 포맷 A"로부터의 SPR 경쟁 데이터 (표 18), 경쟁적 ELISA 데이터 (도 10) 및 ARE-루시페라제 검정에서 관찰된 미오스타틴 신호전달의 완전한 억제 (도 11)와 함께 취하여, 애드넥틴 작용 메카니즘은 유형 I 신호전달 수용체 (ALK4/5)의 동원의 차단이고, 애드넥틴은 유형 II 수용체 (ActRIIB) 결합과 경쟁하지 않음을 입증하였다.

<표 19>

예비-결합된 PRD-1474의 존재 또는 부재 하에 고정된 미오스타틴 또는 BMP11 표면 상에서 1 μ M ALK4-Fc, ALK5-Fc 또는 ActRIIB-단량체에 대한 SPR 결합 반응

표면	예비-결합 PRD-1474	ALK4-Fc	ALK5-Fc	ActRIIB- 단량체
미오스타틴	부재		100%	100%
	존재		55%	111%
BMP11	부재	100%	100%	100%
	존재	30%	65%	92%

이들 애드넥틴은 본 발명에 예시된 서열 패밀리를 나타내고 잘 정의된 서열 패밀리 내의 개별 클론은 동일한 결합 부위를 유지하므로, 본 발명에 의해 포함되는 서열은 미오스타틴-ActRIIB 복합체로의 ALK4/5 동원을 차단하여 작용한다.

약동학적 데이터는, 미오스타틴-애드넥틴 복합체 수준이 시간에 따라 축적되고, 이들 복합체가 ActRIIB에 결합하여 유리 약물과 관계없이 신호전달의 우세한 음성 억제체로서 작용함을 추가로 나타낸다. 이러한 고유한 메카니즘은 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴을 문헌 (예를 들어, US 7632499)에 기재된 항-미오스타틴 항체와 구별시키고, 본 발명의 항-미오스타틴 애드넥틴이 증가된 활성을 가짐을 나타낸다.

실시예 11 - HDX-MS를 사용하는 미오스타틴 상의 애드넥틴 결합 부위의 맵핑

미오스타틴 상의 애드넥틴 결합 부위를 수소-중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS)을 사용하여 추가로 평가하였다.

수소/중수소 교환 질량 분광측정법 (HDX-MS) 방법은 백본 아마이드 수소에서 중수소 교환 비율 및 정도를 모니터링하여 용액 중 단백질 입체형태 및 입체형태 역학을 탐침한다. HDX의 수준은 백본 아마이드 수소의 용매 접근성 및 단백질의 입체형태에 의존한다. HDX시 단백질의 질량 증가는 MS에 의해 정확하게 측정될 수 있다. 이 기술이 효소적 소화와 연계되는 경우, 펩티드 수준에서의 구조적 특징이 얻어질 수 있으며, 이는 표면 노출된 펩티드를 내측 폴딩된 펩티드와 구별시키거나 또는 단백질-단백질 복합체의 계면에 격리된 펩티드와 구별시킨다. 전형적으로, 중수소 표지 및 후속 켄칭 실험이 수행되고, 이어서 온라인 펩신 소화, 펩티드 분리 및 MS 분석이 수행된다.

미오스타틴 단독이 생리학상 적절한 pH 조건 하에서 HDX-MS에 대해 부적합하게 낮은 용해도 (< 10 μ g/ml)를 갖는 것으로 밝혀졌기 때문에, 본 발명자들은 실시예 10에 기재된 SPR 실험을 사용하여 애드넥틴과 비-경쟁적인 것으로 나타난 mAb-A로부터의 Fab 단편 (Fab-A)과 미오스타틴을 복합체화시켜 그 단백질의 용해도를 증가시키는 대체 전략을 사용하였다. HDX-MS 샘플의 올리고머 상태를 다중-각도 레이저 광 산란 검출기 (SEC-MALS)에 커플링된 크기-배제 크로마토그래피에 의해 특성화하였으며, 여기서 미오스타틴/Fab-A 복합체 (~120 kDa)의 MALS-측정 질량은 2개의 Fab-A 분자에 결합된 1개의 미오스타틴 동종이량체의 예상된 화학량론과 일치하였고, 미오스타틴/Fab-A/3116_A06 복합체 (142 kDa)의 MALS-측정 질량은 2개의 Fab-A 분자 + 2개의 3116_A06 분자에 결합된 1개의 미오스타틴 동종이량체의 예상된 화학량론과 일치하였다.

HDX-MS를 이용하여 애드넥틴 3116_A06에 의해 인식된 미오스타틴 상의 애드넥틴 결합 부위를 맵핑하기 전에, 비-중수소화 실험을 수행하여 미오스타틴/Fab-A (각각 30 μ M의 1:1 몰비) 및 미오스타틴/Fab-A/3116_A06 (각각 30 μ M의 1:1:1 몰비) 샘플로부터 미오스타틴에 대한 공통 펩신 펩티드의 목록을 생성하여, 미오스타틴에 대한 83.5%의 서열 적용범위를 달성하였다. 이 실험에서, 10 mM 포스페이트 완충제 (pH 7.0)를 표지 단계 동안 사용하였고, 이어서 켄칭 완충제 (200 mM 포스페이트 완충제 + 4M GdnCl 및 0.5M TCEP, pH 2.5, 1:1, v/v)를 첨가하였다. 애드넥틴 결합 부위 맵핑 실험을 위해, 5 μ L의 각각의 샘플 (미오스타틴/Fab-A 또는 미오스타틴/Fab-

A/3116_A06)을 65 μ L HDX 표지 완충제 (D2O 중 10 mM 포스페이트 완충제, pH 7.0)와 혼합하여 실온 ($\sim 25^{\circ}\text{C}$)에서 표지 반응을 시작하였다. 반응을 20초, 1분, 10분, 60분 및 240분의 상이한 기간 동안 수행하였다. 각각의 표지 반응 주기의 말기에, 켄칭 완충제 (1:1, v/v)를 첨가하여 반응물을 켄칭하고, 켄칭된 샘플을 분석하기 위해 워터스(Waters) HDX-MS 시스템에 주입하였다. 관찰된 공통 펩신 펩티드를 3116_A06의 부재/존재 하에 그의 중수소 흡수 수준에 대해 모니터링하였다.

[0522] HDX-MS 측정으로부터 얻은 실험 데이터는 애드넥틴 3116_A06이 미오스타틴에서 하기 2개의 펩티드 영역으로 구성된 불연속적 애드넥틴 결합 부위를 인식함을 나타냈다:

[0523] 영역 1: LYFNGKEQIIYGKIPAM (85-101); 서열 329

[0524] 영역 2: PHTHLVHQANP (56-66); 서열 330

[0525] 상대 중수소 흡수 수준을 기준으로 하여, 2개의 펩티드 영역을 영역 1 > 2로서 등급화할 수 있으며, 이때 영역 1은 중수소 흡수에서 가장 유의한 변화를 갖는다.

[0526] 실시예 12 - 미오스타틴 상으로 애드넥틴 3116_A06의 인 실리코 도킹

[0527] 컴퓨터 접근법을 사용하여 HDX-MS 데이터와 일치하는 3116_A06-미오스타틴 복합체의 구조적 모델을 생성하였다 (도 13). 인간 미오스타틴 구조 내로의 3116_A06의 단백질 도킹 (프로테인 데이터 뱅크(Protein Data Bank)로부터 취한 PDB 3HH2, www.rcsb.org; 문헌 [Cash et al., EMBO J. 28:2662-2676, 2009])은 액셀리스(Accelrys) 소프트웨어 디스커버리 스튜디오 v3.5 (액셀리스)에서 이행된 바와 같이 ZDOCK (Chen and Wang, Proteins 47:281-294, 2002)를 사용하여 수행하였다. ZDOCK 프로토콜은 2개의 단백질 구조 (리간드 = 3116_A06 및 수용체 = 미오스타틴)의 강체 도킹을 이용하였다. 도킹된 포즈를 3116_A06 FG (잔기 Thr79 내지 Tyr88) 및 BC (잔기 Ser25 내지 N33) 루프의 입체형태를 함유하는 복합체에 대해 여과하였다. 애드넥틴 돌연변이유발에 의해 확인된 루프의 바람직한 치환의 상관관계와 커플링된 계면 잔기의 상보성을 기준으로 하여 바람직한 복합체를 선택하였다. 도 13a는 미오스타틴 구조 (회색) 상에 맵핑된 ALK4 결합 부위 및 ActRIIB 결합 부위를 도시한다. 실시예 11에 기재된 바와 같은 HDX-MS 실험에 의해 확인된 영역 1 및 영역 2는 흑색으로 표시된다. 도 13b는 막대형으로 만들어진 3116_A06의 BC, DE 및 FG 루프 (흑색)와 공간-채움 형태로 표시된 미오스타틴의 영역 1 및 2 (회색)를 갖는, 도킹으로부터의 바람직한 복합체를 도시한다. 루프의 바람직한 돌연변이로서 확인된 여러 잔기는 주요 기여를 보인다. 예를 들어, 3116_A06의 BC 루프에서, 잔기 Ser25, Leu26 및 Pro27은 전체적 루프 입체형태를 유지하기 위한 구조적 제약으로서 중요하다. 대조적으로, Ala32는 복합체 계면에 형성된 작은 소수성 틈에 핏팅되고, 잔기의 백본은 미오스타틴과 수소 결합을 형성한다. 위치 32에서의 가장 바람직한 치환은 Gly 또는 Leu이고, 이들은 알라닌 대신에 잘 핏팅될 것으로 예상된다. 유사하게, Asn33은 미오스타틴의 트립토판 잔기 근처에 수소 결합과 관련된다. 위치 33에서의 가장 바람직한 치환은 His 및 Gln이며, 이들은 또한 수소 결합 공여자로서 기여할 수 있는 측쇄를 함유한다. DE 루프에서의 잔기가 중요하다: 가장 바람직한 치환은 Gly55, Arg56 및 Gly57로 제한되고, 단지 보존적 치환만이 Val58에 대해 바람직하다. 모델 구조에서, Arg56은 영역 1에서 미오스타틴의 Y86과의 파이 양이온 상호작용 뿐만 아니라 다른 영역 1 잔기의 백본 및 측쇄와의 추가 수소 결합에 기여하는 중요한 잔기이다. 다수의 FG 루프 잔기에 대해, 가장 바람직한 치환은 보존적 대체였다. 확인된 하나의 중요한 위치는 미오스타틴의 영역 2로부터의 Y55 및 다른 잔기와의 파이 양이온 상호작용 및 파이-파이 상호작용을 갖는 Tyr88이었다. FG 루프는 또한 돌연변이유발 실험로부터 확인된 영역 1 및 2 둘다와의 여러 소수성 상호작용과 관련된다. 이러한 계산은 HDX-MS 및 SPR 실험 데이터와 양호한 일치를 보인다.

[0528] 실시예 13 - 근육력 효능의 생체내 마우스 모델

[0529] 수컷 B6.SCID 마우스 (9-13주령, 잭슨 래보러토리즈(Jackson Laboratories), 메인주 바 하버)를 역전된 12시간 명/암 사이클 하에 온도-제어된 방에 수용하였다. 물 및 표준 사료는 임의로 이용가능하였다. 마우스를 체중 (약 20-22 g)을 기준으로 하여 대조군 또는 본 발명의 시험 화합물을 투여하기 위해 무작위 선정하고 치료군 사이에 분배하였다. 본 발명의 화합물의 생체내 효능을 입증하기 위해, 화합물을 피하 주사에 의해 매주 (Fc-융합 항-미오스타틴 애드넥틴) 또는 주 2회 (PEG화 항-미오스타틴 애드넥틴) 투여하였다. 포스페이트-완충 염수 (PBS) 중 시험 화합물을 동물에게 투여하였다. 대조군은 단지 재구성 완충제로 치료하였다. 시험 동물 (n=8-10 마우스/군)에게 본 발명의 시험 화합물을 예를 들어 5, 6 또는 10 mg/kg/주로 14일-시간 프레임에 걸쳐 피하 투여하였다. 체중 측정치를 무작위화 전, 무작위화 날 및 치료 기간 동안 주 2 내지 3회 및 연구 종료시에 기록하였다. 하퇴 근육 질량을 사체로부터 연구 종료시에 정량적 자기 공명 영상화 (MRI, 에코 메디칼 시스템즈 (Echo Medical Systems), 텍사스주) 분석에 의해 기록하였다. 시험군을 대조군과 비교하였다. 결과는 본 발명

의 항-미오스타틴 애드벡틴이 대조군 마우스와 비교하여, 기준선으로부터 % 체중을 증가시켰고 (도 14), 골격근 부피에 대한 유의한 동화 효과를 가졌음 (예를 들어, 대조군과 비교하여 근육 부피의 대략 7-10% 증가) (도 15)을 제시한다.

[0530] 자기 공명 영상화 (MRI)

[0531] 하지 근육 부피 측정을 위한 MRI를 16 cm 구멍을 갖는 브루커 파르마스캔 4.7 테슬라(Bruker PharmaScan 4.7 Tesla) (브루커 바이오스핀(Bruker Biospin), 미국 매사추세츠주 빌러리카) 상에서 수행하였다. 전송기 및 수신기에 대해 62 mm 부피 코일을 사용하였다. 하퇴의 로컬라이저 영상의 수집 후에, T2 가중 영상을 축 절편 계획을 사용하여 얻었다. 고속 스핀-에코 (RARE) 순서는 90° 에르미트(Hermite) 펄스에 이은 180° 에르미트 펄스와 TR/TE = 2000/23ms로 이루어졌다. 11개의 축 절편을 무릎의 상단으로부터 발목까지 수집하였고, 이때 매트릭스 치수는 256 x 128 데이터 점이었다. 영상 영역은 5 cm x 2.5 cm였고, 1.25 mm 절편 두께와 4 및 8 신호 평균의 RARE 인자를 가졌다. 각 하지에서의 전체 근육 부피를 위해 모든 축 절편 면적의 합계에 1.25 mm 절편 두께를 곱하여 하지 근육 부피를 계산하였다. 이미지 시퀀스 애널리시스(Image Sequence Analysis) (ISA, 브루커 바이오스핀, 매사추세츠주 빌러리카)에 의해 관심 영역 (ROI)의 면적 평균으로서 영상을 분석하였다. 수동 ROI를 피부 및 피하 지방 구역을 제외한 하지 근육 주위에 그렸다. 두 하지에 대한 전체 평균 근육 부피는 도 15에 제시된다.

[0532] 또한, 안전성 종점으로서의 심장 부피에 대한 MRI를 동일한 MRI 스캐너로 수행하였다. 가슴 구역의 초기 로컬라이저 영상을 얻은 후, 심장의 가장 큰 혈관에서부터 정점까지 9개의 축 영상을 수집하였다. 하지 근육의 분석과 유사하게, 축 면적을 추가하고, 1.25 mm의 절편 두께를 곱하여 각 동물에 대한 전체 심장 부피를 얻었다. MRI에 의해 심장 부피의 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

[0533] 통계

[0534] 스튜던트 t-검정 2측 대응 분석을 사용하여 군 사이의 차이를 평가하였다.

[0535] 실시예 14 - 생체내 근육 성장에 대한 PRD-1474의 효능

[0536] 수컷 B6.SCID 마우스 (n=10/군)를 실시예 10에 기재된 바와 같이 유지 및 치료하되, 단 PRD-1474를 도 16에 표시된 바와 같은 다양한 용량으로 투여하고, 치료 지속기간은 28일이었다. 1 mg/kg의 PRD-1474는 PBS 대조군과 비교하여 하퇴 근육 부피의 유의한 11.1% 증가를 보였다 (p<0.0001). 또한, 하퇴 근육 부피의 유의한 27.7%, 29.7% 및 32.8% 증가가 각각 10 mg/kg, 30 mg/kg 및 100 mg/kg의 PRD-1474에서 관찰되었다. 대조군에 비해 모든 치료 용량 군에서 심장 부피의 변화는 관찰되지 않았다. 데이터는 평균 ± 표준 편차로 제시된다. 다양한 투여량 군을 ANOVA를 사용하여 비교하였다 (*p< 0.0001; # 군 사이에 유의하지 않음).

[0537] 데이터는 본 발명의 항-미오스타틴 애드벡틴이 이전에 기재된 미오스타틴 억제제 (예를 들어, US 7632499, 문헌 [J. Clin. Oncol. 30(Suppl):Abstr. 2516, 2012])보다 훨씬 더 낮은 투여량에서도 유효함을 입증하였다. 따라서, 본 발명의 항-미오스타틴 애드벡틴은, 본원에 기재된 근육 소모 및 대사 질환을 치료하기 위해 단독으로 또는 다른 미오스타틴 억제제 또는 기타 약물과 조합되어 투여될 때, 보다 낮은 투여량에서도 효능의 증가와 함께 바람직하지 않은 부작용의 감소를 제공한다.

[0538] 실시양태

[0539] 1. 피브로넥틴 유형 III 제10 도메인 (¹⁰F_n3)을 포함하며, 여기서 ¹⁰F_n3은 인간 ¹⁰F_n3 도메인의 상응하는 루프의 서열에 비해 변경된 아미노산 서열을 갖는 루프 BC, DE 및 FG로부터 선택된 적어도 하나의 루프를 갖는 것인, 미오스타틴에 결합하는 폴리펩티드.

[0540] 2. 실시양태 1에 있어서, 미오스타틴에 500 nM 미만의 K_D로 결합하는 폴리펩티드.

[0541] 3. 실시양태 1 또는 2에 있어서, BC 루프가 화학식 X₁-L-P-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서

[0542] (a) X₁이 S, T 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;

[0543] (b) X₂가 H, Y, N, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0544] (c) X_3 이 A, P, Q, S, F, H, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0545] (d) X_4 가 G 및 A로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0546] (e) X_5 가 H, L, R, V, N, D, F, I 및 K로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0547] (f) X_6 이 A, L, G, M, F, I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0548] (g) X_7 이 H 및 N으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0549] 4. 실시양태 3에 있어서, X_1 이 S인 폴리펩티드.
- [0550] 5. 실시양태 3 또는 4에 있어서, X_2 가 H 또는 Y인 폴리펩티드.
- [0551] 6. 실시양태 3 내지 5 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_3 이 A 또는 P인 폴리펩티드.
- [0552] 7. 실시양태 3 내지 6 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_4 가 G인 폴리펩티드.
- [0553] 8. 실시양태 3 내지 7 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_5 가 H, L 또는 R인 폴리펩티드.
- [0554] 9. 실시양태 3 내지 8 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_6 이 A 또는 L인 폴리펩티드.
- [0555] 10. 실시양태 3 내지 9 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_7 이 H인 폴리펩티드.
- [0556] 11. 실시양태 3에 있어서, BC 루프가 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0557] 12. 실시양태 11에 있어서, BC 루프가 서열 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0558] 13. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프가 화학식 $G-R-G-X_8$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_8 이 V 또는 L인 폴리펩티드.
- [0559] 14. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프가 서열 39 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0560] 15. 실시양태 14에 있어서, DE 루프가 서열 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0561] 16. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, FG 루프가 화학식 $X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0562] (a) X_9 가 L, V 및 I로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0563] (b) X_{10} 이 T 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0564] (c) X_{11} 이 K, R, A, G, S, D, H, N, T 및 P로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0565] (d) X_{12} 가 S, T, A, E, H, K 및 N으로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0566] (e) X_{13} 이 K, G, Q, D, E, N, T 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0567] (f) X_{14} 가 V, I, F, L, M, P, T 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0568] (g) X_{15} 가 I, L 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0569] (h) X_{16} 이 H, I, V, K, L, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0570] (i) X_{17} 이 Y 및 H로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0571] (j) X_{18} 이 K, M, L, R 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.

- [0572] 17. 실시양태 16에 있어서, X_9 가 L 또는 V인 폴리펩티드.
- [0573] 18. 실시양태 16 또는 17에 있어서, X_{10} 이 T인 폴리펩티드.
- [0574] 19. 실시양태 16 내지 18 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{11} 이 K 또는 R인 폴리펩티드.
- [0575] 20. 실시양태 16 내지 19 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{12} 가 S 또는 T인 폴리펩티드.
- [0576] 21. 실시양태 16 내지 20 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{13} 이 K, G 또는 Q인 폴리펩티드.
- [0577] 22. 실시양태 16 내지 21 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{14} 가 V 또는 I인 폴리펩티드.
- [0578] 23. 실시양태 16 내지 22 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{15} 가 I인 폴리펩티드.
- [0579] 24. 실시양태 16 내지 23 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{16} 이 H, I 또는 V인 폴리펩티드.
- [0580] 25. 실시양태 16 내지 24 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{17} 이 Y인 폴리펩티드.
- [0581] 26. 실시양태 16 내지 25 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{18} 이 K 또는 M인 폴리펩티드.
- [0582] 27. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, FG 루프가 서열 46, 50-62, 64-72, 75-77 및 79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0583] 28. 실시양태 27에 있어서, FG 루프가 서열 75에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0584] 29. 실시양태 1 또는 2에 있어서, BC 루프가 화학식 $X_{19}-X_{20}-P-X_{21}-G-X_{22}-A$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0585] (a) X_{19} 가 D, E, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0586] (b) X_{20} 이 A, S 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0587] (c) X_{21} 이 R, A, G, K 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0588] (d) X_{22} 가 L 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0589] 30. 실시양태 29에 있어서, X_{19} 가 D인 폴리펩티드.
- [0590] 31. 실시양태 29 또는 30에 있어서, X_{20} 이 A인 폴리펩티드.
- [0591] 32. 실시양태 29 내지 31 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{21} 이 R 또는 A인 폴리펩티드.
- [0592] 33. 실시양태 29 내지 32 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{22} 가 L인 폴리펩티드.
- [0593] 34. 실시양태 29 내지 33 중 어느 한 실시양태에 있어서, BC 루프가 서열 8-10, 22, 32, 33 및 35로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0594] 35. 실시양태 1, 2 및 27 내지 34 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프가 화학식 $X_{23}-G-R-G-X_{24}$ 에 따른 및 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0595] (a) X_{23} 이 V, P, F, I 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0596] (b) X_{24} 가 S, N 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0597] 36. 실시양태 35에 있어서, DE 루프가 서열 40, 41 및 43-45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0598] 37. 실시양태 1, 2 및 29 내지 36 중 어느 한 실시양태에 있어서, FG 루프가 화학식 $X_{25}-X_{26}-R-X_{27}-G-X_{28}-X_{29}-X_{30}-X_{31}-X_{32}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서

- [0599] (a) X_{25} 가 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0600] (b) X_{26} 이 F, D 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0601] (c) X_{27} 이 D 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0602] (d) X_{28} 이 P, M, V 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0603] (e) X_{29} 가 V, L, N, R 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0604] (f) X_{30} 이 H, T, L, N, Q 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0605] (g) X_{31} 이 F, W, Y, H 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0606] (h) X_{32} 가 D, A 및 G로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0607] 38. 실시양태 37에 있어서, X_{25} 가 I인 폴리펩티드.
- [0608] 39. 실시양태 37 또는 38에 있어서, X_{26} 이 F인 폴리펩티드.
- [0609] 40. 실시양태 37 내지 39 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{27} 이 D인 폴리펩티드.
- [0610] 41. 실시양태 37 내지 40 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{28} 이 P인 폴리펩티드.
- [0611] 42. 실시양태 37 내지 41 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{29} 가 V인 폴리펩티드.
- [0612] 43. 실시양태 37 내지 42 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{30} 이 H 또는 T인 폴리펩티드.
- [0613] 44. 실시양태 37 내지 43 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{31} 이 F 또는 W인 폴리펩티드.
- [0614] 45. 실시양태 37 내지 44 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{32} 가 D인 폴리펩티드.
- [0615] 46. 실시양태 37 내지 45 중 어느 한 실시양태에 있어서, FG 루프가 서열 47-49, 63, 73, 74 및 78로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0616] 47. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, BC 루프 및 DE 루프를 포함하는 폴리펩티드.
- [0617] 48. 실시양태 47에 있어서, BC 루프가 서열 7-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프가 서열 39-45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0618] 49. 실시양태 1 내지 46 중 어느 한 실시양태에 있어서, BC 루프 및 FG 루프를 포함하는 폴리펩티드.
- [0619] 50. 실시양태 49에 있어서, BC 루프가 서열 7-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프가 서열 46-79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0620] 51. 실시양태 1 내지 46 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프 및 FG 루프를 포함하는 폴리펩티드.
- [0621] 52. 실시양태 51에 있어서, DE 루프가 서열 39-45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프가 서열 46-79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0622] 53. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, BC 루프, DE 루프 및 FG 루프를 포함하는 폴리펩티드.
- [0623] 54. 실시양태 53에 있어서, BC 루프가 서열 7-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프가 서열 39-45로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, FG 루프가 서열 46-79로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0624] 55. 실시양태 54에 있어서, BC 루프가 서열 34의 아미노산 서열을 포함하고, DE 루프가 서열 39를 포함하고, FG 루프가 서열 75를 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0625] 56. 실시양태 55에 있어서, BC 루프 서열이 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 아미노산 치환을 갖고; DE 루프가 1개의 아미노산 치환을 갖고; FG 루프가 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개의 아미노산 치환을 갖는 것인 폴리펩티드.

- [0626] 57. 실시양태 56에 있어서,
- [0627] (a) BC 루프가 화학식 $X_{33}\text{-L-P-X}_{34}\text{-X}_{35}\text{-X}_{36}\text{-X}_{37}\text{-X}_{38}\text{-X}_{39}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0628] (i) X_{33} 이 T 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0629] (ii) X_{34} 가 Y, N, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0630] (iii) X_{35} 가 A, P, S, F, H, N 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0631] (iv) X_{36} 이 A이고;
- [0632] (v) X_{37} 이 H, L, R, V, N, D, F 및 I로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0633] (vi) X_{38} 이 L, G, M, F, I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0634] (vii) X_{39} 가 H이고;
- [0635] (b) DE 루프가 화학식 $G\text{-R-G-X}_{40}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{40} 이 L이고;
- [0636] (c) FG 루프가 화학식 $X_{41}\text{-X}_{42}\text{-X}_{43}\text{-X}_{44}\text{-X}_{45}\text{-X}_{46}\text{-X}_{47}\text{-X}_{48}\text{-X}_{49}\text{-X}_{50}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0637] (i) X_{41} 이 L 및 I로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0638] (ii) X_{42} 가 S이고;
- [0639] (iii) X_{43} 이 K, R, A, G, S, H, N, T 및 P로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0640] (iv) X_{44} 가 S, A, E, H, K 및 N으로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0641] (v) X_{45} 가 K, Q, D, E, N, T 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0642] (vi) X_{46} 이 V, I, F, L, M, P 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0643] (vii) X_{47} 이 I 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0644] (viii) X_{48} 이 H, I, V, L, R, F, G, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0645] (ix) X_{49} 가 H이고;
- [0646] (x) X_{50} 이 M, L, R 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0647] 58. 실시양태 1 또는 2에 있어서, BC 루프가 화학식 $X_{51}\text{-X}_{52}\text{-X}_{53}\text{-X}_{54}\text{-X}_{55}\text{-X}_{56}\text{-X}_{57}\text{-X}_{58}\text{-X}_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0648] (a) X_{51} 이 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0649] (b) X_{52} 가 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0650] (c) X_{53} 이 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0651] (d) X_{54} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0652] (e) X_{55} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0653] (f) X_{56} 이 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0654] (g) X_{57} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0655] (h) X_{58} 이 A, C, G, L, M, S 및 T로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0656] (i) X_{59} 가 A, C, F, H, N, P, Q, R, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0657] 59. 실시양태 58에 있어서,
- [0658] (a) X_{51} 이 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0659] (b) X_{52} 가 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0660] (c) X_{53} 이 P로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0661] (d) X_{54} 가 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0662] (e) X_{55} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0663] (f) X_{56} 이 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0664] (g) X_{57} 이 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0665] (h) X_{58} 이 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0666] (i) X_{59} 가 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0667] 60. 실시양태 59에 있어서,
- [0668] (a) X_{51} 이 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0669] (b) X_{52} 가 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0670] (c) X_{53} 이 P로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0671] (d) X_{54} 가 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0672] (e) X_{55} 가 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0673] (f) X_{56} 이 G로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0674] (g) X_{57} 이 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0675] (h) X_{58} 이 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0676] (i) X_{59} 가 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0677] 61. 실시양태 58 내지 60 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{51} 이 S인 폴리펩티드.
- [0678] 62. 실시양태 58에 있어서, X_{52} 가 L인 폴리펩티드.
- [0679] 63. 실시양태 58에 있어서, X_{53} 이 P인 폴리펩티드.
- [0680] 64. 실시양태 58, 59 및 61 내지 63 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{54} 가 H인 폴리펩티드.
- [0681] 65. 실시양태 58 내지 64 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{55} 가 Q인 폴리펩티드.
- [0682] 66. 실시양태 58에 있어서, X_{56} 이 G인 폴리펩티드.
- [0683] 67. 실시양태 58 내지 66 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{57} 이 K인 폴리펩티드.
- [0684] 68. 실시양태 58 내지 67 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{58} 이 A인 폴리펩티드.

- [0685] 69. 실시양태 58 내지 68 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{59} 가 N인 폴리펩티드.
- [0686] 70. 실시양태 58에 있어서, BC 루프가 서열 7, 11-21, 23-31, 34 및 36-38로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0687] 71. 실시양태 70에 있어서, BC 루프가 서열 34에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0688] 72. 실시양태 58 내지 71 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프가 화학식 $G-R-G-X_{60}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 이 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V인 폴리펩티드.
- [0689] 73. 실시양태 72에 있어서, X_{60} 이 C, E, I, L, M, Q, T 및 V인 폴리펩티드.
- [0690] 74. 실시양태 73에 있어서, X_{60} 이 C, E, I, L, M 및 V인 폴리펩티드.
- [0691] 75. 실시양태 72 내지 74 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{60} 이 V인 폴리펩티드.
- [0692] 76. 실시양태 58 내지 75 중 어느 한 실시양태에 있어서, DE 루프가 서열 39 및 42로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0693] 77. 실시양태 76에 있어서, DE 루프가 서열 39에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0694] 78. 실시양태 58 내지 77 중 어느 한 실시양태에 있어서, FG 루프가 화학식 $X_{61}-X_{62}-X_{63}-X_{64}-X_{65}-X_{66}-X_{67}-X_{68}-X_{69}-X_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0695] (a) X_{61} 이 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0696] (b) X_{62} 가 A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0697] (c) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0698] (d) X_{64} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0699] (e) X_{65} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0700] (f) X_{66} 이 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0701] (g) X_{67} 이 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0702] (h) X_{68} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0703] (i) X_{69} 가 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0704] (j) X_{70} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0705] 79. 실시양태 78에 있어서,
- [0706] (a) X_{61} 이 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0707] (b) X_{62} 가 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0708] (c) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0709] (d) X_{64} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0710] (e) X_{65} 가 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0711] (f) X_{66} 이 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0712] (g) X_{67} 이 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0713] (h) X_{68} 이 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0714] (i) X_{69} 가 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0715] (j) X_{70} 이 A, C, D, E, G, H, K, L, M, N, P, Q, R, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0716] 80. 실시양태 79에 있어서,
- [0717] (a) X_{61} 이 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0718] (b) X_{62} 가 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0719] (c) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0720] (d) X_{64} 가 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0721] (e) X_{65} 가 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0722] (f) X_{66} 이 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0723] (g) X_{67} 이 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0724] (h) X_{68} 이 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0725] (i) X_{69} 가 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0726] (j) X_{70} 이 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0727] 81. 실시양태 78 내지 80 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{61} 이 V인 폴리펩티드.
- [0728] 82. 실시양태 78 내지 81 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{62} 가 T인 폴리펩티드.
- [0729] 83. 실시양태 78 내지 82 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{63} 이 D인 폴리펩티드.
- [0730] 84. 실시양태 78 내지 83 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{64} 가 T인 폴리펩티드.
- [0731] 85. 실시양태 78 내지 84 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{65} 가 G인 폴리펩티드.
- [0732] 86. 실시양태 78 내지 85 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{66} 이 Y인 폴리펩티드.
- [0733] 87. 실시양태 78 내지 86 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{67} 이 L인 폴리펩티드.
- [0734] 88. 실시양태 78 내지 87 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{68} 이 K인 폴리펩티드.
- [0735] 89. 실시양태 78 내지 88 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{69} 가 Y인 폴리펩티드.
- [0736] 90. 실시양태 78 내지 89 중 어느 한 실시양태에 있어서, X_{70} 이 K인 폴리펩티드.
- [0737] 91. 실시양태 1 또는 2에 있어서,
- [0738] (a) BC 루프가 화학식 $X_{51}-X_{52}-X_{53}-X_{54}-X_{55}-X_{56}-X_{57}-X_{58}-X_{59}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0739] (i) X_{51} 이 A, C, D, F, H, I, K, L, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0740] (ii) X_{52} 가 L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0741] (iii) X_{53} 이 A, C, D, E, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0742] (iv) X_{54} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고;
- [0743] (v) X_{55} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0744] (vi) X_{56} 이 G 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0745] (vii) X_{57} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고;
- [0746] (viii) X_{58} 이 A, C, G, L, M, S 및 T이고;
- [0747] (ix) X_{59} 가 A, C, F, H, N, P, Q, R, S 및 Y이고;
- [0748] (b) DE 루프가 화학식 $G-R-G-X_{30}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 X_{60} 이 A, C, D, E, F, I, K, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0749] (c) FG 루프가 화학식 $X_{61}-X_{62}-X_{63}-X_{64}-X_{65}-X_{66}-X_{67}-X_{68}-X_{69}-X_{70}$ 에 따른 아미노산 서열을 포함하며, 여기서
- [0750] (i) X_{61} 이 A, C, F, I, L, M, Q, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0751] (ii) X_{62} 가 A, C, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고;
- [0752] (iii) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0753] (iv) X_{64} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0754] (v) X_{65} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0755] (vi) X_{66} 이 A, C, F, H, I, L, M, N, P, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0756] (vii) X_{67} 이 A, C, E, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0757] (viii) X_{68} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0758] (ix) X_{69} 가 F, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0759] (x) X_{70} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0760] 92. 실시양태 91에 있어서,
- [0761] (a) (i) X_{51} 이 C, F, I, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0762] (ii) X_{52} 가 L이고;
- [0763] (iii) X_{53} 이 P이고;
- [0764] (iv) X_{54} 가 C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0765] (v) X_{55} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0766] (vi) X_{56} 이 G이고;

- [0767] (vii) X_{57} 이 A, C, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0768] (viii) X_{58} 이 A, G, L, M 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0769] (ix) X_{59} 가 C, H, N, Q, S 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0770] (b) X_{60} 이 C, E, I, L, M, Q, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0771] (c) (i) X_{61} 이 A, C, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0772] (ii) X_{62} 가 C, F, H, I, L, M, Q, R, S, T, V, W 및 Y이고;
- [0773] (iii) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, P, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0774] (iv) X_{64} 가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0775] (v) X_{65} 가 A, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0776] (vi) X_{66} 이 C, F, I, L, M, P, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0777] (vii) X_{67} 이 C, F, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0778] (viii) X_{68} 이 A, C, E, F, G, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0779] (ix) X_{69} 가 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0780] (x) X_{70} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.
- [0781] 93. 실시양태 92에 있어서,
- [0782] (a) (i) X_{51} 이 F, S 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0783] (ii) X_{52} 가 L이고;
- [0784] (iii) X_{53} 이 P이고;
- [0785] (iv) X_{54} 가 C, F, G, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0786] (v) X_{55} 가 A, C, E, F, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0787] (vi) X_{56} 이 G이고;
- [0788] (vii) X_{57} 이 A, C, H, K, L, M, N, R, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0789] (viii) X_{58} 이 A, G 및 L로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0790] (ix) X_{59} 가 H, N 및 Q로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0791] (b) X_{60} 이 C, E, I, L, M 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0792] (c) (i) X_{61} 이 I 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0793] (ii) X_{62} 가 C, F, I, L, M, T, V, W 및 Y이고;
- [0794] (iii) X_{63} 이 A, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, Q, S, T 및 V로 이루어진 군으로부터 선택되고;

- [0795] (iv) X_{64} 가 A, C, D, F, G, I, L, M, N, Q, S, T, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0796] (v) X_{65} 가 A, G, S, T 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0797] (vi) X_{66} 이 F, I, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0798] (vii) X_{67} 이 F, H, I, L, M, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0799] (viii) X_{68} 이 A, C, F, G, I, K, L, M, T, V 및 W로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0800] (ix) X_{69} 가 W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0801] (x) X_{70} 이 A, G, K, L, M, P, Q 및 R로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 폴리펩티드.

[0802] 94. 실시양태 92에 있어서,

- [0803] (a) (i) X_{51} 이 S이고;
- [0804] (ii) X_{52} 가 L이고;
- [0805] (iii) X_{53} 이 P이고;
- [0806] (iv) X_{54} 가 H이고;
- [0807] (v) X_{55} 가 Q이고;
- [0808] (vi) X_{56} 이 G이고;
- [0809] (vii) X_{57} 이 K이고;
- [0810] (viii) X_{58} 이 A이고;
- [0811] (ix) X_{59} 가 N이고;
- [0812] (b) X_{60} 이 V이고;
- [0813] (c) (i) X_{61} 이 V이고;
- [0814] (ii) X_{62} 가 T이고;
- [0815] (iii) X_{63} 이 D이고;
- [0816] (iv) X_{64} 가 T이고;
- [0817] (v) X_{65} 가 G이고;
- [0818] (vi) X_{66} 이 Y이고;
- [0819] (vii) X_{67} 이 L이고;
- [0820] (viii) X_{68} 이 K이고;
- [0821] (ix) X_{69} 가 Y이고;
- [0822] (x) X_{70} 이 K인 폴리펩티드.

[0823] 95. 실시양태 1 또는 2에 있어서, 서열 118, 273, 281 또는 331의 비-BC, DE 및 FG 루프 영역에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.

[0824] 96. 실시양태 1 또는 2에 있어서, BC, DE 또는 FG 루프 아미노산 서열이 각각 서열 7-38, 39-45 및 46-79 중

어느 하나에 대해 적어도 80% 동일한 폴리펩티드.

- [0825] 97. 실시양태 1에 있어서, 서열 80-123, 228-239, 252-273, 281 및 331 중 어느 하나에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0826] 98. 실시양태 97에 있어서, 서열 331에 대해 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0827] 99. 실시양태 97에 있어서, 서열 273에 대해 적어도 80%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0828] 100. 실시양태 1에 있어서, 서열 80-123, 228-239, 252-273, 281 및 331로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0829] 101. 실시양태 100에 있어서, 서열 331에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0830] 102. 실시양태 101에 있어서, 서열 273에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.
- [0831] 103. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 미오스타틴 상의 애드넥틴 결합 부위가 불연속적인 폴리펩티드.
- [0832] 104. 실시양태 103에 있어서, 아미노산 56-66 내의 영역에 결합하는 폴리펩티드.
- [0833] 105. 실시양태 103에 있어서, 아미노산 85-101 내의 영역에 결합하는 폴리펩티드.
- [0834] 106. 실시양태 103에 있어서, 서열 3의 아미노산 85-101 및 56-66 내의 영역에 결합하는 폴리펩티드.
- [0835] 107. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 미오스타틴에의 결합에 대해 ActRIIB와 경쟁하지 않는 폴리펩티드.
- [0836] 108. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 미오스타틴에의 결합에 대해 ALK4 및/또는 ALK5와 경쟁하는 폴리펩티드.
- [0837] 109. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 폴리에틸렌 글리콜, 시알산, Fc, Fc 단편, 트랜스페린, 혈청 알부민, 혈청 알부민 결합 단백질 및 혈청 이뮤노글로불린 결합 단백질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 약동학적 (PK) 모이어티를 추가로 포함하는 폴리펩티드.
- [0838] 110. 실시양태 109에 있어서, PK 모이어티와 폴리펩티드가 적어도 하나의 디설피드 결합, 펩티드 결합, 폴리펩티드, 중합체성 당 또는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 통해 연결되는 것인 폴리펩티드.
- [0839] 111. 실시양태 109에 있어서, PK 모이어티와 폴리펩티드가 서열 181-227로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 링커를 통해 연결되는 것인 폴리펩티드.
- [0840] 112. 실시양태 109에 있어서, 혈청 알부민 결합 단백질이 피브로넥틴 유형 III 제10 도메인 (¹⁰Fn3)을 포함하는 것인 폴리펩티드.
- [0841] 113. 실시양태 109에 있어서, ¹⁰Fn3 도메인이 HSA에 결합하는 것인 폴리펩티드.
- [0842] 114. 실시양태 109에 있어서, PK 모이어티가 Fc인 폴리펩티드.
- [0843] 115. 실시양태 114에 있어서, Fc가 폴리펩티드의 N-말단에 있는 것인 폴리펩티드.
- [0844] 116. 실시양태 115에 있어서, Fc가 폴리펩티드의 C-말단에 있는 것인 폴리펩티드.
- [0845] 117. 실시양태 114 내지 116 중 어느 한 실시양태에 있어서, 이량체를 형성하는 폴리펩티드.
- [0846] 118. 실시양태 109에 있어서, PK 모이어티가 폴리에틸렌 글리콜인 폴리펩티드.
- [0847] 119. 상기 실시양태 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.
- [0848] 120. 실시양태 118에 있어서, 본질적으로 내독소-무함유인 조성물.
- [0849] 121. 실시양태 1 내지 116 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산 분자.
- [0850] 122. 실시양태 121에 있어서, 서열 124-167, 240-251 및 284-305로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 갖는 단

리된 핵산 분자.

- [0851] 123. 실시양태 1 내지 116 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터.
- [0852] 124. 실시양태 1 내지 115 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 세포.
- [0853] 125. 실시양태 124의 세포를 미오스타틴-결합 폴리펩티드를 발현시키는데 적합한 조건 하에서 배양하는 단계 및 폴리펩티드를 정제하는 단계를 포함하는, 미오스타틴-결합 폴리펩티드의 생산 방법.
- [0854] 126. 유효량의 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태에 따른 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 미오스타틴-관련 질환 또는 장애를 악화시키거나 억제하는 방법.
- [0855] 127. 실시양태 126에 있어서, 질환 또는 장애가 근육 이영양증, 근위축성 측삭 경화증, 울혈성 폐쇄성 폐 질환, 만성 심부전, 암, AIDS, 신부전, 만성 신장 질환, 요독증, 류마티스 관절염, 근육감소증, 장기간 요양으로 인한 근육 소모, 척수 손상, 졸중, 골절, 노화, 당뇨병, 비만, 고혈당증, 약액질, 골관절염, 골다공증, 심근경색 및 섬유증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0856] 128. 유효량의 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 근육의 변성 또는 소모와 연관된 장애를 악화시키거나 억제하는 방법.
- [0857] 129. 실시양태 128에 있어서, 장애가 근육 이영양증, 근위축성 측삭 경화증, 울혈성 폐쇄성 폐 질환, 만성 심부전, 암, AIDS, 약액질, 신부전, 만성 신장 질환, 요독증, 류마티스 관절염, 근육감소증, 장기간 요양으로 인한 근육 소모, 척수 손상, 외상성 손상, 졸중, 골절 및 노화로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [0858] 130. 실시양태 129에 있어서, 질환이 근육 이영양증인 방법.
- [0859] 131. 실시양태 128에 있어서, 대상체에 대한 폴리펩티드의 투여가 하기 생물학적 효과:
- [0860] (a) 근육 질량의 증가;
- [0861] (b) 근육 세포의 수의 증가;
- [0862] (c) 근육 세포의 크기의 증가; 및
- [0863] (d) 근육 강도의 증가
- [0864] 중 적어도 하나를 유발하는 것인 방법.
- [0865] 132. 유효량의 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 대사 장애를 악화시키거나 억제하는 방법.
- [0866] 133. 실시양태 132에 있어서, 대상체가 당뇨병, 고혈당증, 고인슐린혈증, 고지혈증, 인슐린 저항성, 글루코스 대사 장애, 비만 및 대사 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택된 질환 또는 장애를 가지는 것인 방법.
- [0867] 134. 실시양태 132에 있어서, 질환 또는 장애가 제II형 당뇨병인 방법.
- [0868] 135. 실시양태 134에 있어서, 당뇨병을 치료하기 위한 제2 치료 조성물의 투여를 추가로 포함하는 방법.
- [0869] 136. 실시양태 131 내지 135 중 어느 한 실시양태에 있어서, 대상체에 대한 폴리펩티드의 투여가 하기 생물학적 효과:
- [0870] (a) 인슐린 감수성의 증가;
- [0871] (b) 대상체에서 세포에 의한 글루코스 흡수의 증가;
- [0872] (c) 혈액 글루코스 수준의 감소; 및
- [0873] (d) 체지방의 감소
- [0874] 중 적어도 하나를 유발하는 것인 방법.
- [0875] 137. 유효량의 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 체지방 근육 질량을 증진시키는 방법.
- [0876] 138. 유효량의 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 또는 조성물을 투여하는 것을 포함하는,

대상체에서 지방 대비 제지방 근육 질량의 비를 증가시키는 방법.

139. 실시양태 1 내지 120 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드 또는 조성물 및 사용 지침서를 포함하는 키트.

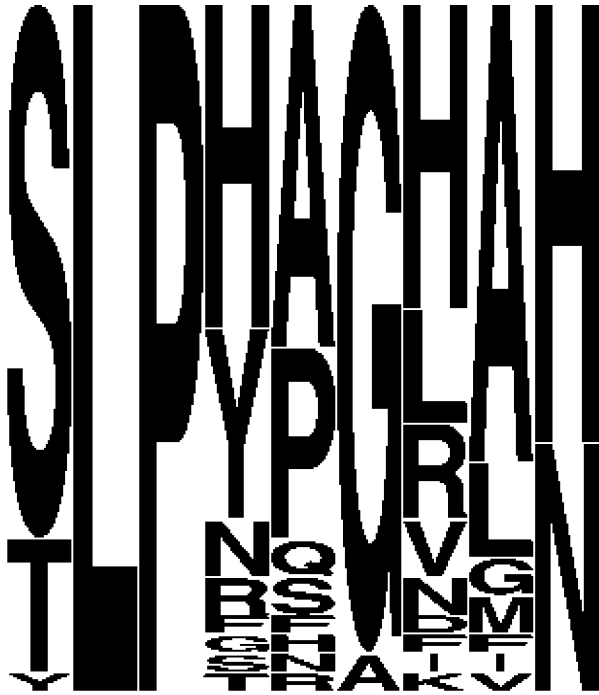
140. 샘플을 실시양태 1 내지 117 중 어느 한 실시양태의 폴리펩티드와 접촉시키는 단계 및 미오스타틴에 대한 폴리펩티드의 결합을 검출하거나 측정하는 단계를 포함하는, 샘플에서 미오스타틴을 검출하거나 측정하는 방법.

도면

도면1

1979_806 MCVSDVPROLEEVAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (80)
2062_602 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILYQDQNSHDEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (81)
2522_009 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILYQDQNLADISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (82)
2523_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (83)
2524_011 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (84)
2524_009 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (85)
2524_010 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (86)
2524_005 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (87)
2524_011 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (88)
2525_001 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (89)
2525_002 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (90)
2525_005 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (91)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (92)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (93)
2525_004 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (94)
2525_002 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (95)
2525_002 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (96)
2525_005 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (97)
2525_003 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (98)
2525_008 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (99)
2525_001 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (100)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (101)
2525_004 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (102)
2525_002 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (103)
2525_002 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (104)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (105)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (106)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (107)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (108)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (109)
2525_003 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (110)
2525_004 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (111)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (112)
2525_004 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (113)
2525_001 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (114)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (115)
2525_004 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (116)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (117)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (118)
2525_007 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (119)
2525_001 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (120)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (121)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (122)
2525_006 MCVSDVPROLEEVAAAPTSTLISWSLDPHAGSHAYHILTYGERTGNSPVQEFVY PGRGVTANTISGKRGVDYTTIYVAVTILRKSQI ENMEISINYTELIDRPSQNNNNH (4) (123)

도면2



도면3



도면4



도면5



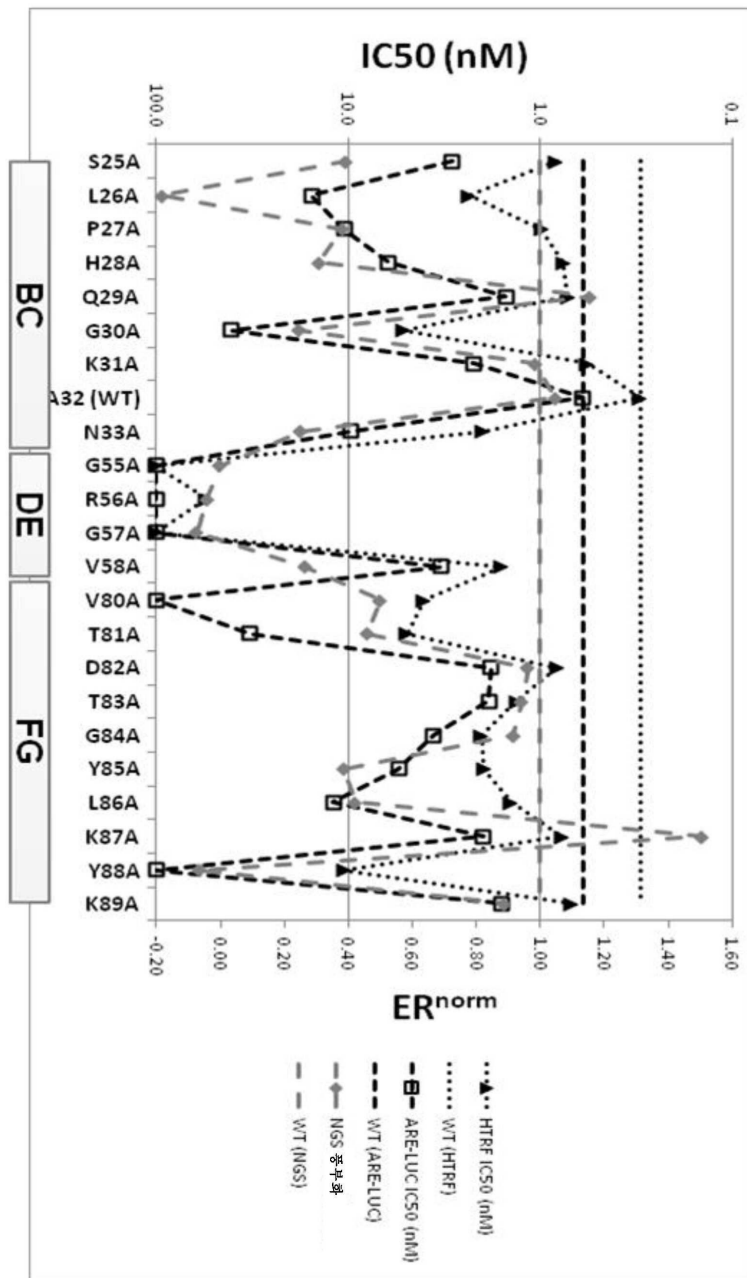
도면6



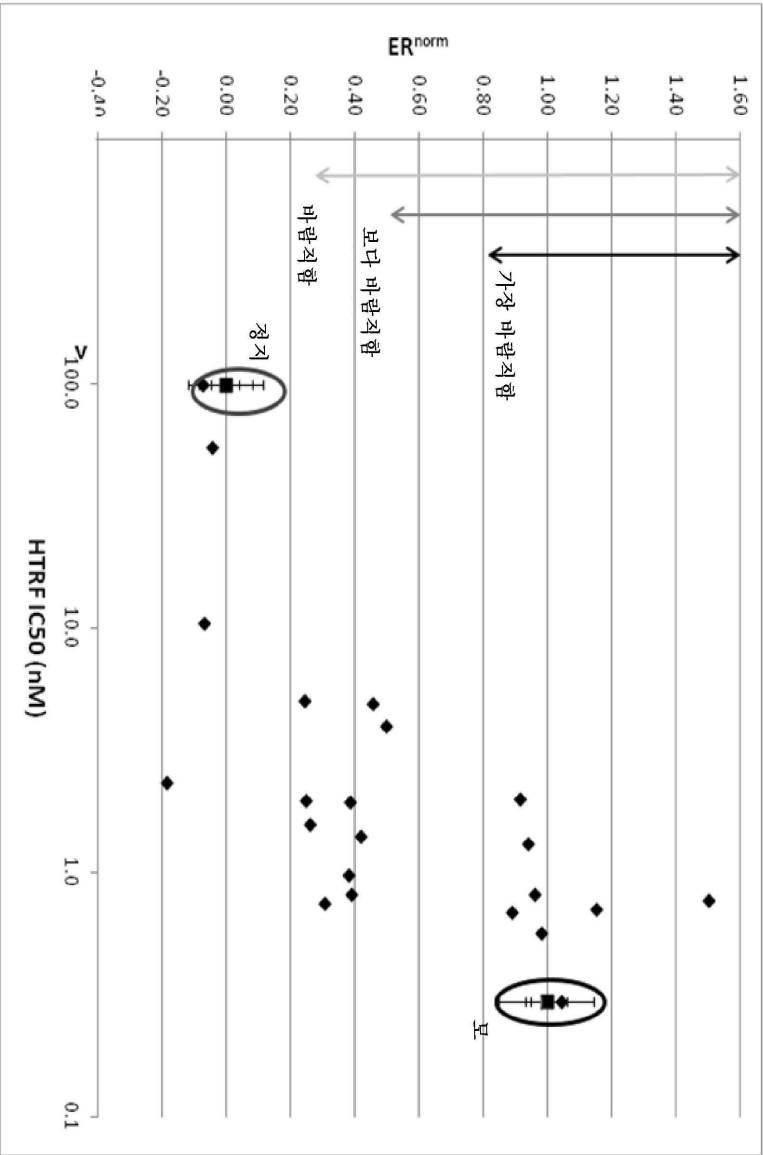
도면7



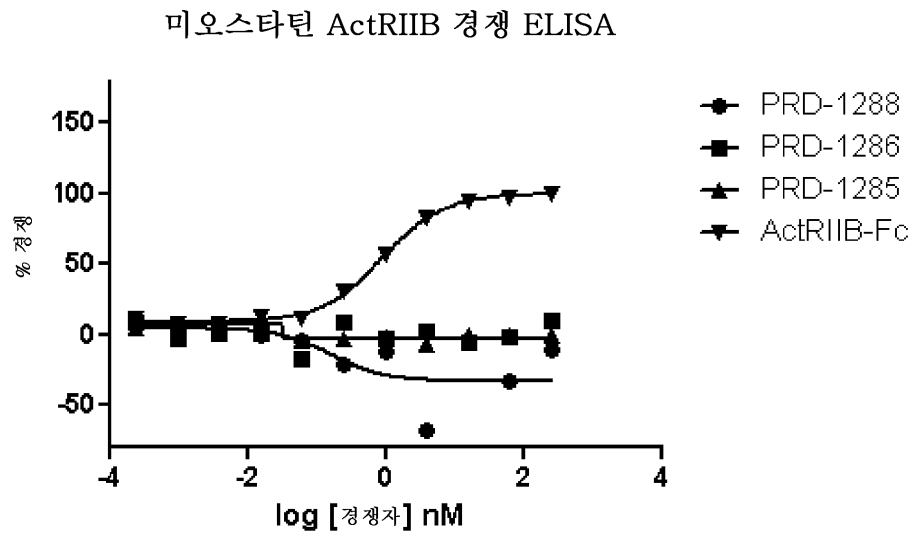
도면8



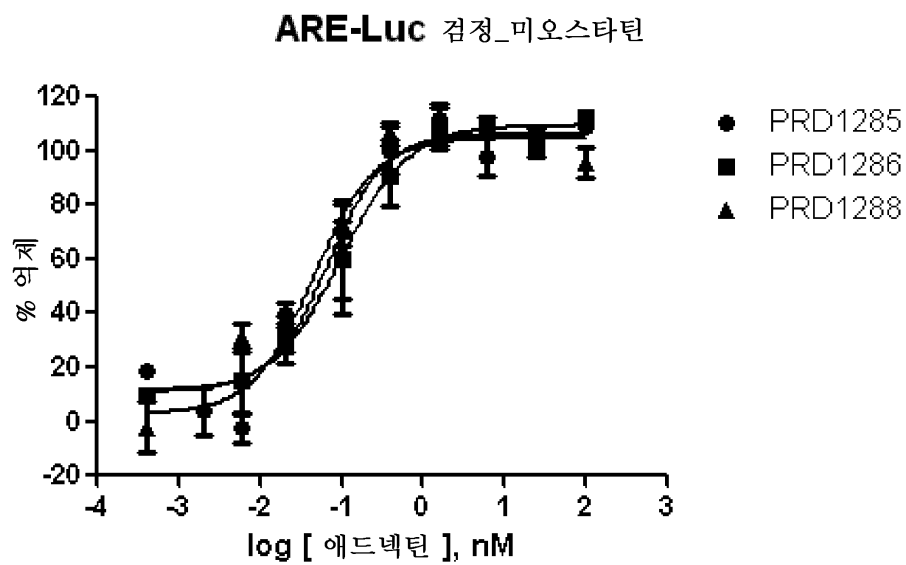
도면9



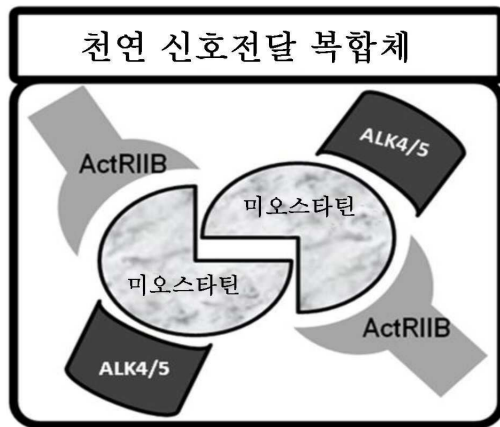
도면10



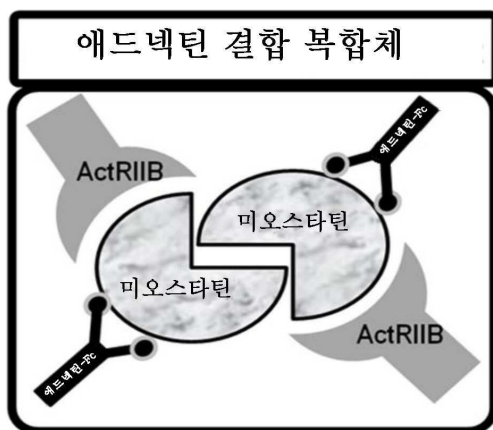
도면11



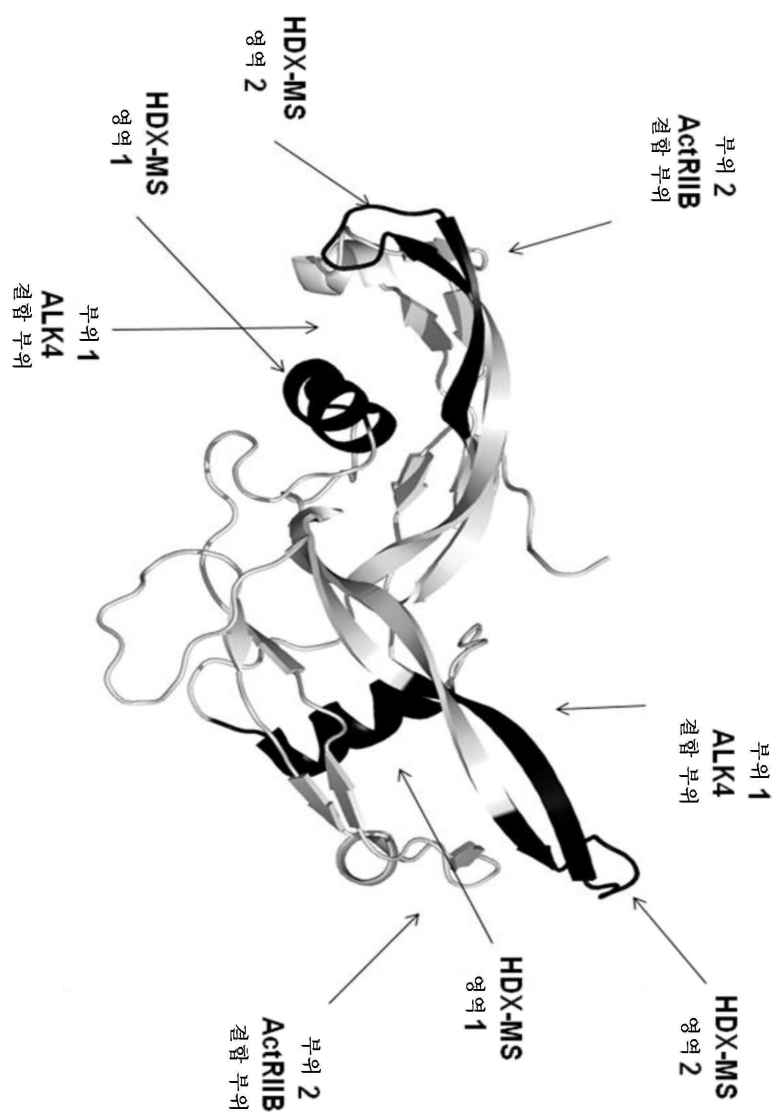
도면12a



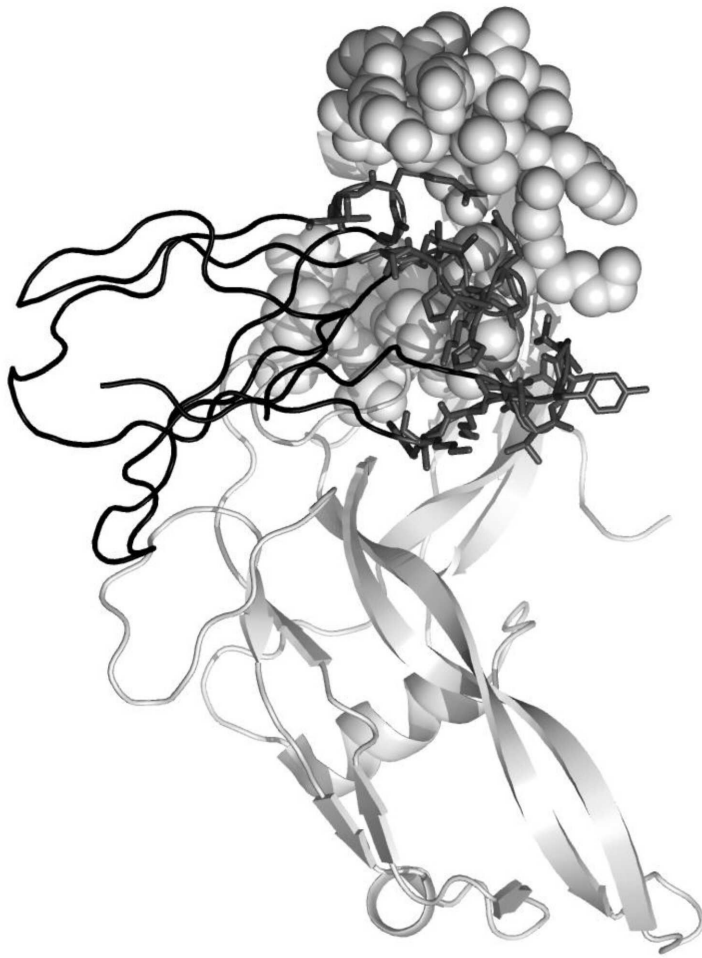
도면12b



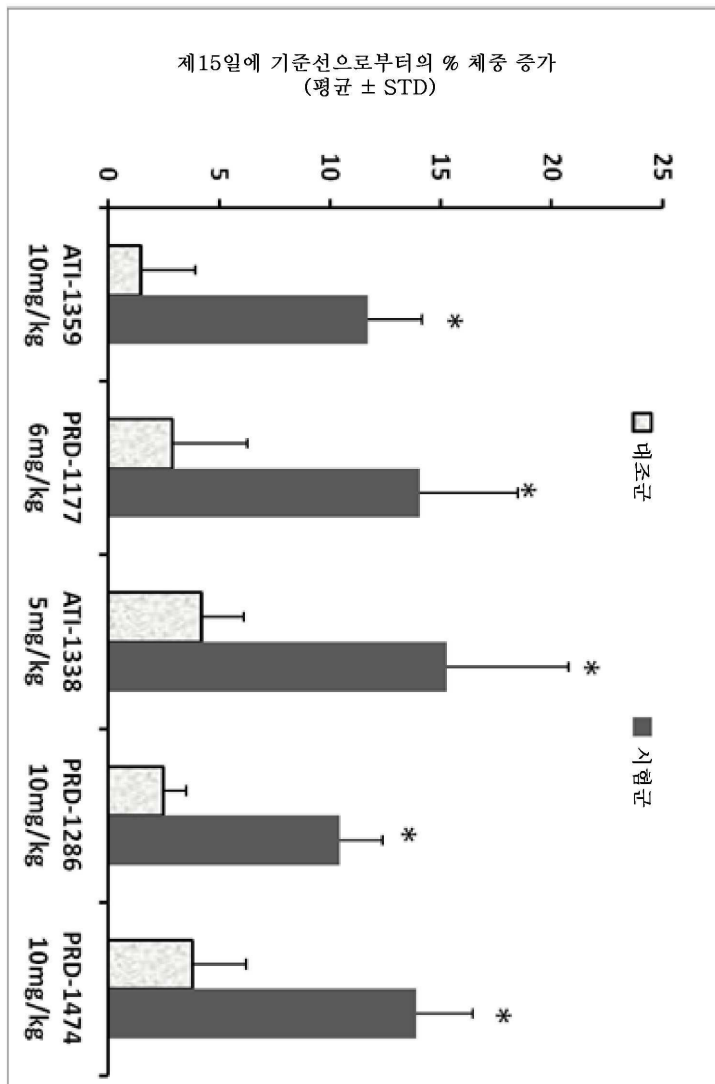
도면13a



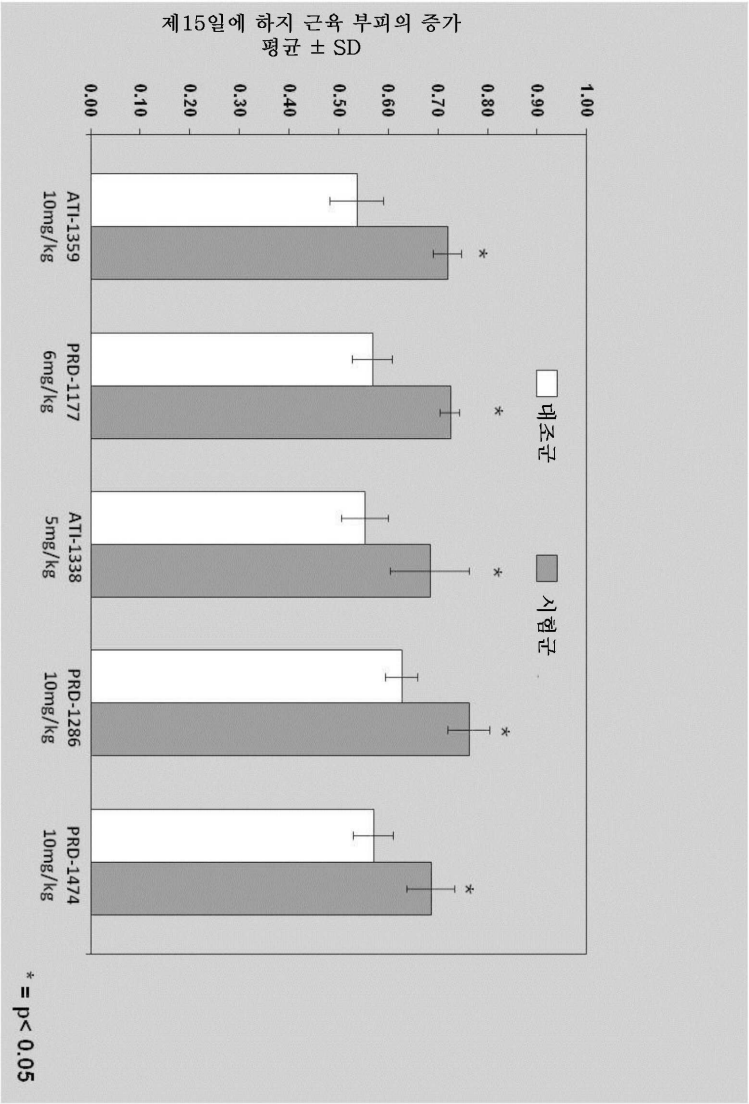
도면13b



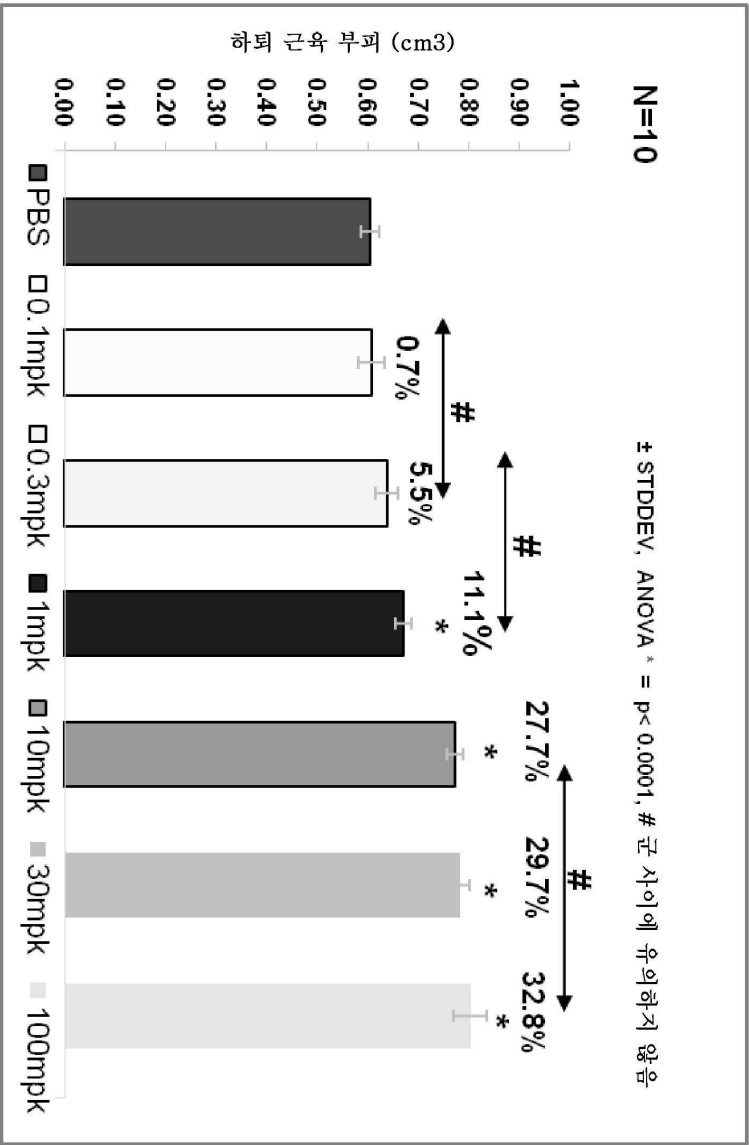
도면14



도면15



도면16



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> FIBRONECTIN BASED SCAFFOLD DOMAIN PROTEINS THAT BIND TO MYOSTATIN

<130> MXI-514PC

<150> US 61/780,005

<151> 2013-03-13

<150> US 61/700,697

<151> 2012-09-13

<160> 331

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val

85 90 95

Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His

100 105 110

Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu

115 120 125

Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu

165 170 175

Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu

180 185 190

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

195 200 205

Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys

245 250 255

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

260 265 270

Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val

275 280 285

Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr

290 295 300

Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys

305 310 315 320

Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala

325 330 335

Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr

340 345 350

Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val

355 360 365

Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser

370 375

<210> 2

<211> 352

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys

1 5 10 15

Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala

20 25 30

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

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

340 345 350
 <210> 3
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
 1 5 10 15
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
 20 25 30
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu
 35 40 45

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

<210>
 4
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe

35 40 45

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

50 55 60

Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Arg Gly Asp

65 70 75 80

Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90

<210> 5

<211> 157

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(21)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (26)..(45)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (54)..(73)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (79)..(98)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (102)..(121)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

```

<220><221> misc_feature
<222> (131)..(150)
<223>
> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid
<400> 5
Glu Val Val Ala Ala Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1          5          10          15
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Leu Leu Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          20          25          30
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Arg
          35          40          45
Ile Thr Tyr Gly Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

          50          55          60
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Glu Phe Thr Val Xaa Xaa
65          70          75          80
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          85          90          95
Xaa Xaa Ala Thr Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          100          105          110
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr

          115          120          125
Ala Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
          130          135          140
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
          145          150          155
<210> 6
<211> 118
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<220><221> misc_feature
<222> (13)..(32)

```

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (53)..(72)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (92)..(111)

<223> Xaa, if present, can be any naturally occurring amino acid

<400> 6

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

Glu Phe Thr Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro

65 70 75 80

Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ile

100 105 110

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

115

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Val Asn

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

Ser Trp Val Ser Pro Arg Gly Arg Ala Arg

1 5 10

<210> 9

<211>

> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

Ser Trp Glu Val Pro Arg Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

Ser Trp Trp Ala Pro Leu Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Leu Ala His

1 5 10

<210> 12

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 12
 Ser Trp Tyr Leu Pro Tyr Pro Ala His Met Asn
 1 5 10

<210> 13
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 13

Ser Trp Ser Leu Pro Phe Ala Gly His Leu Asn
 1 5 10
 <210> 14
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 14

Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ser Gly Leu Ala Asn
 1 5 10

<210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 15

Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Ala His
 1 5 10
 <210> 16
 <211> 11
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

Ser Trp Thr Leu Pro Asn Phe Gly Leu Ile Asn

1 5 10

<210> 17

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Synthetic

<400> 17

Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala His

1 5 10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Leu Asn

1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Ala His Met Asn

1 5 10

<210>

> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Pro Gly His Leu Asn

1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Ala His

1 5 10

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

Ser Trp Asp Ala Pro Gly Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

Ser Trp Ser Leu Pro Thr Pro Gly Leu Ala His

1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Ser Trp Ser Leu Pro His Arg Gly Val Ala Asn

1 5 10

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

Ser Trp Ser Leu Pro Ser Ser Gly Val Ala His

1 5 10

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

Ser Trp Ser Leu Pro His His Gly Phe Gly His

1 5 10

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly Asp Ala His

1 5 10

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Ser Trp Ser Leu Pro His Asn Gly Val Ala His

1 5 10

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

Ser Trp Ser Leu Pro Arg Gln Gly Leu Ala Asn

1 5 10

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

Ser Trp Ser Leu Pro Gly Pro Gly His Phe His

1 5 10

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

Ser Trp Ser Leu Pro His Pro Gly Leu Gly His

1 5 10

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

Ser Trp Asp Ala Pro Arg Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

Ser Trp Asp Ala Pro Ala Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys Ala Asn

1 5 10

<210> 35

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

Ser Trp Asp Ala Pro Lys Gly Leu Ala Arg

1 5 10

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Ile Ala His

1 5 10

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

Ser Trp Ser Leu Pro Arg Pro Gly Asn Ala His

1 5 10

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Asn Ala His

1 5 10

<210> 39

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

Pro Gly Arg Gly Val Thr

1 5

<210> 40

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Pro Gly Arg Gly Ser Thr

1 5

<210> 41

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

Leu Gly Arg Gly Ser Thr

1 5

<210> 42

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

Pro Gly Arg Gly Leu Thr

1 5

<210> 43

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

Ile Gly Arg Gly Ser Thr

1 5

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

Phe Gly Arg Gly Thr Thr

1 5

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

Val Gly Arg Gly Asn Thr

1 5

<210> 46

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

Thr Leu Thr Lys Ser Gln Met Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

Thr Ile Tyr Arg Asp Gly Met Ser His His Asp Pro

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

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

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

Thr Ile Phe Arg Thr Gly Met Val Gln Tyr Asp Pro

1 5 10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

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

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

Thr Leu Thr Lys Ser Gln Ile Leu His His Arg Pro

1 5 10

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Thr Leu Thr Arg Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

Thr Leu Thr His Ser Asn Ile Ile Arg Tyr Val Pro

1 5 10

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

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

1 5 10

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

Thr Ile Thr Lys Ser Thr Ile Ile Ile Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

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

1 5 10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

Thr Leu Thr Lys Ser Gln Leu Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Thr Leu Thr Arg Ser Gln Val Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

Thr Leu Thr Lys Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Thr Val Ser Ser Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

Thr Leu Thr Lys Ser Lys Val Ile His Tyr Met Pro

1 5 10

<210> 62

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 62

Thr Val Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 63

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

Thr Ile Asp Arg Asp Gly Val Asn His Phe Ala Pro

1 5 10

<210> 64

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

Thr Val Thr His His Gly Val Ile Gly Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

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

1 5 10

<210> 66

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

Thr Val Thr Asn Thr Gly Val Ile Ile Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 67

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

Thr Val Thr Ala Thr Gly Ile Ile Ile Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 68

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Thr Val Thr Arg Ala Gly Phe Tyr Arg Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 69

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

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

1 5 10

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

Thr Val Thr Ala Ala Gly Val Ile Ile Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

Thr Val Thr Ala Asn Gln Pro Ile Ile Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 72

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Thr Ile Thr Pro Glu Thr Ile Ile Val Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 73

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 73

Thr Ile Asp Arg Asp Gly Thr Arg Ser Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 74

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 74

Thr Ile Phe Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro

1 5 10

<210> 75

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 75

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

1 5 10

<210> 76

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 76

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

1 5 10

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 77

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

1 5 10

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 78

Thr Ile Phe Arg Asp Gly Val Val Asn Tyr Gly Pro

1 5 10

<210> 79

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 79

Thr Val Thr Asp Thr Gly Phe Ile Thr Tyr Lys Pro

1 5 10

<210> 80

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 80

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Val

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Gln Met Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 81

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 81

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

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

65 70 75 80
Arg Asp Gly Met Ser His His Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95
Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 82

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15
Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Glu Val Pro Arg Gly Leu Ala Arg
20 25 30
Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45
Glu Phe Thr Val Leu Gly Arg Gly Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60
Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Tyr
65 70 75 80

Arg Asp Gly Pro Leu Leu Leu Ala Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 83

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15
Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Trp Ala Pro Leu Gly Leu Ala Arg

20 25 30
Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

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

85 90 95
Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 84

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 84

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15
Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Leu Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Asn Ser Glu Ile Ile Leu Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 85

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Leu Pro Tyr Pro Ala His Met

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Leu Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Gln Ile Leu His His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 86

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 86

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Phe Ala Gly His Leu

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Arg Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 87

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ser Gly Leu Ala

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr His Ser Asn Ile Ile Arg Tyr Val Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 88

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 88

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ser Thr Lys Val Ile Val Tyr Leu Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 89

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro Asn Phe Gly Leu Ile

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 90

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65						70						75						80
Thr	Thr	Thr	Ser	Val	Ile	Leu	Tyr	Lys	Pro	Ile	Ser	Ile	Asn	Tyr	Arg			
85					90					95								
Thr	Glu	Ile	Asp	Lys	Pro	Ser	Gln	His	His	His	His	His	His					
100					105					110								
<210>	91																	
<211>	110																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220><223>	Synthetic																	
<400>	91																	
Met	Gly	Val	Ser	Asp	Val	Pro	Arg	Asp	Leu	Glu	Val	Val	Ala	Ala	Thr			
1	5				10					15								
Pro	Thr	Ser	Leu	Leu	Ile	Ser	Trp	Ser	Leu	Pro	Tyr	Ala	Gly	His	Leu			
20					25					30								
Asn	Tyr	Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Gly	Glu	Thr	Gly	Gly	Asn	Ser	Pro	Val			
35					40					45								
Gln	Glu	Phe	Thr	Val	Pro	Gly	Arg	Gly	Val	Thr	Ala	Thr	Ile	Ser	Gly			
50					55					60								
Leu	Lys	Pro	Gly	Val	Asp	Tyr	Thr	Ile	Thr	Val	Tyr	Ala	Val	Thr	Leu			
65	70				75					80								
Thr	Lys	Ser	Gln	Leu	Ile	His	Tyr	Met	Pro	Ile	Ser	Ile	Asn	Tyr	Arg			
85					90					95								
Thr	Glu	Ile	Asp	Lys	Pro	Ser	Gln	His	His	His	His	His	His					
100					105					110								
<210>	92																	
<211>	110																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220><223>	Synthetic																	
<400>	92																	
Met	Gly	Val	Ser	Asp	Val	Pro	Arg	Asp	Leu	Glu	Val	Val	Ala	Ala	Thr			

1 5 10 15
Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Ala His Met
 20 25 30

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

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
 100 105 110

<210> 93

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15
Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Ala
 20 25 30
His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

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

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

100 105 110

<210> 94

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Pro Gly His Leu

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 95

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 95

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60
Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Leu
65 70 75 80

Thr Arg Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 96

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 96

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Ala
20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly
50 55 60

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Leu
65 70 75 80

Thr Lys Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 97

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 97

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

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

65	70	75	80
Thr Arg Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg			
	85	90	95
Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His			
	100	105	110

<210> 98

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 98

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

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

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Leu
65 70 75 80

Thr Arg Ser Lys Ile Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 99

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 99

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ser Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 100

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 100

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
 1 5 10 15
 Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Ala
 20 25 30

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

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
 100 105 110

<210> 101

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 101

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
 1 5 10 15
 Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Ala
 20 25 30

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

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

100 105 110

<210> 102

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 102

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Pro Gly His Leu

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Lys Val Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 103

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 103

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ser Thr Lys Val Ile Val Tyr Leu Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 104

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 104

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Lys Val Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 105

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 105

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 106

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 106

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

Glu Phe Thr Val Ile Gly Arg Gly Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Asp
65 70 75 80

Arg Asp Gly Val Asn His Phe Ala Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 107

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 107

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Thr Pro Gly Leu Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly
50 55 60

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val
65 70 75 80

Thr His His Gly Val Ile Gly Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 108

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 108

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
 1 5 10 15
 Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Arg Gly Val Ala
 20 25 30

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

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
 100 105 110

<210> 109

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 109

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
 1 5 10 15
 Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Ser Ser Gly Val Ala
 20 25 30

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

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

100 105 110

<210> 110

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 110

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His His Gly Phe Gly

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 111

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 111

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly Asp Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Arg Ala Gly Phe Tyr Arg Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 112

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 112

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Asn Gly Val Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Arg Glu Glu Val Ile Ser Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 113

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 113

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

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

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

<210> 114

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 114

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

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

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val
65 70 75 80

Thr Ala Asn Gln Pro Ile Ile Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 115

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 115

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Pro Gly Leu Gly

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly
50 55 60

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile
65 70 75 80

Thr Pro Glu Thr Ile Ile Val Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105 110

<210> 116

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 116

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Arg Gly Leu Ala Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

Glu Phe Thr Val Phe Gly Arg Gly Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Asp
65 70 75 80

Arg Asp Gly Thr Arg Ser Phe Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 117

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 117

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Gly Leu Ala Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

Glu Phe Thr Val Val Gly Arg Gly Asn Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe
65 70 75 80

Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His

100 105

<210> 118

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 118

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys Ala

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Asp Thr Gly Tyr Leu Lys Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 119

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 119

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe

65 70 75 80

Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His

100 105

<210> 120

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic

<400> 120

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Ile Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Ser Asp Thr Ile Phe Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 121

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 121

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Arg Pro Gly Asn Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Lys Asp Val Ile Lys Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 122

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe
65 70 75 80

Arg Asp Gly Val Val Asn Tyr Gly Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
100 105

<210> 123

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Asn Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Asp Thr Gly Phe Ile Thr Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 124

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggctctctgcc gcatgctggt catgtgaact attaccgcat cacttacggc 120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctcgtg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgcactctg 240
actaaatctc agatgatcca ttacatgcca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 125

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggtttctcc gcgtggctcg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgcctg gtcgtggttc tacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatctac 240
cgtgacggta tgctcatca tgaccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300
ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 126

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 126

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggaagtgcc gcgtggccta gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgcttg gtcgtggttc tacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactgtgtac 240
cgtgacgggc cggtgcttct tgccccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300
ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 127

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 127

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggtgggcccc gctgggtctt gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
acaggaggca atagccctgt ccaggagtgc actgtgcctg gtcggggctc tacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc 240
cgtacgggca tggttcaata tgaccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300
ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 128

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 128

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggactctgcc gcatgctggt ctgcgact attaccgcat cacttacggc 120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctgtgg ttttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg 240
actaattctg agattatcct ttacaagcca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 129

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 129

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggtacctccc gtatctgcg catatgaact attaccgcat cacttacggc 120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggcgggg tctgacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg 240

acaaaatctc agattctcca tcataggcca atttccatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 130

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 130

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtcattgcc gtttctgtgt catttgaact attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggtcgtgg gtttacagct 180

accatcagcg gccttaaac tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg 240

actcgtcta agattattca ttatatgcca atttccatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 131

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 131

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc ttattctggc ctgccaact attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggtcgtgg gtttacagct 180

actatcagcg gccttaaac tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg 240

actcactcta atataattcg atacgtgcca atttccatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 132

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 132

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggiccctacc gcatgcgggt catgcgcact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggtcgtgg agttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactgtg	240
tctagtacaa aggtgatagt ttacctgcca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330
<210> 133	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 133	
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggactttgcc gaatttcggt cttattaatt attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggtcgtgg ttttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactatc	240
accaaactca ctatcatcat ttacaagcca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330
<210> 134	
<211> 330	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 134	
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggactttgcc gcatgctggt cgtgcgcact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctgggcgggg ttttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactgtg	240
acgacaactt cggatgatcct ttacaagcca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330
<210> 135	
<211> 330	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 135

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtctcttcc ttatgctggt catctaaact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgtgacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg	240
actaagtctc agctgatata ttacatgcca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 136

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 136

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtctctgcc gtatgctgct cacatgaact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactttg	240
actagatcac aggtgattca ttacatgcca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 137

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 137

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg	60
ctgattagct ggtcactgcc gcatgcaggt catgcacatt attatcgtat tacctatggt	120
gaaaccgggtg gtaatagtcc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca	180
accattagcg gtctgaaacc ggggtttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg	240
accaaagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatgcac cgaaattgat	300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 138

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 138

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggtcactgcc gtatccgggt catctgaatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtcc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc ggggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accaaaagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 139

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 139

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggaccctgcc gcatgcaggt cgtgcacatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtcc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc ggggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accgcagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 140

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 140

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggtcactgcc gtatgcaggt catgcacatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc ggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtcgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accaaaagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 141

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 141

atgggtgtta gtgatgttc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggctactgcc gcatgcaggt catgcacatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc ggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtcgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accgcagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 142

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 142

atgggtgtta gtgatgttc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggctactgcc gtatccgggt catctgaatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc ggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtcgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accgcagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 143

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 143

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg	60
ctgattagct ggaccctgcc gcatgcaggt cgtgcacatt attatcgtat tacctatggt	120
gaaaccggtg gtaatagtcg gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca	180

accattagcg gtcgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccgtt	240
agcagcacca aagtgattca ttataaacgg attagcatta attatcgac cgaaattgat	300
aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat	330

<210> 144

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 144

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg	60
ctgattagct ggtcactgcc gtatgcaggt catgcacatt attatcgtat tacctatggt	120
gaaaccggtg gtaatagtcg gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca	180

accattagcg gtcgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg	240
acccgcagca aaattattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat	300
aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat	330

<210> 145

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 145

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg	60
ctgattagct ggtcactgcc gcatgcaggt catgcacatt attatcgtat tacctatggt	120
gaaaccggtg gtaatagtcg gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca	180

accattagcg gtcgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg	240
acaaaaagca aagtgattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat	300
aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat	330

<210> 146

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 146

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggtcactgcc gtatccgggt catctgaatt attatcgtat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accaaagca aagtatttca ttatatgccg attagcatta attatgcac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 147

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 147

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggaccctgcc gcatgcaggc cgtgcacatt attatcgtat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccgtt 240

agcagcacca aagtatttgt ttatctgccg attagcatta attatgcac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 148

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 148

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggtcactgcc gtatgcaggc catgcacatt attatcgtat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc ggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccctg 240

accaaaagca aagtgattca ttatatgccg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 149

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 149

atgggtgtta gtgatgttc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60

ctgattagct ggaccctgcc gcatgcaggt cgtgcacatt attatcgat tacctatggt 120

gaaaccggtg gtaatagtc ggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180

accattagcg gtctgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccgtt 240

accaccacca aagtgattca ttataaacgg attagcatta attatcgac cgaaattgat 300

aaaccgagcc agcatcatca tcaccatcat 330

<210> 150

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 150

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct gggacgctcc ggggtggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120

acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgatcg gtcgtggtag cacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcgac 240

cgtgacggtg tcaaccactt cgcccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300

ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 151

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 151

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggctctctgcc gactccaggt ctgcgccatt attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg tgttacagct	180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc	240
actcatcagc gcgtcatcgg ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 152

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 152

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtctctgcc gcaccgtggt gtcgccaatt attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg tgttacagct	180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctc	240
actggagcga acgtcatcat ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 153

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 153

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtctctgcc gagcagcggg gtcgccatt attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg tgttacagct	180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc	240
actaactg gtgtcatcat ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 154

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 154

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gcatacagggt ttggccatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg ttttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc 240

actgctacgg ggatcatcat ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 155

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 155

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gcacgccggt gacgccatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg ttttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtt 240

actagagcgg gtttctaccg ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 156

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 156

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gcataatggt gtcgccatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc 240

actcgggagg aagtcacag ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 157

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 157

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggctctgcc gcgtcagggt ctgccaatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc 240

actgctgctg gggtcacat ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 158

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 158

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggctctgcc gggaccgggt cacttcatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtc 240

actgctaacc agcccatcat ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 159

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 159

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggctctctgcc gcaccccggt ctcgccatt attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctgtgg tggtacagct	180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactatc	240
actccggaac cgatcatcgt ctacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac	300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac	330

<210> 160

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 160

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct gggacgctcc gagaggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa	120
acaggaggca atagccctgt ccaggagtgc actgtgttcg gtcgtggtac cacagctacc	180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcgac	240
cgtagcggta cccgcagctt cgaccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa	300
ccatcccagc accatcacca ccaccac	327

<210> 161

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 161

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct gggacgctcc ggctgggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa	120
acaggaggca atagccctgt ccaggagtgc actgtggtcg gtcgtggtac cacagctacc	180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc	240
cgtagcggtc ccgtcacctg ggaccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa	300
ccatcccagc accatcacca ccaccac	327

<210> 162

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 162

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gcaccaaggt aaagccaatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtt 240

actgatacag ggtacctcaa gtacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 163

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 163

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct gggacgtccc gaagggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120

acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtggtcg gtcgttggtaa cacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc 240

cgtgacggtc ccgtcacctg ggaccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300

ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 164

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 164

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gaatcccgtt atcgccatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctc 240

actggcagtg acaccatctt ctacaaacca atttccatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 165

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 165

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggctctctgcc gcggccgggt aacgccatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtt 240

actggcaaag atgtcatcaa gtacaaacca atttccatta attaccgcac agaaattgac 300

aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 166

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 166

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct gggacgctcc ggctggctcg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120

acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtggtcg gtcgtggtaa cacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cggttgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc 240

cgtgacgggtg tcgtcaacta cggcccaatt tccattaatt accgcacaga aattgacaaa 300

ccatcccagc accatcacca ccaccac 327

<210> 167

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 167

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggictctgcc gaatccgggt aacgccatt attaccgcat cacttacggc 120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggtcgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactgtt 240
actgacacag gtttcatcac gtacaaacca atttcatta attaccgcac agaaattgac 300
aaaccatccc agcaccatca ccaccaccac 330

<210> 168

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 168

Ile Asn Tyr Arg Thr

1 5

<210> 169

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 169

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Lys
225
<210> 170
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 170
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
<210> 171
<211> 24
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 171

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

20

<210> 172

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 172

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser

20

<210> 173

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 173

Glu Pro Lys Ser Ser Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser

20

<210> 174

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 174

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

1 5 10 15

Gly Pro Ser

<210> 175

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 175

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

1 5 10 15

Gly Ser Ser

<210> 176

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 176

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
225	230	235
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	
<210> 177		
<211> 20		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 177

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly
 20

<210> 178

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 178

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 1 5 10 15
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 20 25 30
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 35 40 45
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 50 55 60
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 65 70 75 80
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 85 90 95
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 100 105 110
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 115 120 125
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

180 185 190

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

195 200 205

<210> 179

<211> 206

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 179

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

1 5 10 15

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

115 120 125

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 195 200 205

<210> 180
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 180

Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

<210> 181
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 181

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 182
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 182

Glu Pro Lys Ser Ser Asp
 1 5

<210> 183

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 183

Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala Gln Pro Gln

1 5 10 15

Ala Glu Gly Leu Ala

20

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Synthetic

<400> 184

Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu Leu

1 5 10 15

Asp

<210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 185

Gly Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser

1 5

<210> 186

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 186

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

1 5 10

<210> 187

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 187

Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu Leu

1 5 10 15

Glu

<210> 188

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 188

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 189

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 189

Gly Ser Gly Cys

1

<210> 190

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 190

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 191

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 191

Gly Ser Gly Ser

1

<210> 192

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 192

Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser

1 5

<210> 193

<211>

6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 193

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 194

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 194

Thr Val Ala Ala Pro Ser

1 5

<210> 195

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 195

Lys Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 196

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 196

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 197

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 197

Lys Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser

1 5

<210> 198

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 198

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

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 199

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 199

Lys Thr Val Ala Ala Pro Ser

1 5

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 200

Lys Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 201

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 201

Lys Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 202

Lys Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 203

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 203

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

1 5 10 15

Leu Asp Gly

<210> 204

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 204

Lys Thr Val Ala Ala Pro Ser Gly

1 5

<210> 205

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 205

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 206

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 206

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210>

207

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 207

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

1 5 10

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 208

Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 209

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 209

Thr Val Ala Ala Pro Ser Gly

1 5

<210> 210

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 210

Pro Ser Thr Ser Thr Ser Thr

1 5

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 211

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln

1 5

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 212

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 213

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 213

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 214

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 214

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

1 5 10

<210> 215

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 215

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

1 5 10

<210> 216

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 216

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

1 5 10

<210> 217

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 217

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

1 5 10 15

<210>

> 218

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 218

Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu

1 5 10 15

<210> 219

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 219

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Ser Glu

1 5

<210> 220

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 220

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser

35

<210> 221

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 221

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 222

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 222

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

1 5 10 15

<210> 223

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 223

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly

1 5

<210> 224

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 224

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly

1 5 10

<210> 225

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 225

Pro Ala Pro Ala Pro Ala

1 5

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 226

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala

1 5 10

<210> 227

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 227

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala

1 5 10 15

Pro Ala

<210> 228

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 228

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Val Ser Pro Arg Gly Arg Ala Arg

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Tyr

65 70 75 80

Arg Asp Gly Met Ser His His Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100 105

<210> 229

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 229

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Ala Gly His Val

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Gln Met Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100 105

<210> 230

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 230

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80
 Thr Thr Thr Ser Val Ile Leu Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
 85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His
 100 105

<210> 231

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 231

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15
 Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Leu Pro Tyr Pro Ala His Met
 20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val
 35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Leu Thr Ala Thr Ile Ser Gly
 50 55 60

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

65 70 75 80
 Thr Lys Ser Gln Ile Leu His His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
 85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His
 100 105

<210> 232

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 232

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Leu

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Lys Ser Gln Leu Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100 105

<210> 233

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 233

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100

105

<210> 234

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 234

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala

20 25 30

His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100

105

<210> 235

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 235

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35

40

45

Glu Phe Thr Val Phe Gly Arg Gly Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu

50

55

60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Asp

65

70

75

80

Arg Asp Gly Thr Arg Ser Phe Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85

90

95

Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100

105

<210> 236

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 236

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1

5

10

15

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

20

25

30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35

40

45

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

50

55

60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe

65

70

75

80

Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85

90

95

Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100

105

<210> 237

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 237

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

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe
 65 70 75 80
 Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
 85 90 95
 Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His
 100 105

<210> 238

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 238

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

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

65 70 75 80

Thr Asp Thr Gly Phe Ile Thr Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100 105

<210> 239

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 239

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr

1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys Ala

20 25 30

Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

35 40 45

Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Asp Thr Gly Tyr Leu Lys Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg

85 90 95

Thr Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

100 105

<210> 240

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 240

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct gggttttctcc gcgtggctgt gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa	120
acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgcctg gtcgtgggtt tacagctacc	180
atcagcggcc ttaaacctgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactatctac	240
cgtgacggta tgtctcatca tgaccaatt tccattaatt accgcacagg tagcggttgc	300
caccatcacc accatcac	318
<210> 241	
<211> 321	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 241	
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtctctgcc gcatgctggt catgtgaact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctgtgg tgttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactctg	240
actaaatctc agatgatcca ttacatgcca atttcatta attaccgcac aggtacgggt	300
tgccaccatc accaccatca c	321
<210> 242	
<211> 324	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic	
<400> 242	
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggactttgcc gcatgctggt cgtgcgcact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctgggcgggg tgttacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactgtg	240
acgacaactt cggtgatcct ttacaagcca atttcatta attaccgcac agaaggtagc	300
ggttgccacc atcaccacca tcac	324
<210> 243	
<211> 324	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 243

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggtacctccc gtatcctgcg catatgaact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctgggcgggg tctgacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg	240
acaaaatctc agattctcca tcataggcca atttcatta attaccgcac agaaggtagc	300
ggttgccacc atcaccacca tcac	324

<210> 244

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 244

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg	60
ctgatcagct ggctctctcc ttatgctggt catctaaact attaccgcat cacttacggc	120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgc ctggctgtgg tgtgacagct	180
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactctg	240
actaagtctc agctgatata ttacatgcca atttcatta attaccgcac agaaggtagc	300
ggttgccacc atcaccacca tcac	324

<210> 245

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 245

atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagtgttg cagcaacccc gaccagcctg	60
ctgattagct ggacctgcc gcattgcagg cgtgcacatt attatcgtat tacctatggt	120
gaaaccggtg gtaatagtc gggtcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca	180
accattagcg gtctgaaacc gggtgttgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccgtt	240

accaccacca aagtgattca ttataaacg atttccatta attaccgcac agaaggtagc 300
 gggtgccacc atcaccacca tcac 324
 <210> 246
 <211> 306
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 246
 atgggtgtta gtgatgttcc gcgtgatctg gaagttgttg cagcaacccc gaccagcctg 60
 ctgattagct ggaccctgcc gcatgcaggt cgtgcacatt attatcgtat tacctatggt 120
 gaaaccggtg gtaatatgcc gggttcaggaa ttcaccgttc cgggtcgtgg tgttaccgca 180
 accattagcg gtctgaaacc ggggtgtgat tacaccatta ccgtttatgc agttaccgtt 240
 accaccacca aagtgattca ttataaacg atttccatta attaccgaac agaaggtagc 300
 gggtgc 306
 <210> 247
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 247
 atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
 ctgatcagct gggacgtcc gagaggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
 acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgttcg gtcgtggtac cacagctacc 180
 atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcgac 240
 cgtgacggta cccgcagctt cgacceatt tccattaatt accgcacaga aggtagcgg 300
 tgccaccatc accaccatca c 321
 <210> 248
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 248
 atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct gggacgctcc ggctggctctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtggctg gtcgtggttaa cacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc 240
cgtgacggtc ccgtcacctg ggaccaatt tccattaatt accgcacaga aggtagcggc 300
tgccaccatc accacatca c 321

<210> 249
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 249

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggacgctcc gaagggtctg gctcgatatt accgcatcac ttacggcgaa 120
acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtggctg gtcgtggttaa cacagctacc 180

atcagcggcc ttaaacctgg cggtgattat accatcactg tgtatgctgt cactatcttc 240
cgtgacggtc ccgtcacctg ggaccaatt tccattaatt accgcacaga aggtagcggc 300
tgccaccatc accacatca c 321

<210> 250
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 250

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct ggtctctgcc gaatccgggt aacgccatt attaccgat cacttacggc 120
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaac tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtt 240
actgacacag gtttcatcac gtacaaacca atttcatta attaccgcac agaaggtagc 300
ggttgccacc atcaccacca tcac 324

<210> 251
<211> 324
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 251

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60

ctgatcagct ggtctctgcc gcaccaaggt aaagccaatt attaccgcat cacttacggc 120

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgc ctggctgtgg tgttacagct 180

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactgtt 240

actgatacag ggtacctcaa gtacaaacca atttccatta attaccgcac agaaggtagc 300

ggttgccacc atcaccacca tcac 324

<210> 252

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Synthetic

<400> 252

Glu Pro Lys Ser Ser Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Val

225 230 235 240
Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser

245 250 255
Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Leu Asn Tyr Tyr

260 265 270
Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe

275 280 285
Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro

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

305 310 315 320
Gln Leu Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile

325 330 335

<210> 253

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 253

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

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

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

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 254

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 254

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala His

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr

65 70 75 80

Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 255

<211> 345

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 255

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg Ala His

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr

65 70 75 80

Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

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

100 105 110

Pro Gln Ala Glu Gly Leu Ala Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

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

 275 280 285
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 290 295 300
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 305 310 315 320
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 325 330 335
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340 345

<210> 256

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 256

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

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

85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

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

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

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

 305 310 315 320
 Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
 325 330

<210> 257

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 257

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

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

Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu
225 230 235 240

Leu Asp Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
245 250 255

Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg
260 265 270

Ala His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro
275 280 285

Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser
290 295 300

Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr
305 310 315 320

Val Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
325 330 335

Arg Thr Glu Ile
340

<210> 258

<211> 332

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 258

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

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

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

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

Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr Thr Thr Lys Val Ile His
305 310 315 320

Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
325 330

<210> 259

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 259

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

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

35 40 45

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

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

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

100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

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

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

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

 290 295 300
 Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr Thr Thr
 305 310 315 320
 Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile
 325 330 335
 <210> 260
 <211> 339
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 260
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35	40	45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
50	55	60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
65	70	75
		80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
210	215	220
Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu		
225	230	235
Leu Asp Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala		
245	250	255
Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Arg Gly Leu Ala		
260	265	270
Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val		
275	280	285

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

Thr Glu Ile

<210> 261

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 261

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

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

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

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

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

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

Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile
 305 310 315 320
 Phe Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
 325 330 335

Thr Glu Ile

<210> 262

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 262

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

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

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

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

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu
 225 230 235 240
 Leu Asp Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala

245 250 255
 Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Lys Gly Leu Ala
 260 265 270

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

Thr Glu Ile

<210> 263

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 263

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

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

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

<210> 264

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 264

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

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

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

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

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

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

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

210 215 220

Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys

260 265 270

Ala Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro

275 280 285

Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Arg Thr Glu Ile

340

<210> 265

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 265

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

35 40 45

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

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

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

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

290					295					300									
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln				
305					310					315					320				
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys											
325																			
<210>					266														
<211>					329														
<212>					PRT														
<213>					Artificial Sequence														
<220><223>					Synthetic														
<400>					266														
Gly	Val	Ser	Asp	Val	Pro	Arg	Asp	Leu	Glu	Val	Val	Ala	Ala	Thr	Pro				
1					5					10					15				
Thr	Ser	Leu	Leu	Ile	Ser	Trp	Asp	Ala	Pro	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg	Tyr				
20					25					30									
Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Gly	Glu	Thr	Gly	Gly	Asn	Ser	Pro	Val	Gln	Glu				
35					40					45									
Phe	Thr	Val	Val	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	Ala	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Lys				
50					55					60									
Pro	Gly	Val	Asp	Tyr	Thr	Ile	Thr	Val	Tyr	Ala	Val	Thr	Ile	Phe	Arg				
65					70					75					80				
Asp	Gly	Pro	Val	Thr	Trp	Asp	Pro	Ile	Ser	Ile	Asn	Tyr	Arg	Thr	Glu				
85					90					95									
Ile	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro				
100					105					110									
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys				
115					120					125									
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val				
130					135					140									
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr				
145					150					155					160				

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 267

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 267

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15
Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Lys Gly Leu Ala Arg Tyr
20 25 30

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

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

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

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

 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 268

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 268

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Asn Ala His

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr

65 70 75 80

Asp Thr Gly Phe Ile Thr Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

Glu Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

 165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

 180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

 195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

 210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

 245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

 260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

 275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

 290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

 325 330

<210> 269

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 269

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

1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 270
 <211> 340
 <212>
 PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 270
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu
 225 230 235 240
 Leu Glu Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
 245 250 255
 Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Thr Leu Pro His Ala Gly Arg
 260 265 270
 Ala His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro
 275 280 285
 Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser
 290 295 300
 Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr
 305 310 315 320
 Val Thr Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
 325 330 335
 Arg Thr Glu Ile
 340
 <210> 271
 <211> 339
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 271

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205

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

210 215 220

Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu

225 230 235 240
 Leu Glu Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
 245 250 255
 Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Gly Leu Ala
 260 265 270
 Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val

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

<210> 272

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 272

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

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

85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

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

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

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

 305 310 315 320
 Phe Arg Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
 325 330 335

Thr Glu Ile

<210> 273

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 273

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu
 225 230 235 240
 Leu Glu Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
 245 250 255
 Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys
 260 265 270
 Ala Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro
 275 280 285
 Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val Thr Ala Thr Ile Ser
 290 295 300
 Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr
 305 310 315 320
 Val Thr Asp Thr Gly Tyr Leu Lys Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
 325 330 335
 Arg Thr Glu Ile
 340
 <210> 274
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 274
 Glu Pro Lys Ser Ser Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro

225 230

<210> 275

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 275

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

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

65 70 75 80
 Thr Thr Lys Val Ile His Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
 85 90 95
 Glu Ile

<210> 276

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 276

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

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

 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

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

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

 210 215 220
 Pro
 225
 <210> 277
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 277
 Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
 1 5 10 15
 Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Arg Gly Leu Ala Arg Tyr
 20 25 30
 Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

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

65 70 75 80
 Asp Gly Thr Arg Ser Phe Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu
 85 90 95
 Ile

<210> 278

<211> 97

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 278

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

50 55 60
 Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Ile Phe Arg
 65 70 75 80
 Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu
 85 90 95
 Ile

<210> 279

<211> 97

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 279

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

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

65 70 75 80
 Asp Gly Pro Val Thr Trp Asp Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu
 85 90 95
 Ile

<210> 280

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 280

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Asn Pro Gly Asn Ala His

 20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

 35 40 45

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

 50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr

65 70 75 80

Asp Thr Gly Phe Ile Thr Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

 85 90 95

Glu Ile

<210> 281

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 281

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro His Gln Gly Lys Ala Asn

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Val Thr

65 70 75 80

Asp Thr Gly Tyr Leu Lys Tyr Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85 90 95

Glu Ile

<210> 282

<211> 98

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 282

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

1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Leu Pro Tyr Ala Gly His Leu Asn

20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Lys Ser Gln Leu Ile His Tyr Met Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

85

90

95

Glu Ile

<210> 283

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 283

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

1

5

10

15

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

20

25

30

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

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

130	135	140	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
145	150	155	160
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
165	170	175	
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
180	185	190	
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
195	200	205	
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
210	215	220	
Gly Lys			
225			
<210> 284			
<211> 1008			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic			
<400> 284			
gagcccaaat ctacgggtc gactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg	60		
gggggaagct cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctccgg	120		
accctgagg tcacatgct ggtgtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	180		
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	240		
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggtgaat	300		
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc	360		
atctcaaag ccaaaggga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg	420		
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc	480		
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaca gaccagcct	540		
cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc	600		
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac	660		
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccc ggcgccggag gcggcggatc cgttgagtt	720		
tctgatgtgc cgcgcacct ggaagtgggt gctgccaccc ccaccagcct gctgatcagc	780		

tggtctcttc cttatgctgg tcatctaaac tattaccgca tcacttacgg cgaaacagga 840
ggcaatagcc ctgtccagga gttcactgtg cctggtcgtg gtgtgacagc taccatcagc 900
ggccttaaac ctggcgttga ttataccatc actgtgtatg ctgtcactct gactaagtct 960
cagctgatac attacatgcc aatttccatt aattaccgga ccgaaatc 1008

<210> 285

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 285

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg 60
atctcctgga cactgcctca cgctggcccg gctcattact atagaattac ctacggggag 120
acaggcggga actctcccg gcaggaattc accgtgcctg gaaggggcgt gactgccacc 180
atcagtgggc tgaagccagg agtggactac acaattaccg tgtacgctgt gactgtgacc 240
acaactaaag tgatccacta caaacccatc tctattaatt atcggaccga aattgagcct 300
aagagctccg acaaaaccca cacatgccca cttgtccag cccccgaact gctgggcggc 360

ccttcagtct tectcttccc cccaaaaccc aaggacacce tcatgatctc ccggaccctt 420
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcggggagga gcagtacaac 540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttcacc gtcttcgacc aggactggct gaatggcaag 600
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840
ttggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960
cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa 990

<210> 286

<211> 975

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 286

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg	60
atctcctgga cactgcctca cgctggccgg gctcattact atagaattac ctacggggag	120
acaggcggga actctccgt gcaggaattc accgtgcctg gaaggggcgt gactgccacc	180
atcagtgggc tgaagccagg agtggactac acaattaccg tgtacgtgt gactgtgacc	240
acaactaaag tgatccacta caaacccatc tctattaatt atcggaccga aattgacaag	300
accacacat gccaccttg tccagcccc gagctgctgg gcggcccttc agtcttctc	360
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg	420
gtggtggacg tgagccacga agacctgag gtcaagtca actggtacgt ggacggcgtg	480
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg	540
gtcagcgtec tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtcaag	600
gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	660
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag	720
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatgccgt ggagtgggag	780
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgctc ccgtgttgga ctccgacggc	840
tcctttcttc tctacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc	900
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc	960
ctgtctcccg ggaaa	975

<210> 287

<211> 1035

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 287

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg	60
atctcctgga cactgcctca cgctggccgg gctcattact atagaattac ctacggggag	120
acaggcggga actctccgt gcaggaattc accgtgcctg gaaggggcgt gactgccacc	180
atcagtgggc tgaagccagg agtggactac acaattaccg tgtacgtgt gactgtgacc	240
acaactaaag tgatccacta caaacccatc tctattaatt atcggaccga aattgagtct	300
ccaaaggctc agccagctc cgtgcctacc gtcagccac aggetgaggg cctggctaag	360
accacacat gcccccttg tccagctccc gaactgctgg gcggcccttc agtcttctc	420

ttccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg 480
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 540
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 600
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 660
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 720

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag 780
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 840
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 900
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 960
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gacccctctc 1020
ctgtctcccg ggaaa 1035

<210> 288

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 288

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
tgctggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac 240
cgtgtggtca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggtea gectgacctg cctggtcaaa ggtttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gttggactcc 540
gacggctcct ttttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
ctctccctgt ctcccgccgc cggaggcggc ggatccggtg gcgtgtccga cgtgccccgg 720
gatctagaag tgggtggctg taccaccaca agcttgctga tctcctggac actgcctcac 780
gctggccggg ctattacta tagaattacc tacggggaga caggcgggaa ctctccctg 840

caggaattca ccgtgcctgg aaggggcgtg actgccacca tcagtgggct gaagccagga 900
gtggactaca caattaccgt gtacgtgtg actgtgacca caactaaagt gatccactac 960
aaacccatct ctattaatta tcggaccgaa atc 993

<210> 289

<211> 1020

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 289

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
cgtgtgtgta gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
tgcaaggctt ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 420
aaccaggtca gctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540
gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggacggagaa 720
ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgtac ccccaaacgc 780
ttgtgatct cctggacact gcctcacgt ggccgggctc attactatag aattacctac 840
ggggagacag gcgggaactc tcccgatgag gaattcaccg tgcctggaag gggcgtgact 900
gccaccatca gtgggctgaa gccaggagtg gactacacaa ttaccgtgta cgctgtgact 960
gtgaccacaa ctaaagtgat ccactacaaa cccatctcta ttaattatcg gaccgaaatt 1020

<210> 290

<211> 996

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 290

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
 ttctctttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180
 ggcggtgagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccccgt gctggactcc 540
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600
 aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
 ctctccctgt ctcccgcca gcccagcag cctggcggga gcggcgtgag cgacgtgcca 720
 cgggatctag aagtgtggc tgctacccc acaagcttgc tgatctctg gacactgcct 780

cacgtggcc gggtcatta ctatagaatt acctacgggg agacaggcgg gaactctccc 840
 gtgcaggaat tcaccgtgcc tggaaggggc gtgactgcca ccatcagtg gctgaagcca 900
 ggagtggact acacaattac cgtgtacgt gtgactgtga ccacaactaa agtgatccac 960
 taaaaacca tctctattaa ttatcggacc gaaatt 996

<210> 291

<211> 1008

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 291

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
 ttctctttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180
 ggcggtgagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540

gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctcccgcgcg cagcgggtct ggatctggca gtgggagcgg ctctggcgtg 720

agcgactgc caggggatct agaagtgggtg gctgctaccc ccacaagctt gctgatctcc 780

tggacactgc ctcacgtgg cggggtctat tactatagaa ttacctacgg ggagacaggc 840

gggaactctc ccgtgcagga attcaccgtg cctggaaggg gcgtgactgc caccatcagt 900

gggctgaagc caggagtgga ctacacaatt accgtgtacg ctgtgactgt gaccacaact 960

aaagtgatcc actacaaacc catctctatt aattatcgga ccgaaatt 1008

<210> 292

<211> 917

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 292

cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca 60

agttcaactg gtacgtggag ggctgaggag tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg 120

agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc 180

tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga 240

aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat 300

cccgggatga gctgaccaag aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc 360

ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca 420

cgcctcccggt gctggactcc gacggtcctt tcttctctta cagcaagctc accgtggaca 480

agagcagggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca 540

accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctcccagct gcagctggag gaaagcgccg 600

ctgagggtca ggacggagaa ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg 660

tggctgctac ccccaacaag ttgctgatca gctgggacgc tccgagaggt ctggctcgat 720

attaccgcat cacttacggc gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttcactgtgt 780

tcggtcgtgg taccacagct accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca 840

ctgtgtatgc tgtcactatc gaccgtgacg gtaccgcag cttcgacca atttcatta 900

attaccggac cgaaatt 917

<210> 293

<211> 1017

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 293

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tccctgggggg accgtcagtc 60
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac 240
cgtgtggtca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
tgcaaggctt ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
aaccaggtea gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540

gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggacggagaa 720
ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgctac ccccaacaagc 780
ttgctgatca gctgggacgc tccggctggt ctggctcgat attaccgcat cacttacggc 840
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgg tcggctcgtgg taacacagct 900
accatcagcg gccttaaac tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgctactatc 960

ttccgtgacg gtcccgtcac ctgggaccca atttcatta attaccggac cgaaatt 1017

<210> 294

<211> 1017

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 294

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tccctgggggg accgtcagtc 60
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540
gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
ctctccctgt ctcccagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggacggagaa 720

ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgctac cccacaagc 780
ttgctgatca gctgggacgc tccgaagggt ctggctcgat attaccgcat cacttacggc 840
gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgg tcggtcgtgg taacacagct 900
accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactatc 960
ttcgtgacg gtcccgtcac ctgggacceca atttccattt attaccggac cgaaatt 1017

<210> 295
<211> 1020
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 295

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60

ttctcttctc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540
gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggacggagaa 720
ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgtac cccacaagc 780
ttgctgatca gctggtctct gccgaatccg ggtaacgcc attattaccg catcacttac 840
ggcgaacacg gaggcaatag ccctgtccag gatttactg tgcctggtcg tgggtttaca 900

gctaccatca gcggccttaa acctggcggt gattatacca tcaactgtga tgctgtcact 960
gttactgaca cagggttcat cacgtacaaa ccaatttcca ttaattaccg gaccgaaatt 1020

<210> 296

<211> 1020

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 296

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac 180
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240

cgtgtggtca gcgtctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
tgcaaggctc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
aaccagggtc gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc 540
gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggacggagaa 720
ctggatggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgtac cccacaagc 780
ttgctgatca gctggtctct gccgcaccaa ggtaaagcca attattaccg catcacttac 840
ggcgaacacg gaggcaatag ccctgtccag gatttactg tgcctggtcg tgggtttaca 900
gctaccatca gcggccttaa acctggcggt gattatacca tcaactgtga tgctgtcact 960
gttactgata cagggtacct caagtacaaa ccaatttcca ttaattaccg gaccgaaatt 1020

<210> 297

<211> 987

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 297

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg	60
atcagctggg acgtcccgag aggtctggct cgatattacc gcatcactta cggcgaata	120
ggaggcaata gccctgtcca ggagttcact gtgttcggtc gtggtaccac agctaccatc	180
agcggcctta aacctggcgt tgattatacc atcactgtgt atgctgtcac tatcgaccgt	240
gacggatccc gcagcttcga cccaatttcc attaattacc ggaccgaaat tgagcctaag	300
agctccgaca aaaccacac atgccacact tgtccagccc ccgaactgct gggcggccct	360
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag	420
gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac	480
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	540
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	600
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaaac catctccaaa	660
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg	720
accaagaacc aggtcagcct gacctgctg gtcaaaggt tctatcccag cgacatcgcc	780
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgttg	840
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	900
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	960
aagagcctct ccctgtctcc cgggaaa	987

<210> 298

<211> 987

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 298

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg	60
atcagctggg acgtcccggc tggcttggct cgatattacc gcatcactta cggcgaata	120
ggaggcaata gccctgtcca ggagttcact gtggtcggtc gtggtaacac agctaccatc	180
agcggcctta aacctggcgt tgattatacc atcactgtgt atgctgtcac tatcttccgt	240
gacggtcccg tcacctggga cccaatttcc attaattacc ggaccgaaat tgagcctaag	300

agctccgaca aaacccacac atgccacact tgtccagccc ccgaactgct gggcggccct 360
 tcagtcttcc ttttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag 420
 gtcacatgcg tggtaggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 480
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 540
 acgtaccgtg tggtagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 600

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 660
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cccatcccg ggatgagctg 720
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 780
 gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgttg 840
 gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 900
 caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggtc tgcacaacca ctacacgag 960
 aagagcctct ccctgtctcc cgggaaa 987

<210> 299

<211> 987

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 299

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg 60
 atcagctggg acgtccgaa gggcttggtc cgatattacc gcatcactta cggcgaaaca 120
 ggaggcaata gccctgtcca ggagttcact gtggtcggtc gtggtaacac agctaccatc 180
 agcggcctta aacctggcgt tgattatacc atcactgtgt atgtgtcac tatcttcgt 240
 gacggctccc tcacctggga cccaatttcc attaattacc ggaccgaaat tgagcctaag 300
 agctccgaca aaacccacac atgccacact tgtccagccc ccgaactgct gggcggccct 360

tcagtcttcc ttttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag 420
 gtcacatgcg tggtaggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 480
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 540
 acgtaccgtg tggtagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 600
 tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 660
 gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cccatcccg ggatgagctg 720
 accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 780

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgttg 840
gactccgacg gtccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 900
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggtc tgcacaacca ctacacgcag 960
aagagcctct cctgtctcc cgggaaa 987

<210> 300

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 300

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg 60
atcagctggg ctctgccgaa tccgggtaac gccattatt accgcatcac ttacggcgaa 120

acaggaggca atagccctgt ccaggagttc actgtgcctg gtcgtgggtg tacagctacc 180
atcagcggcc ttaaacctgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactgttact 240
gacacagggt tcatcacgta caaaccaatt tccattaatt accggaccga aattgagcct 300
aagagctccg acaaaacca cacatgccca cttgtccag cccccgaact gctgggcggc 360
ccttcagtct tctcttccc cccaaaacc aaggacacce tcatgatctc ccggaccct 420
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag 600
gagtacaagt gcaaggtctc caaaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag 720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840
ttggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900
cagcagggga acgtcttctc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa 990

<210> 301

<211> 990

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 301

ggcgtgagcg acgtgccccg ggatctagaa gtggtggctg ctacccccac aagcttgctg	60
atcagctggt ctctgccgca ccaaggtaaa gccaatatt accgcatcac ttacggcgaa	120
acaggaggca atagccctgt ccaggagtgc actgtgcctg gtcgtggtgt tacagctacc	180
atcagcggcc ttaaacttgg cgttgattat accatcactg tgtatgctgt cactgttact	240
gatacagggt acctcaagta caaaccaatt tccattaatt accggaccga aattgagcct	300
aagagctccg acaaaaccca cacatgccc ccttgtccag cccccgaact gctgggcggc	360
ccttcagtct tctcttccc cccaaaacc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt	420
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg	480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	540
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctcgcacc aggactggct gaatggcaag	600
gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc	660
aaagccaaag ggagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag	720
ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc	780
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	840
ttggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg	900
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg	960
cagaagagcc tctccctgtc tcccgggaaa	990

<210> 302

<211> 1020

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 302

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacctgaac tctgggggg accgtcagtc	60
ttctcttcc cccaaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	120
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	180
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	240
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	300
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	360
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag	420

aaccaggtea gcctgacctg cctgggtcaaa ggctttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgaggagaca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccccgt gctggactcc 540

gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggaaggagaa 720

ctggaaggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgctac cccacaagc 780

ttgctgatct cctggacact gcctcacgtt ggccgggctc attactatag aattacctac 840

ggggagacag gcgggaactc tcccgctgcag gaattcaccg tgcctggaag gggcgtgact 900

gccaccatca gtgggctgaa gccaggagtg gactacacaa ttaccgtgta cgctgtgact 960

gtgaccacaa ctaaagtgat ccactacaaa cccatctcta ttaattatcg gaccgaaatt 1020

<210> 303

<211> 1017

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 303

gacaaaaact acacatgcc accgtgccca gcacctgaac tcttgggggg accgtcagtc 60

ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240

cggtgtgtca gcgtctctac cgctctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300

tgcaaggctt ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggtea gcctgacctg cctgggtcaaa ggctttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480

tgaggagaca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccccgt gctggactcc 540

gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660

ctctccctgt ctcccgagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggaaggagaa 720

ctggaaggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgctac cccacaagc 780

ttgctgatca gctgggacgc tccggctggt ctggctcgat attaccgcat cacttacggc 840

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgg tcggtcgtgg taacacagct 900

accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactatc 960
 ttccgtgacg gtcccgtcac ctgggacceca atttcatta attaccggac cgaaatt 1017
 <210> 304
 <211> 1017
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 304

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtea agttcaactg gtacgtggac 180
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
 cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
 tgcaaggctc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc 540
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
 ctctccctgt ctcccagct gcagctggag gaaagcgccg ctgaggctca ggaaggagaa 720
 ctggaaggcg tgagcgagct gccacgggat ctagaagtgg tggctgtac cccacaagc 780
 ttgctgatca gctgggacgc tccgaagggt ctggctcgat attaccgat cacttacggc 840

gaaacaggag gcaatagccc tgtccaggag ttactgtgg tcggtcgtgg taacacagct 900
 accatcagcg gccttaaacc tggcgttgat tataccatca ctgtgtatgc tgtcactatc 960
 ttccgtgacg gtcccgtcac ctgggacceca atttcatta attaccggac cgaaatt 1017
 <210> 305
 <211> 1020
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 305

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac 180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgaggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 540
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 600

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
 ctctccctgt ctcccagct gcagctggag gaaagcgccg ctgagggtca ggaaggagaa 720
 ctggaaggcg tgagcgacgt gccacgggat ctagaagtgg tggctgctac cccacaagc 780
 ttgctgatca gctggtctct gccgcaccaa ggtaaagcca attattaccg catcacttac 840
 ggcgaaacag gaggcaatag ccctgtccag gatttactg tgcttggtcg tgggtgttaca 900
 gctaccatca gcggccctaa acctggcggt gattatacca tcaactgtgta tgctgtcact 960
 gttactgata cagggtacct caagtacaaa ccaatttcca ttaattaccg gaccgaaatt 1020

<210> 306

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 306

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu

1 5 10

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 307

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu

1 5

<210> 308
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 308
 Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu
 1 5

<210> 309
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 309
 Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu
 1 5

<210> 310
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 310
 Asp Val Pro Arg Asp Leu
 1 5

<210> 311
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 311
 Val Pro Arg Asp Leu
 1 5

<210> 312
 <211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 312

Pro Arg Asp Leu

1

<210> 313

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 313

Glu Ile Glu Pro Lys Ser Ser

1 5

<210> 314

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 314

Glu Ile Asp Lys Pro Cys

1 5

<210> 315

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 315

Glu Ile Asp Lys Pro

1 5

<210> 316

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 316

Glu Ile Asp Lys

1

<210> 317

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 317

Glu Ile Asp Lys Pro Ser

1 5

<210> 318

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 318

Glu Ile Glu Lys Pro Ser Gln

1 5

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 319

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Leu Glu

1 5

<210> 320

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 320

Glu Ile Glu Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp

1 5 10

<210> 321

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 321

Glu Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 322

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 322

Glu Ile Asp Lys Pro Cys Gln

1 5

<210> 323

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 323

Glu Gly Ser Gly Cys

1 5

<210> 324

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 324

Glu Ile Asp Lys Pro Cys Gln Leu Glu

1 5
 <210> 325
 <211> 13
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 325

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His

1 5 10

<210> 326

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 326

Gly Ser Gly Cys His His His His His His

1 5 10

<210> 327

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 327

Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His

1 5 10

<210> 328

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 328

His His His His His His

1 5

<210> 329

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 329

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

1 5 10 15

Met

<210> 330

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 330

Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro

1 5 10

<210> 331

<211> 87

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 331

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

1 5 10 15

Pro His Gln Gly Lys Ala Asn Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr

20 25 30

Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Arg Gly Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80
Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr			
85			