



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월07일  
(11) 등록번호 10-2672706  
(24) 등록일자 2024년05월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 14/495 (2024.01) A61K 38/00 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01) A61K 47/50 (2017.01)  
C07K 16/22 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C07K 14/495 (2013.01)  
A61K 38/00 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2017-7006910  
(22) 출원일자(국제) 2015년10월29일  
심사청구일자 2020년10월22일  
(85) 번역문제출일자 2017년03월13일  
(65) 공개번호 10-2017-0074852  
(43) 공개일자 2017년06월30일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/058111  
(87) 국제공개번호 WO 2016/069921  
국제공개일자 2016년05월06일  
(30) 우선권주장  
62/073,737 2014년10월31일 미국(US)  
62/244,604 2015년10월21일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
W02014120619 A1  
Protein Engineering, 1996, Vol.9, No.7, pp.  
617-621  
W02014120619 A2\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
엔지엠 바이오파마슈티컬스, 아이엔씨.  
미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코, 오이  
스터 포인트 블러바드 333  
(72) 발명자  
선 웬안  
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 킬슨 서클  
569  
린다우트 다린  
미국 캘리포니아 94040 마운틴 뷰 미라몬테 애비  
뉴 1533  
(74) 대리인  
(뒷면에 계속)  
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 46 항

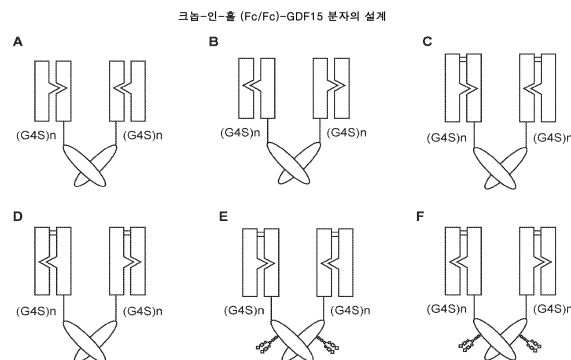
심사관 : 김종호

(54) 발명의 명칭 대사 장애를 치료하기 위한 조성물 및 사용 방법

(57) 요약

GDF15 폴리펩티드를 포함하는 복합체가 기술된다. 대사 장애, 예컨대, 글루코스 대사 장애 및/또는 체중 장애를 갖는 개체를 치료하는 방법, 및 이와 연관된 조성물이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

**A61K 47/6811** (2017.08)

**C07K 16/22** (2013.01)

**A61K 2039/505** (2013.01)

**C07K 2317/52** (2013.01)

**C07K 2317/526** (2013.01)

**C07K 2319/30** (2013.01)

(72) 발명자

**할단카르 라이**

미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 트리더스트  
스트리트 312

**매턴 휴고**

미국 캘리포니아 94403 샌 마테오 조지 애비뉴  
4165 #4

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체로서, 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체는 각각

(i) N-말단에서 C-말단으로 제1 힌지 영역 및 인간 IgG Fc에서 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함하는 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 제1 CH3 서열을 포함하는 제1 인간 IgG Fc를 포함하는 제1 폴리펩티드로서, 치환은, 넘버링에 따라서, Q347W/Y, T366W/Y, 및 T394W/Y로 구성된 군으로부터 선택되는, 제1 폴리펩티드; 및

(ii) N-말단에서 C-말단으로 제2 힌지 영역 및 인간 IgG Fc 서열에서 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함하는 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 제2 CH3 서열을 포함하는 제2 인간 IgG Fc를 포함하는 제2 폴리펩티드로서, 치환은, EU 넘버링에 따라서, T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, 및 Y407T/V/A로 구성된 군으로부터 선택되는, 제2 폴리펩티드

를 포함하며,

제1 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드의 돌출부의, 제2 폴리펩티드의 공동으로의 배치를 통하여 제2 폴리펩티드와 이량체화되고,

제1 폴리펩티드의 C-말단 또는 제2 폴리펩티드의 C-말단은 링커를 통해 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트되고, GDF15 뮤테인은 적어도 98개 아미노산 길이이고 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함하고, GDF15 뮤테인의 C-말단 아미노산은 서열 번호: 1의 위치 112에서 이소류신에 상응하고, 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 2개의 제1 아미노산을 포함하지 않고, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 D5T 치환을 포함하고,

제1 이중이량체 내 GDF15 뮤테인은 제2 이중이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되어, 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체를 형성하는, 복합체.

#### 청구항 2

제1 항에 있어서,

(i) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로

(a) 제1 힌지 영역 및 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 제1 CH3 서열을 포함하는 제1 인간 IgG Fc,

(b) 링커, 및

(c) GDF15 뮤테인을 포함하고;

(ii) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로

(a') 제2 힌지 영역 및 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 제2 CH3 서열을 포함하는 제2 인간 IgG Fc를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 3

제1 항에 있어서, 제1 폴리펩티드의 제1 인간 IgG Fc는 인간 IgG1 Fc이고 제2 폴리펩티드의 제2 인간 IgG Fc는 인간 IgG1 Fc인 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 4

제1 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 치환 T366W를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 5

제1 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 치환 T366S, L368A, 및 Y407V를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 6

제1 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 제1 CH2 서열을 더 포함하고 제2 폴리펩티드는 제2 CH2 서열을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 7

제1 항에 있어서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 8

제1 항에 있어서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 129의 아미노산 서열로 구성된 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 9

제1 항에 있어서, 링커는 서열 글리신-글리신-글리신-글리신-Ser ( $G_4S$ )<sub>n</sub>을 포함하며, n=2-5인 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 10

제1 항에 있어서, 링커는 서열 ( $G_4S$ )<sub>3</sub> 또는 ( $G_4S$ )<sub>5</sub>를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 11

제2 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 서열 번호: 3에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 12

제11 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 서열 번호: 4에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 13

제2 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 서열 번호: 5에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 14

제13 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 서열 번호: 6에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 15

제1 항에 있어서, GDF15 뮤테인은 N-글리코실화되는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 16

제1 이종이량체 및 제2 이종이량체를 포함하는 복합체로서, 제1 이종이량체 및 제2 이종이량체는 각각

서열 번호: 5에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

서열 번호: 6에서 제시된 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드

를 포함하며,

제1 폴리펩티드는 N-글리코실화되고,

제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드와 이량체화되는, 복합체.

#### 청구항 17

제1 항에 있어서,

(i) 제1 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로:

(a) 제1 힌지 영역 및 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 제1 CH3 서열을 포함하는 제1 인간 IgG Fc;을 포함하고, 및

(ii) 제2 폴리펩티드는 N-말단에서 C-말단으로:

(a') 제2 힌지 영역 및 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 제2 CH3 서열을 포함하는 제2 인간 IgG Fc;

(b) 링커, 및

(c) GDF15 뮤테인을 포함하는, 복합체.

#### 청구항 18

제17 항에 있어서, 제1 폴리펩티드의 제1 인간 IgG Fc는 인간 IgG1 Fc이고, 제2 폴리펩티드의 제2 인간 IgG Fc는 인간 IgG1 Fc인 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 19

제17 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 치환 T366W를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 20

제17 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 치환 T366S, L368A, 및 Y407V를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 21

제17 항에 있어서, 제1 폴리펩티드는 제1 CH2 서열을 더 포함하고, 제2 폴리펩티드는 제2 CH2 서열을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 22

제17 항에 있어서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 23

제17 항에 있어서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 129의 아미노산 서열로 구성된 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 24

제17 항에 있어서, 링커는 서열 글리신-글리신-글리신-글리신-Ser (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>을 포함하며, n=2-5인 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 25

제17 항에 있어서, 링커는 서열 (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> 또는 (G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>를 포함하는 것을 특징으로 하는 복합체.

#### 청구항 26

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 제1 및 제2 폴리펩티드를 암호화하는 핵산; 또는

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩티드를 암호화하는 제1 핵산 및 제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 제2 폴리펩티드를 암호화하는 제2 핵산.

#### 청구항 27

제26 항의 핵산을 포함하는 벡터; 또는

제26 항의 제1 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 제26 항의 제2 핵산을 포함하는 제2 벡터.

#### 청구항 28

- (a) 제26 항의 핵산; 또는  
(b) 제26 항의 제1 및 제2 핵산;  
를 포함하는 숙주 세포.

#### 청구항 29

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 복합체 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 대상체에서 글루코스 대사 장애 치료하기 위한 약제학적 조성물.

#### 청구항 30

제29 항에 있어서, 글루코스 대사 장애는 대사성 증후군인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 31

제29 항에 있어서, 대상체는 인간이고 비만인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 32

제29 항에 있어서, 대상체는 인간이고 진성 당뇨병에 걸린 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 33

제29 항에 있어서, 대상체는 인간이고 다음 특성, 고혈압, 고혈당증, 고인슐린혈증, 비정상적인 글루코스 내성, 복부 또는 상체 구획으로의 지방의 재분배, 비정상적인 콜레스테롤 수준, 비정상적인 트리글리세라이드 수준, 낮은 고밀도 지질단백질 콜레스테롤, 및 고밀도 저밀도 지질단백질 입자 중 하나 이상을 갖는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 34

제29 항에 있어서, 약제학적 조성물은 적어도 하나의 추가적인 치료제와 조합하여 사용하기 위한 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 35

제34 항에 있어서, 적어도 하나의 추가적인 치료제는 바이구아나이드, 설폰닐우레아, 티아졸리딘디온, GLP-1 유사체, PPAR 감마 효능제, 디펩티딜 펩티다아제-4 (DPP-4) 저해제, 프로모크립틴, 담즙산 격리제, 인슐린, 알파 글루코시다제 저해제, 인슐린 또는 인슐린 자극물질, 메트포르민, SGLT-2 저해제, 식욕 억제제, 및 체중 감소 약물로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 36

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 복합체 및 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는, 대상체에서 비만 또는 고혈당증을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

#### 청구항 37

제36 항에 있어서, 대상체는 인간이고 치료는 대상체의 체중을 감소시키는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 38

제36 항에 있어서, 대상체는 인간이고 치료는 대상체의 혈당을 감소시키는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 39

제36 항에 있어서, 대상체는 인간이고 진성 당뇨병에 걸린 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 40

제36 항에 있어서, 대상체는 인간이고 비만인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 41

제36 항에 있어서, 대상체는 인간이고 다음 특성, 고혈압, 고인슐린혈증, 비정상적인 글루코스 내성, 복부 또는 상체 구획으로의 지방의 재분배, 비정상적인 콜레스테롤 수준, 비정상적인 트리글리세라이드 수준, 낮은 고밀도 지질단백질 콜레스테롤, 및 고밀도 저밀도 지질단백질 입자 중 하나 이상을 가진 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 42

제36 항에 있어서, 약제학적 조성물은 적어도 하나의 추가적인 치료제와 조합하여 사용하기 위한 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 43

제42 항에 있어서, 적어도 하나의 추가적인 치료제는 바이구아나이드, 설폰닐우레아, 티아졸리딘디온, GLP-1 유사체, PPAR 감마 효능제, 디펩티딜 펩티다아제-4 (DPP-4) 저해제, 프로모크립틴, 담즙산 격리제, 인슐린, 알파 글루코시다제 저해제, 인슐린 또는 인슐린 자극물질, 메트포르민, SGLT-2 저해제, 식욕 억제제, 및 체중 감소 약물로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

#### 청구항 44

제29 항의 약제학적 조성물을 포함하는 멸균 용기.

#### 청구항 45

제44 항의 멸균 용기를 포함하는 키트.

#### 청구항 46

제1 항 내지 제25 항 중 어느 한 항의 복합체를 제조하는 방법으로서,  
상기 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계; 및  
상기 제1 폴리펩티드 및 상기 제2 폴리펩티드를 포함하는 복합체를 분리시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 47

삭제

#### 청구항 48

삭제

#### 청구항 49

삭제

#### 청구항 50

삭제

#### 청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제



청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 서열목록의 참조로의 편입

[0002] 서열 목록은 2015년 10월 28일에 작성되고 188KB의 크기를 갖는 텍스트 파일 "NGMB-142\_SeqList.txt"로서 제공된다. 텍스트 파일의 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 편입된다.

- [0003] **관련 출원들에 대한 교차참조**
- [0004] 본 출원은, 이들 출원 그 전체가 본 명세서에 참고로 편입되는, 2014년 10월 31일자로 출원된 미국 가출원 시리즈 번호 62/073,737 및 2015년 10월 21일자로 출원된 미국 가출원 시리즈 번호 62/244,604의 우선권 이점을 요구한다.
- [0005] **기술분야**
- [0006] 본 발명은, 다른 것들 중에서, 신진대사 관련 증상을 치료하는데 유용한 폴리펩티드 복합체 및 이들의 조성물에 관한 것이다.
- [0007] **도입**
- [0008] 비만은 가장 통상적으로 제한된 에너지 소모 및/또는 신체 운동의 부족과 연계된 과도한 음식 섭취에 의해 야기된다. 비만은 다양한 질환, 예컨대 진성 당뇨병, 고혈압, 죽상경화증, 관상동맥 질환, 수면 무호흡, 통풍, 류마티스 및 관절염의 전개 가능성을 증가시킨다. 게다가 사망률 위험은, 예를 들면 40을 초과하는 체-질량 지수는 평균 10년 이상의 감소된 기대 수명을 초래하도록, 비만과 직접적으로 연관된다.
- [0009] 현재의 약리학적 치료 양상은 수용체 부류 (예를 들어, CB1, 5-HT<sub>2C</sub> 및 NPY)를 표적으로 하는 식욕 억제제; 그렐린의 분자 작용 및 시상 하부에서 식욕 회로의 조절인자; 및 리파제를 표적으로 하는 영양소-흡수 저해제를 포함한다. 불행하게도, 현행 양상 중 어떤 것도, 그 중 일부는 매우 중증일 수 있는 부작용을 야기함이 없이 비만을 효과적으로 치료하는 것으로 나타나지 않았다.
- [0010] 고혈당 수준은 췌장 베타-세포에 의한 인슐린의 분비를 자극한다. 인슐린은 차례로 근육 및 지방질 세포로의 포도당의 침투를 자극하여, 글리코겐 및 트리글리세라이드의 저장과 단백질의 합성을 유도한다. 다양한 세포 유형에 인슐린 수용체의 활성화는 포도당 흡수 및 이용을 증가함에 의해 그리고 간의 포도당 유출을 감소함에 의해 순환하는 포도당 수준을 감소시킨다. 이 조절적 네트워크 내의 파괴는 크고 증가하는 백분위의 인구에 영향을 미치는 당뇨병 및 관련된 병리적 증후군을 초래할 수 있다.
- [0011] 포도당 대사 장애를 갖는 환자는 고혈당증, 고인슐린혈증 및/또는 포도당 과민증으로 고통받을 수 있다. 포도당 및/또는 인슐린의 비정상적인 수준과 종종 관련된 질환의 한 예는 간, 지방 및 근육 세포가 정상 혈중 인슐린 수준에 반응하는 이들의 능력을 상실한, 인슐린 내성이다.
- [0012] 비만, 당뇨병 및 관련 대사성 및 비-대사성 장애의 유병률 및 중증도의 관점에서, 예를 들면 식욕, 포도당 및/또는 인슐린 수준을 조절하고 그리고 환자에서 포도당 수준 변동에 대한 생물학적 반응을 향상시키는 치료 양상이 관심을 받는다.
- [0013] MIC-1(대식세포 억제 사이토카인-1)로도 알려진 야생형 GDF15는 체중의 조절과 연관되어 있다 ((Tsai VW, et al., PLoS One 2013; 8 (2): e55174; US8,192,735).
- [0014] **요약**
- [0015] 대사성 장애의 치료를 위한 변형된 GDF15 폴리펩티드가 제공된다. 변형된 GDF15 폴리펩티드는 복합체에 존재할 수 있다. 본 개시내용의 복합체는 2개의 GDF15 폴리펩티드를 포함할 수 있다.
- [0016] 특정 경우에, 본 발명의 복합체는 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인, 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인, 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 제1 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드의 돌출부가 제2 폴리펩티드의 공동 내로 위치함을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드의 C-말단 또는 제2 폴리펩티드의 C-말단 중 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트된다.
- [0017] 특정 경우에, 본 발명의 복합체는 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하고, 각각의 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 그리고 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 여기서 상기 제1 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드의 돌출부가 제2 폴리펩티드의 공동 내로 위치함을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 여기서 제1 폴리펩티드의 C-말단 또는 제2 폴리펩티드의 C-말단 중 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글

리코실화 공통 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트되고, 그리고 여기서 제1 이중이량체 내 GDF15 뮤테인은 제2 이중이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되고 그렇게 함으로써 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체를 형성한다.

- [0018] 예시적인 구현예에서, 제1 폴리펩티드의 C-말단은 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트될 수 있다. 다른 사례에서, 제2 폴리펩티드의 C-말단은 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트될 수 있다.
- [0019] 또한 본 명세서에서 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드가 고려되고, 여기서 제1 폴리펩티드는, 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드와 이량체화되고; 그리고 GDF15 뮤테인은 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 포함하고, 여기서 제1 폴리펩티드 C-말단은 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트된다. 제1 폴리펩티드는 또한 제2 폴리펩티드를 포함할 수 있는 복합체 내에 존재할 수 있다.
- [0020] 또한 본 명세서에서 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드가 고려되고, 여기서 제1 폴리펩티드는, 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하는 IgG Fc 서열인 상기 IgG Fc 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드와 이량체화되고; 그리고 GDF15 뮤테인은 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 포함하고, 여기서 제1 폴리펩티드 C-말단은 GDF15 뮤테인의 N-말단에 콘주게이트된다. 제1 폴리펩티드는 또한 제2 폴리펩티드를 포함할 수 있는 복합체 내에 존재할 수 있다.
- [0021] 특정 경우에, 복합체 내 GDF15 뮤테인은 야생형 GDF15 (서열 번호: 1)의 아미노산 서열에 적어도 90% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들면, GDF15 뮤테인은 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 생성하는 서열 번호: 1에서 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 치환은 D5T 또는 D5S 일 수 있다. 다른 사례에서, 치환은 R21N일 수 있다.
- [0022] 예시적 경우에서, GDF15 뮤테인은 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 생성하는 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: R16N 및 H18T/S; S23N 및 E25T/S; L24N 및 D26T/S; S50N 및 F52T/S; F52N 및 A54T/S; Q51N 및 R53T/S; R53N 및 A55T/S; S64N 및 H66T/S; L65N 및 R67T/S; S82N 및 N84T/S; K91N 및 D93T/S; D93N 및 G95T/S; T94N 및 V96T/S; V96N 및 L98T/S; S97N 및 Q99T/S; 및 A106N 및 D108T/S.
- [0023] 예시적 경우에서, GDF15 뮤테인은 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 생성하는 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: R16N 및 H18T; S23N 및 E25T; L24N 및 D26T; S50N 및 F52T; F52N 및 A54T; Q51N 및 R53T; R53N 및 A55T; S64N 및 H66T; L65N 및 R67T; S82N 및 N84T; K91N 및 D93T; D93N 및 G95T; T94N 및 V96T; V96N 및 L98T; S97N 및 Q99T; 및 A106N 및 D108T.
- [0024] 일부 경우에서, GDF15 뮤테인은 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 생성하는 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: R16N 및 H18S; S23N 및 E25S; L24N 및 D26S; S50N 및 F52S; F52N 및 A54S; Q51N 및 R53S; R53N 및 A55S; S64N 및 H66S; L65N 및 R67S; S82N 및 N84S; K91N 및 D93S; D93N 및 G95S; T94N 및 V96S; V96N 및 L98S; S97N 및 Q99S; 및 A106N 및 D108S.
- [0025] 특정 구현예에서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: S23N 및 E25T/S; R53N 및 A55T/S; S64N 및 H66T/S; K91N 및 D93T/S; D93N 및 G95T/S; S97N 및 Q99T/S; 및 A106N 및 D108T/S.
- [0026] 특정 구현예에서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: S23N 및 E25T; R53N 및 A55T; S64N 및 H66T; K91N 및 D93T; D93N 및 G95T; S97N 및 Q99T; 및 A106N 및 D108S.
- [0027] 특정 구현예에서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: S23N 및 E25S; R53N 및 A55S; S64N 및 H66S; K91N 및 D93S; D93N 및 G95S; S97N 및 Q99S; 및 A106N 및 D108S.
- [0028] 특정 구현예에서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: S64N 및 H66T/S; K91N 및 D93T/S; D93N 및 G95T/S; 및 S97N 및 Q99T/S. 예를 들어, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: S64N 및 H66T; K91N

및 D93T; D93N 및 G95T; 및 S97N 및 Q99T; 또는 S64N 및 H66S; K91N 및 D93S; D93N 및 G95S; 및 S97N 및 Q99S.

- [0029] 기타 구현예에서, GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산의 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 포함할 수 있다: K91N 및 D93T 또는 D93S; 및 D93N 및 G95T 또는 G95S.
- [0030] 기타 구현예에서, 복합체 내 GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 90% 동일할 수 있고, 적어도 98개 아미노산 길이일 수 있는 인접 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 GDF15의 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0031] 기타 구현예에서, 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일할 수 있고, 적어도 98개 아미노산 길이일 수 있으며, 여기서 GDF15 뮤테인의 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0032] 본원에 개시된 복합체 내 존재하는 예시적 GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 90% 동일하고, 적어도 98개 아미노산 길이일 수 있는 인접 아미노산 서열을 포함하며, 및, 서열 번호: 1에 대한 아미노산의 결실을 갖는다. 예를 들어, 폴리펩티드는 서열 번호: 1에 대한 N-말단 절단을 가질 수 있다. N-말단 절단은 서열 번호: 1에 대한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14개 이상의 아미노산일 수 있으며, 예컨대, 1-14개 아미노산, 2-14개 아미노산, 3-14개 아미노산, 2-3개 아미노산, 3-5개 아미노산, 또는 4-6개 아미노산일 수 있다.
- [0033] 본원에 개시된 예시적 복합체는 하기를 포함하는 GDF15 뮤테인을 포함한다: 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 95% 동일하고, 적어도 98개 아미노산 길이인 인접 아미노산 서열이며, 여기서 폴리펩티드의 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0034] 특정 경우에서, GDF15 뮤테인 내 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 제1 아미노산에 상응하는 제1 아미노산을 포함하지 않고, 적어도 98개 아미노산 길이이며, 여기서 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0035] 특정 경우에서, GDF15 뮤테인 내 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 2개의 제1 아미노산에 상응하는 2개의 제1 아미노산을 포함하지 않고, 적어도 98개 아미노산 길이이며, 여기서 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0036] 특정 경우에서, 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 3개의 제1 아미노산에 상응하는 3개의 제1 아미노산을 포함하지 않고, 적어도 98개 아미노산 길이이며, 여기서 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0037] 특정 경우에서, 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 6개의 제1 아미노산에 상응하는 6개의 제1 아미노산을 포함하지 않고, 적어도 98개 아미노산 길이이며, 여기서 C-말단 아미노산은 서열 번호 내 위치 112에서의 이소류신에 상응한다.
- [0038] 특정 경우에서, 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 14개의 제1 아미노산에 상응하는 14개의 제1 아미노산을 포함하지 않고, 적어도 98개 아미노산 길이이다.
- [0039] 특정 경우에서, 제1 폴리펩티드 (예를 들어, Fc-크롭) 또는 제2 폴리펩티드 (예를 들어, Fc-홀)의 C-말단은 링커를 통하여 GDF15의 N-말단에 콘주게이트된다. 예시적 링커는 서열  $(G_4S)_n$  을 포함하며, 여기서  $n=1-10$ , 예컨대 1-5 또는 2-5, 예를 들어 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0040] 특정 경우에, IgG Fc 는 서열 번호: 2 (인간 IgG1 Fc 서열)에 적어도 90% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함한다. 가공된 돌출부는 인간 IgG1 Fc 서열 내 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함할 수 있고, 여기서 본 치환은 아미노산 잔기 347, 366 및 394로 구성된 군으로부터 선택된 위치 (EU 넘버링에 따름)에서 존재한다. 예를 들면, 적어도 하나의 치환은 Q347W/Y, T366W/Y, 및 T394W/Y (EU 넘버링에 따름)로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0041] 특정 경우에, 가공된 공동은 인간 IgG1 Fc 서열 내 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함하고, 여기서 본 치환은 아미노산 잔기 366, 368, 394, 405, 및 407로 구성된 군으로부터 선택된 위치 (EU 넘버링에 따름)에서 존재한다. 예를 들면, 적어도 하나의 치환은 T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, 및 Y407T/V/A로 구성된 군으로부터 선택된다 (EU 넘버링에 따름).
- [0042] 특정 경우에, 돌출부는 치환 T366W/Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 T366S, L368A, 및 Y407T/V/A를 포함

할 수 있다 (EU 넘버링에 따름).

- [0043] 예를 들면, EU 넘버링에 따라, 돌출부는 치환 T366W/Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T/V/A를 포함할 수 있다. 다른 사례에서, EU 넘버링에 따라, 돌출부는 치환 T366Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T를 포함할 수 있다. 다른 예에서, EU 넘버링에 따라, 돌출부는 치환 T366W를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407A를 포함할 수 있다. 추가 예에서, EU 넘버링에 따라, 돌출부는 치환 T394Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T를 포함할 수 있다.
- [0044] 특정 구현예에서, 제1 및 제2 폴리펩티드의 IgG Fc 서열은 각각 제1 및 제2 폴리펩티드 사이에 적어도 하나의 이황화 결합을 형성하는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제1 및 제2 폴리펩티드의 IgG Fc 서열은 각각 힌지 영역, CH2 영역, 및 CH3 영역을 포함할 수 있으며, 여기서 힌지 영역은 제1 및 제2 폴리펩티드 사이에 적어도 하나의 이황화 결합을 형성한다.
- [0045] 또한 상기에 기재된 제1 및 제2 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자가 본 명세서에 제공된다. 핵산 분자는 시험관 내 또는 생체 내에서 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자의 발현을 부여하는 발현 조절 요소에 작동가능하게 연결될 수 있다. 핵산 분자를 포함하는 벡터가 또한 고려된다. 벡터는 바이러스 벡터일 수 있다. 특정 경우에, 제1 폴리펩티드를 암호화하는 제1 핵산 및 제2 폴리펩티드를 암호화하는 제2 핵산이 제공된다. 각각의 핵산은 제1 및 제2 핵산으로부터 각각 제1 및 제2 폴리펩티드의 발현을 부여하는 발현 조절 요소에 작동가능하게 연결된다. 제1 핵산을 포함하는 제1 벡터 및 제2 핵산을 포함하는 제2 벡터가 또한 개시된다. 여기서 지칭된 바와 같이, 벡터는 바이러스 벡터일 수 있다.
- [0046] 일부 구현예는 상기 지칭된 폴리펩티드 중 1종 이상을 발현하는 변형된 숙주세포를 포함한다. 예를 들면, 제1 및 제2 핵산을 포함하는 숙주세포가 제공된다. 숙주세포는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 발현한다.
- [0047] 본 개시내용의 특정 구현예에서, 상기 지칭된 복합체 중 1종 이상은 약제학적 조성물을 생성하도록 제형화되고, 여기서 상기 조성물은 또한 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함한다. 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 또한 적어도 하나의 추가의 예방적 또는 치료제를 포함한다.
- [0048] 또한 대상체에서 체중 장애를 치료 또는 예방하기 위한; 대상체에서 글루코스 대사 장애를 치료 또는 예방하기 위한 상기 지칭된 복합체 중 하나 이상의 조성물 (예를 들면, 약제학적 조성물)이 제공된다. 본 조성물은 대상체에서 체중 장애를 치료 또는 예방하기 위해 유효한 양의 복합체를 포함할 수 있다. 본 조성물은 대상체에서 글루코스 대사 장애를 치료 또는 예방하기 위해 유효한 양의 복합체를 포함할 수 있다.
- [0049] 또 본 개시내용의 추가의 구현예는 상기 지칭된 제1 및 제2 폴리펩티드의 하나에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다.
- [0050] 더욱이, 본 개시내용은 상기에서 기재된 바와 같이 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 부형제, 담체 또는 희석제로 제형화된 항체를 포함하는 약제학적 조성물을 고려한다. 이러한 약제학적 조성물은 또한 적어도 하나의 추가의 예방적 또는 치료제를 함유할 수 있다.
- [0051] 본 개시내용의 특정 구현예는 상기-지칭된 약제학적 조성물의 하나 및 임의로 하나 이상의 추가의 성분을 함유하는 멸균된 용기를 고려한다. 비제한적인 예로써, 본 멸균된 용기는 주사기일 수 있다. 또 추가의 구현예에서, 본 멸균된 용기는 키트의 일 성분이고; 본 키트는 또한, 예를 들면, 적어도 하나의 예방적 또는 치료제를 함유하는 제2 멸균된 용기를 함유할 수 있다.
- [0052] 또한 상기 지칭된 폴리펩티드 및 복합체를 제조하는 방법이 본 명세서에 개시된다. 본 방법은 폴리펩티드를 발현하는 숙주세포를 배양하는 것; 발현된 폴리펩티드를 포함하는 복합체를 분리하는 것을 포함할 수 있다.
- [0053] 본 개시내용은 또한 대상체에게 치료적 유효량의 상기 지칭된 복합체를 투여함에 의해 대상체 (예를 들면, 인간)에서 글루코스 대사 장애를 치료 또는 예방하는 방법을 고려한다. 일부 방법에서, 치료 또는 예방은 대상체에서 혈장 글루코스에서의 감소, 대상체에서 혈장 인슐린에서의 감소, 대상체에서 체중 및/또는 음식 섭취에서의 감소 또는 글루코스 내성에서의 증가를 초래한다. 특정 구현예에서, 글루코스 대사 장애는 진성 당뇨병이다.
- [0054] 대상체에서 체중 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 또한 개시된다. 본 방법은 대상체에게 본 개시내용의 복합체를 투여하는 것을 포함할 수 있고, 여기서 복합체는 대상체에서 체중 장애를 치료 또는 예방하는데 유효한 양으로 투여된다. 일부 방법에서, 치료 또는 예방은 대상체에서 체중 및/또는 음식 섭취에서의 감소를 초래한다.



[0055] 일부 구현예에서, 상기 대상체는 비만이고 및/또는 체중 장애를 가진다.

[0056] 임의의 특정 투여 경로 또는 투여 요법에 제한되지 않으나, 일부 구현예에서 투여는 비경구 (예를 들면, 피하) 주사에 의한다.

### 도면의 간단한 설명

[0057] 도 1은 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 이중이량체의 동종이량체 복합체의 개략적 도식을 도시하고, 여기서 Fc/Fc 폴리펩티드는 이중이량체의 동종이량체 복합체의 발현 및 어셈블리를 증진하기 위한 크롭-인-홀 Fc 쌍 (A-F) 및 GDF15 분자 (E, F) 상에 N-연결된 글리칸의 편입이다.

도 2a는 가공된 (Fc/Fc)-GDF15 복합체의 Expi 293F 일시적 발현으로부터 회수를 도시한다. 회수는 아래와 같다: (0 = 응집물/무 발현, <25mg/L, 25mg/L-49.9mg/L, 50mg/L-74.9mg/L, 75mg/L-99.0mg/L, >100mg/L). (Fc/Fc)-GDF15 내 GDF15 서열 상에 N-연결된 글리칸의 부가는 정제에 따른 전체 회수에 유의미한 증가를 제공한다. 도 2b는 Fc에 콘주게이트되지 않은 야생형 GDF15 및 GDF15-글리코실화 돌연변이체 (글리코뮤테인)의 Expi 293F 일시적 발현으로부터 회수를 제공한다.

도 3은 0.4nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 복합체를 4주 동안 1주일에 1회 피하 전달한 후 그 다음 14일 회복 기간에 의한 섭식-유도된 비만인 (DIO) 마우스 모델에서 체중에서의 감소를 도시한다. B13a/B13b 변이체는 B9a/B9b 및 B11a/B11b 변이체에 비해 유의미하게 개선된 효능을 갖는다.

도 4는 0.4nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 복합체를 4주 동안 1주일에 1회 피하 투여한 후 그 다음 14일 회복 기간에 의한 DIO 마우스 모델에서 체중에서의 감소 백분율을 도시한다. B13a/B13b 변이체는 투여 후 14일의 회복 후 20%보다 더 큰 체중에서의 비히클 공제된 % 변화를 갖는다.

도 5는 4.0nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 복합체를 4주 동안 1주일에 1회 피하 투여한 후 그 다음 14일 회복 기간에 의한 DIO 마우스 모델에서 체중에서의 감소를 도시한다.

도 6은 4.0nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 복합체를 4주 동안 1주일에 1회 피하 투여한 후 그 다음 14일 회복 기간에 의한 DIO 마우스 모델에서 체중에서의 감소 백분율을 도시한다.

도 7 및 8은 도 3 및 5에 도시된 0.4nmol/kg 및 4.0nmol/kg 복용량 군에 대한 DIO 마우스의 각 군(n=6)에 대한 관측된 체중 감소(SEM 및 p-값을 포함함)를 요약한다. 모든 군에 대해, 쌍으로 되지 않은 t-시험을 통함 (\* = p<0.05, \*\* = p<0.01 및 \*\*\* = p<0.001).

도 9는 도 4 및 6에 도시된 0.4nmol/kg 및 4.0nmol/kg 복용량 군에 대한 DIO 마우스의 각 군(n=6)에 대한 체중 감소 백분율(SEM 및 p-값을 포함함)을 요약한다. 모든 군에 대해, 쌍으로 되지 않은 t-시험을 통함 (\* = p<0.05, \*\* = p<0.01 및 \*\*\* = p<0.001).

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0058] 본 개시내용의 방법 및 조성물이 추가로 기술되기 전에, 본 개시내용은 본 명세서에 제시된 특정한 구현예에 제한되지 않는 것으로 이해되어야 하고, 그리고 또한 본 명세서에 사용된 용어는 단지 특정한 구현예를 기술하기 위한 목적이고 제한되어 지는 것으로 의도되지 않는다고 이해되어야 한다.

[0059] 값의 범위가 제공되는 경우, 각각의 그 사이의 값은, 맥락을 명백히 달리 나타내지 않는 한 하한의 단위의 1/10 까지, 상기 범위의 상한과 하한 사이 및 상기 지칭된 범위에서 임의의 기타 지칭된 또는 그 사이의 값이 본 발명 내에 포함되는 것으로 이해된다. 이들 더 작은 범위의 상한과 하한은 독립적으로 더 작은 범위 내에 포함될 수 있으며 또한 본 발명의 범위 내에 포괄되어, 지칭된 범위에서 임의의 구체적으로 배제된 범위로 제한될 수 있다. 상기 진술된 값이 제한치 중 하나 또는 둘다를 포함하는 경우, 이들 포함된 제한의 둘다를 배제하는 범위가 또한 본 발명에 포함된다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자 중 일인에게 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 가진다.

[0060] 본원에 그리고 첨부된 청구항에 사용된 바와 같이, 단수형 “a,” “an,” 및 “the” 는 문맥에 명확히 달리 나타내지 않는 한 복수의 대상을 포함함을 주목해야 한다. 따라서, 예를 들면, “복합체”에 대한 지칭은 하나 이상의 복합체 등에 대한 지칭을 포함한다. 추가로, 청구항은 임의의 선택적 요소를 배제하도록 초안을 작성할 수 있음을 주목한다. 이와 같이, 이러한 지칭은 청구항 요소의 지칭 또는 “부정적인” 제한의 사용과 관련하여 “단독으로,” “유일한”으로서 이러한 배타적인 용어의 사용을 위한 선행 기초로서 작용할 것이다.

- [0061] 본원에서 논의된 공보는 본원의 출원일 전에 이들의 기재에 대해 단독으로 제공된다. 본원에서 어떠한 것도 본 발명이 선행 발명에 의해 상기 공보를 보다 선행할 자격이 없음을 인정하는 것으로 해석되지 말아야 한다. 추가로, 제공된 공보의 날짜는 실제 공보 날짜와 상이할 수 있고 이는 독립적으로 확인될 필요가 있을 수 있다.
- [0062] **정의**
- [0063] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된 용어들 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 유전자 상으로 암호화된 및 비-유전자 상으로 암호화된 아미노산, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된 또는 유도된 아미노산, 및 변형된 폴리펩티드 골격을 갖는 폴리펩티드를 포함할 수 있는, 임의의 길이의 아미노산의 폴리머성 형태를 지칭한다. 본 용어들은, 비제한적으로, 이중성 아미노산 서열을 갖는 융합 단백질, N-말단 메티오닌 잔기를 갖거나 갖지 않는, 이중성 및 상동성 선도 서열을 갖는 융합 단백질을 포함하는 융합 단백질; 번역학적으로 표지된 단백질; 등을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 용어들은 유전자 상으로 암호화된 아미노산을 포함하는 임의의 길이의 아미노산의 폴리머성 형태를 지칭한다. 특정 구현예에서, 본 용어들은 이중성 아미노산 서열에 융합된 유전자 상으로 암호화된 아미노산을 포함하는 임의의 길이의 아미노산의 폴리머성 형태를 지칭한다. 특정 구현예에서, 본 용어들은 이중성 서열에 임의로 융합된, 98-112 아미노산 길이의 아미노산을 지칭한다. 특정 구현예에서, 적절한 경우, 본 명세서에 개시된 및 기재된 단백질 및 분자를 지칭할 때, 용어들 "폴리펩티드", "펩티드", 및 "단백질"은 본 명세서에서 정의된 바와 같은 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0064] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "복합체"는 적어도 2종의 폴리펩티드를 포함하는 단백질 복합체를 지칭하고, 이들 폴리펩티드의 각각은 N-말단 및 C-말단을 포함한다. 적어도 2종의 폴리펩티드는 공유 및 비-공유 상호작용 (예를 들면, 정전기,  $\pi$ -효과, 반데르발스력, 및 소수성 효과)의 하나 또는 둘 모두를 통해 서로 연계되어 질 수 있다. 적어도 2종의 폴리펩티드는 동일할 수 있고, 즉, 동일한 아미노산 서열을 가지거나 또는 상이할 수 있고, 즉, 동일한 아미노산 서열을 가지지 않는다. 양 폴리펩티드가 동일한 2개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 동종이량체로 지칭된다. 양 폴리펩티드가 상이한 2개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 이종이량체로 지칭된다. 세 폴리펩티드가 동일한 세 개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 동형삼량체로 지칭된다. 세 폴리펩티드 중 적어도 하나 다른 폴리펩티드(들)과 상이한 세 개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 이종삼량체로 지칭된다. 네 폴리펩티드가 동일한 네 개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 호모테트라머로 지칭된다. 네 폴리펩티드 중 적어도 하나 다른 폴리펩티드(들)과 상이한 네 개의 폴리펩티드를 갖는 복합체는 헤테로사량체로 지칭된다. 제1 폴리펩티드가 제2 폴리펩티드와 이량체화되어 이종이량체를 형성하고 그리고 2개의 이러한 이종이량체가 이량체화되어 복합체를 형성하는, 제1 폴리펩티드의 두 분자 및 제2 폴리펩티드의 두 분자인 - 네 폴리펩티드의 예시적인 복합체는 두 이종이량체의 동종이량체 복합체로 지칭될 수 있다.
- [0065] 본 개시내용은, 비제한적으로 제2 폴리펩티드와 연계된 제1 폴리펩티드를 갖는 이종이량체를 포함하는 상기에서 정의된 바와 같은 복합체를 고려하고, 여기서 제1 폴리펩티드는 '크롭' Fc이고 그리고 제2 폴리펩티드는 '홀' Fc이고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드 중 어느 하나는 GDF15 (또는 GDF15 뮤테인, 예컨대, 본 명세서에서 기재된 GDF15 뮤테인) 아미노산 서열에 융합된다. 제1 및 제2 폴리펩티드는 비-공유 상호작용 (예를 들면, 소수성 효과, 예컨대, Fc의 크롭과 홀 영역 사이의 소수성 상호작용), 공유 결합 (예를 들면, 이황화 결합, 예컨대, 제1 및 제2 폴리펩티드 내 Fc의 힌지 영역 사이의 1 또는 2 또는 그 이상의 이황화 결합), 또는 둘 모두를 통해 서로 물리적으로 연관될 수 있다.
- [0066] 본 개시내용은 또한 서로 연관된 2개의 이종이량체를 포함하는 복합체를 고려하고, 각 이종이량체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 가지고, 여기서 제1 폴리펩티드는 '크롭' Fc이고 그리고 제2 폴리펩티드는 '홀' Fc이고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드 중 어느 하나는 GDF15 (또는 GDF15 뮤테인) 아미노산 서열에 융합된다. 복합체 내에서, 두 이종이량체는 비-공유 상호작용 (예를 들면, 소수성 효과), 공유 결합 (예를 들면, 이황화 결합), 또는 둘 모두에 의해 물리적으로 연관될 수 있다. 복합체 내 각각의 이종이량체 내 제1 및 제2 폴리펩티드는 비-공유 상호작용 (예를 들면, 소수성 효과), 공유 결합 (예를 들면, 이황화 결합), 또는 둘 모두에 의해 서로 물리적으로 연관될 수 있다.
- [0067] 본 개시내용은 또한 서로 연관된 2개의 이종이량체를 포함하는 복합체를 고려하고, 각 이종이량체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 가지고, 여기서 제1 폴리펩티드는 '크롭' Fc이고 그리고 제2 폴리펩티드는 '홀' Fc이고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드 중 어느 하나는 GDF15 (또는 GDF15 뮤테인) 아미노산 서열에 융합된다. 복합체 내 각각의 이종이량체 내 제1 및 제2 폴리펩티드는 비-공유 상호작용 (예를 들면, 소수성 효과) 또는 GDF15 폴리펩티드 사이의 공유 상호작용 (예를 들면, 이황화 결합(들))에 의해 물리적으로 연관될 수 있고 그리고 각각의 이종이량체 내 제1 및 제2 폴리펩티드는 비-공유 상호작용 (예를 들면, 홀 안으로

크늄), 공유 결합 (예를 들면, 이황화 결합), 또는 둘 모두에 의해 서로 물리적으로 연관될 수 있다.

[0068] 용어들 "환자" 또는 "대상체"는 인간 또는 비-인간 동물 (예를 들면, 포유동물)을 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다.

[0069] 용어들 "치료한다", "치료하는", "치료" 등은 질환, 장애 또는 병태, 또는 이들의 증상이 진단, 관측, 등이 된 후 대상체가 앓는 질환, 장애, 또는 병태의 근본적인 원인 중 적어도 하나 또는 대상체가 앓는 질환, 장애, 증상과 관련된 증상 중 적어도 하나를 일시적으로이거나 또는 영구적으로 제거, 감소, 억제, 완화, 또는 개선하기 위해 개시된 작용 (예컨대 제제, 예를 들면, 폴리펩티드, 복합체, 또는 폴리펩티드, 복합체를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것)의 경로를 지칭한다. 따라서, 치료는 (예를 들면, 혈류에서 인슐린 및/또는 글루코스의 수준을 감소하기 위해, 글루코스 수준의 변동을 최소화하기 위하여 글루코스 내성을 증가하기 위해, 및/또는 글루코스 항상성의 파괴에 의해 야기된 질환에 대해 보호하기 위해, 체중을 감소하고, 체중 증가를 억제하기 위해) 활성 질환을 억제하는 것(즉, 이들과 연계한 질환, 장애 또는 병태 또는 임상 증상의 전개 또는 전개를 억제함)을 포함한다.

[0070] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "치료를 요하는"은 대상체가 치료를 요구하거나 치료로부터 이점이 있는 의사 또는 다른 간병인에 의해 행해지는 판단을 지칭한다. 이 판단은 의사 또는 간병인의 전문 지식의 영역에 있는 다양한 인자를 기반으로 행해진다.

[0071] 용어들 "예방하다", "예방하는", "예방" 등은 (예를 들면, 임상 증상의 부재에 의해 결정된 것으로) 질환, 장애, 증상 등을 전개하는 대상체의 위험을 일시적으로나 또는 영구적으로 방지, 억제, 저해 또는 감소하기 위해 또는 일반적으로 특정한 질환, 장애 또는 병태를 갖는 것에 취약한 대상체의 맥락에서 이들의 개시를 지연하는 방식으로 (예를 들면, 질환, 장애, 상태 또는 이들의 증상의 개시 전에) 개시된 작용 (예컨대 제제, 예를 들면, 폴리펩티드, 복합체, 또는 폴리펩티드, 복합체를 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것)의 경로를 지칭한다. 특정 사례에서, 용어들은 또한 질환, 장애 또는 병태의 진행을 늦추는 것 또는 유해한 또는 달리 원하지 않는 상태로 이들의 진행을 억제하는 것을 지칭한다.

[0072] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "예방을 요하는"은 대상체가 예방을 요구하거나 예방적 관리로부터 이점이 있는 의사 또는 다른 간병인에 의해 행해지는 판단을 지칭한다. 이 판단은 의사 또는 간병인의 전문 지식의 영역에 있는 다양한 인자를 기반으로 행해진다.

[0073] 어구 "치료적으로 유효한 양"은 단독 또는 약제학적 조성물의 일부로서, 그리고 단위 용량 또는 일련의 용량의 일부로, 환자에게 투여될 때 질환, 장애 또는 병태의 임의의 증상, 측면 또는 특징 상에 임의의 검출가능한, 긍정적인 효과를 가질 수 있는 양으로 대상체에 제제의 투여를 지칭한다. 치료적으로 유효한 양은 관련된 생리적 효과를 측정함에 의해 확인될 수 있다. 예를 들면, 고혈당 증상의 경우에 있어서, 혈당을 낮추거나 감소 또는 글루코스 내성 시험에서의 개선이 제제의 양이 고혈당 증상을 치료하는데 유효한지를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 치료적으로 유효한 양은 공복 혈장 글루코스 (FPG)의 임의의 수준 (예를 들면, 기준선 수준)을 줄이거나 또는 감소하기에 충분한 양이고, 여기서, 예를 들면, 양은 FPG 수준을 200 mg/dl 초과 내지 200 mg/dl 미만으로 감소하기에 충분하고, 여기서 양은 FPG 수준을 개시 수준보다 미만인 175 mg/dl 내지 200 mg/dl 사이로 감소하기에 충분하고, 여기서 양은 FPG 수준을 개시 수준보다 미만인 150 mg/dl 내지 175 mg/dl 사이로 감소하기에 충분하고, 여기서 양은 FPG 수준을 개시 수준보다 미만인 125 mg/dl 내지 150 mg/dl 사이로 감소하기에 충분하고, 등등이다 (예를 들면, FPG 수준을 125 mg/dl 미만으로, 120 mg/dl 미만으로, 115 mg/dl 미만으로, 110 mg/dl 미만 등으로 감소하는 것). HbA1c 수준의 경우에 있어서, 유효한 양은 약 10% 내지 9% 이상, 약 9% 내지 8% 이상, 약 8% 내지 7% 이상, 약 7% 내지 6% 이상, 약 6% 내지 5% 이상, 등으로 수준을 낮추거나 감소하는데 충분한 양이다. 더 상세하게는, 약 0.1%, 0.25%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 1.5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 33%, 35%, 40%, 45%, 50%, 또는 그 이상으로 HbA1c 수준의 감소 또는 축소가 본 개시내용에 의해 고려된다. 치료적으로 유효한 양은 투여 요법 및 대상체의 증상 등의 진단 분석과 연계하여 조정될 수 있다.

[0074] 어구 "변화에 영향을 미치기에 충분한 양으로"는 특정한 요법의 투여 전(예를 들면, 기준선 수준) 및 후 측정된 지표의 수준간에 검출가능한 차이가 있다는 것을 의미한다. 지표는 임의의 객관적 파라미터 (예를 들면, 글루코스 또는 인슐린 또는 음식 섭취 또는 체중의 수준) 또는 주관적 파라미터 (예를 들면, 웰빙 또는 식욕의 대상체의 느낌)를 포함한다.

[0075] 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 어구 "글루코스 내성"은 글루코스 섭취가 변동될 때 혈장 글루코스 및/또는



혈장 인슐린의 수준을 조절할 수 있는 대상체의 능력을 의미한다. 예를 들면, 글루코스 내성은 글루코스의 섭취 전에 결정된 수준까지로 혈장 글루코스의 수준을 약 120분 이내에 감소시키는 대상체의 능력을 포괄한다.

[0076] 용어들 "당뇨병" 및 "당뇨병성"은 인슐린의 부적절한 생산 또는 이용을 포함하는 탄수화물 대사의 진행성 질환을 지칭하고, 빈번하게 고혈당증 및 당뇨에 의해 특징되어 진다. 용어들 "준당뇨병" 및 "전-당뇨병성"은 대상체가 당뇨병에서 전형적으로 관찰되는 특성, 증상 등을 가지지 않지만, 만일 치료되지 않고 방치되면, 당뇨병으로 진행될 수 있는 특징, 증상 등을 가지는 상태를 지칭한다. 이들 증상의 존재는 예를 들면, 공복 혈장 글루코스 (FPG) 시험 또는 경구 글루코스 내성 시험 (OGTT)의 어느 하나를 사용하여 결정될 수 있다. 양자는 보통 시험을 개시하기 전 적어도 8시간 동안 대상체가 금식하는 것을 요한다. FPG 시험에서, 대상체의 혈당은 금식의 완료 후에 측정된다; 일반적으로, 대상체는 밤새 단식을 하고 그리고 혈당은 대상체가 식사하기 전에 아침에 측정된다. 건강한 대상체는 일반적으로 약 90 내지 약 100 mg/dl 사이의 FPG 농도를 가질 것이고, "준당뇨병"이 있는 대상체는 일반적으로 약 100 내지 약 125 mg/dl 사이의 FPG 농도를 가질 것이고, 그리고 "당뇨병"이 있는 대상체는 일반적으로 약 126 mg/dl 이상의 FPG 수준을 가질 것이다. OGTT에 있어서, 대상체의 혈당은 공복 후에 그리고 글루코스-풍부 음료 섭취 두 시간 후 다시 측정된다. 글루코스-풍부 음료의 소비 두 시간 후, 건강한 대상체는 일반적으로 약 140 mg/dl 이하의 혈당 농도를 가지고, 전-당뇨병성 대상체는 일반적으로 약 140 내지 약 199 mg/dl의 혈당 농도를 가지고, 그리고 당뇨병성 대상체는 일반적으로 약 200 mg/dl 또는 그 이상의 혈당 농도를 가진다. 상기 지칭된 혈당 값은 인간 대상체에 속하지만, 정상혈당, 중간 정도의 고혈당증 및 명백한 고혈당증은 무린 대상체에서 상이하게 측정된다. 금식 4-시간 후 건강한 무린 대상체는 일반적으로 약 100 내지 약 150 mg/dl 사이의 FPG 농도를 가지며, "전-당뇨병"을 갖는 무린 대상체는 일반적으로 약 175 내지 약 250 mg/dl 사이의 FPG 농도를 가지고, 그리고 "당뇨병"이 있는 무린 대상체는 일반적으로 약 250 mg/dl 이상의 FPG 농도를 가질 것이다.

[0077] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "인슐린 내성"은 정상적인 양의 인슐린이 정상적인 생리적 또는 분자 반응을 생성할 수 없는 상태를 지칭한다. 일부 경우에서, 내인성으로 생산되거나 또는 외인성으로 투여된, 과도-생리적 양의 인슐린은 전체적으로 또는 부분적으로, 인슐린 내성을 극복할 수 있고 그리고 생물학적 반응을 생성할 수 있다.

[0078] 용어 "대사성 증후군"은, 비제한적으로, 고인슐린혈증, 비정상적인 글루코스 내성, 비만, 복부 또는 상체 구획으로의 지방의 재분배, 고혈압, 이상삼유소분해 및 고지혈증, 낮은 고밀도 지질단백질 (HDL)-콜레스테롤, 및 고밀도 저밀도 지질단백질 (LDL) 입자에 의해 특징되는 이상지질혈증을 포함하는 특성의 관련된 클러스터를 지칭한다. 대사성 증후군을 갖는 대상체는 2형 당뇨병 및/또는 다른 장애(예를 들면, 죽상경화증)의 전개에 대한 위험이 있다.

[0079] 어구 "글루코스 대사 장애"는 건강한 개체에 대해 대상자에서 상승된 수준의 글루코스 및/또는 상승된 수준의 인슐린과 관련된 임상 증상 또는 임상 증상의 조합으로 특징된 임의의 장애를 포괄한다. 상승된 수준의 글루코스 및/또는 인슐린은 하기 질환, 장애 및 증상으로 명확하게 될 수 있다: 다른 것 중에서, 고혈당증, II형 당뇨병, 임신의 당뇨병, I형 당뇨병, 인슐린 내성, 손상된 글루코스 내성, 고인슐린혈증, 손상된 글루코스 대사, 전-당뇨병, 다른 대사성 장애 (예컨대, 또한 일명 증후군 X인 대사성 증후군), 및 비만. 본 개시내용의 복잡체, 및 이들의 조성물은, 예를 들면 글루코스 항상성을 달성 및/또는 유지하기 위해, 예를 들면 혈류 내 글루코스 수준을 감소하기 위해 및/또는 건강한 대상체에서 발견된 범위로 인슐린 수준을 감소하기 위해 사용될 수 있다.

[0080] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "고혈당증"은 건강한 개체에 대해 상승된 양의 글루코스가 대상체의 혈장에서 순환하는 상태를 지칭한다. 고혈당증은 본 명세서에서 기재된 바와 같이 공복 혈당 수준의 측정을 포함하는 당해 분야에서 공지된 방법을 사용하여 진단될 수 있다.

[0081] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "고인슐린혈증"은 동시에, 혈당 수준이 상승되거나 정상인 경우, 상승된 수준의 순환 인슐린이 있는 상태를 지칭한다. 고인슐린혈증은 이상지질혈증, 예컨대 고지혈증, 높은 콜레스테롤, 높은 저밀도 지질단백질 (LDL) 및 낮은 고-밀도 지질단백질 (HDL); 높은 요산 수준; 다낭성 난소 증후군; II형 당뇨병 및 비만과 관련된 인슐린 내성에 의해 야기될 수 있다. 고인슐린혈증은 약 2  $\mu$ U/mL보다 높은 혈장 인슐린 수준을 갖는 것으로 진단될 수 있다.

[0082] 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 어구 "체중 장애"는 과도한 체중 및/또는 향상된 식욕과 관련된 상태를 지칭한다. 대상체가 대상체의 연령, 높이, 성별 및 건강 상황을 포함한 참조 건강한 개체에 비교하여 과체중인가를 결정하기 위해 다양한 변수가 사용된다. 예를 들면, 대상체는 킬로그램으로 대상체의 체중을 미터로 대상체의 키의 제곱으로 나눔에 의해 계산된, 대상체의 체질량 지수 (BMI)의 평가에 의해 과체중 또는 비만으로 고려될

수 있다. ~18.5 내지 ~24.9 kg/m<sup>2</sup>의 범위로 되는 BMI를 갖는 성인은 정상 체중을 갖는 것으로 고려된다; ~25 내지 ~29.9 kg/m<sup>2</sup> 사이의 BMI를 갖는 성인은 과체중(전-비만인)으로 고려될 수 있다; 그리고 ~30 kg/m<sup>2</sup> 또는 그 이상의 BMI를 갖는 성인은 비만인 것으로 고려될 수 있다. 향상된 식욕은 빈번하게 과도한 체중에 기여한다. 아침 식욕 부진 및 때로는 불면증과 관련된 저녁 식욕항진에 의해 특징되지만, 시상하부에 대한 부상에 관련될 수 있는, 예를 들면, 야식 증후군을 포함하는, 향상된 식욕과 관련된 몇 개의 증상이 있다.

[0083] 용어 "활성인자"는 예를 들면, 하나 이상의 제제, 예를 들면, 대사성 장애를 치료 또는 예방하기 위해 사용된 폴리펩티드 또는 복합체의 기능 또는 활성을 자극, 증가, 활성화, 촉진, 활성화 증진, 민감화 또는 상향-조절하는 제제를 의미한다. 또한, 활성인자는 본 발명의 폴리펩티드와 동일한 작용 기전을 통해 작동하는 제제(즉, 폴리펩티드의 것에 비슷한 방식으로 폴리펩티드와 동일한 신호전달 경로를 조절하는 제제)를 포함하고 그리고 폴리펩티드의 것에 비교할만한 (또는 그보다 더 큰) 생물학적 반응을 이끌어 낼 수 있다. 활성인자의 예는 효능제 예컨대 소분자 화합물을 포함한다.

[0084] 용어 "조절인자"은 종합적으로 본 발명의 폴리펩티드 및 활성인자를 의미한다.

[0085] 용어들 "조절한다", "조절" 등은 직접적으로나 또는 간접적으로, 하나 이상의 폴리펩티드 (또는 이들을 암호화하는 핵산 분자)의 기능 또는 활성을 증가하는 제제 (예를 들면, 활성인자)의 능력; 또는 하나 이상의 폴리펩티드의 것에 비교할만한 효과를 생성하는 제제의 능력을 지칭한다.

[0086] 본 개시내용 전체에 걸쳐, 단일 문자 또는 세 문자 코드에 따른 아미노산이 지칭됨을 알 수 있을 것이다. 독자의 편의를 위해, 단일 및 세 문자 아미노산 코드가 아래에 제공된다:

G	글리신	Gly		P	프롤린	Pro
A	알라닌	Ala		V	발린	Val
L	류신	Leu		I	이소류신	Ile
M	메티오닌	Met		C	시스테인	Cys
F	페닐알라닌	Phe		Y	티로신	Tyr
W	트립토판	Trp		H	히스티딘	His
K	리신	Lys		R	아르기닌	Arg
Q	글루타민	Gln		N	아스파라긴	Asn
E	글루탐산	Glu		D	아스파르트산	Asp
S	세린	Ser		T	트레오닌	Thr

[0087]

[0088] 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 용어 "변이체"는 천연 발생 변이체 (예를 들면, 동족체 및 대립유전자 변이체) 및 비-천연 발생 변이체 (예를 들면, 재조합으로 변형된 것)를 포괄한다. 천연 발생 변이체는 동족체, 즉, 하나의 종으로부터 다른 종으로, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 각각에서 다른 핵산 및 폴리펩티드를 포함한다. 천연 발생 변이체는 대립유전자 변이체, 즉, 종 내에서 하나의 개체에서 또 다른 것으로 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 각각에서 다른 핵산 및 폴리펩티드를 포함한다. 비-천연 발생 변이체는 서열에서의 변화가 인공적으로 도입된, 예를 들면, 변화가 인간 개입 ("사람의 손")에 의해 실험실 또는 다른 시설에서 생성된, 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 각각에서 변화를 포함하는 핵산 및 폴리펩티드를 포함한다.

[0089] GDF15에 대한 참조로, 용어 "원상태" 또는 "야생형"은 생물학적 활성인, 천연 발생 GDF15 변이체를 포함하는 생물학적 활성인 천연 발생 GDF15를 의미한다. 본 용어는 112 아미노산 인간 GDF15 성숙한 서열 (서열 번호: 1)을 포함한다.

[0090] 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "뮤테인"은 광범위하게 재조합 단백질, 즉, 인공적으로 도입된 아미노산 서열에서의 변화, 예를 들면 인간 개입 ("사람의 손")에 의해 실험실 또는 다른 시설에서 생성된 아미노산 서열에서의 변화를 포함하는 폴리펩티드를 의미한다. 이들 폴리펩티드는 보통 단일 또는 다중 아미노산 치환 또는 결실을 수반하고 그리고 빈번하게 부위 지향적 또는 랜덤 돌연변이유발되도록 된 클로닝된 유전자로부터, 또는 완전히 합성 유전자로부터 유도된다. 본 개시내용의 "GDF15 뮤테인"은 따라서, 예를 들면, 참조 폴리펩티드에 대해, 예를 들면, 원상태/야생형 성숙한 인간 GDF15 (서열 번호: 1)에 대해 아미노산 치환 및/또는 아미노산 결

실 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 또는 그 이상 아미노산의 N-말단 절단) 을 포괄한다.

[0091] 원상태 인간 GDF15 또는 GDF15 뮤테인에 대한 참조로 본 명세서에서 사용된 바와 같은, 용어들 "변형된", "변형" 등은 인간 GDF15, 천연 발생 GDF15 변이체, 또는 GDF15 뮤테인의 특성을 변형시키는 하나 이상의 변경을 지칭하고, 여기서 본 변경은 GDF15 폴리펩티드 (원상태 또는 뮤테인) 그 자체의 1차 아미노산 서열을 변경하지 않는다. 이와 같은 특성은, 예를 들면, 용해도, 순환 반감기, 안정성, 청소능, 면역원성 또는 알러지항원성, 및 제조가능성(예를 들면, 비용 및 효율)을 포함한다. "변형"은 GDF15 폴리펩티드 (원상태 또는 뮤테인) 그 자체의 1차 아미노산 서열을 변경하지 않는 공유 화학 변형을 포함한다. 수행될 수 있는 인간 GDF15, 천연 발생 GDF15 변이체, 또는 GDF15 뮤테인에 대한 변경은, 비제한적으로, 하나 이상의 폐길화 (폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 또는 그것의 유도체 중 하나 이상의 분자의 공유 결합); 글리코실화 (예를 들면, N-글리코실화), 폴리시알릴화 및 헤실화; 말토오스 결합 단백질 융합; 알부민 융합 (예를 들면, HSA 융합); 예를 들면, 콘주게이트된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화); Fc-융합; 및 PEG 모방체와의 융합을 포함한다. 몇몇 특정 구현에는 Fc에 융합을 포함하는 변형을 수반하며, 그리고 또 다른 특정한 변형은 글리코실화, 또는 이들의 조합을 포함하는 변형을 수반한다.

[0092] 용어들 "DNA", "핵산", "핵산 분자", "폴리뉴클레오티드" 등은 데옥시리보뉴클레오티드이거나 또는 리보뉴클레오티드, 또는 그것의 유사체인, 임의의 길이의 뉴클레오티드의 폴리머성 형태를 지칭하기 위해 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 폴리뉴클레오티드의 비-제한적인 예는 선형 및 원형 핵산, 메신저 RNA (mRNA), 상보적 DNA (cDNA), 재조합 폴리뉴클레오티드, 벡터, 프로브, 프라이머 등을 포함한다.

[0093] 용어 "프로브"는 관심 대상의 유전자 또는 서열에 상응하는 DNA 또는 RNA의 단편을 지칭하며, 여기서 본 단편은 방사선허성적으로 (예를 들어, <sup>32</sup>P 또는 <sup>35</sup>S를 혼입함에 의해) 또는 일부 다른 검출가능한 분자, 예컨대 바이오틴, 디옥시게닌 또는 플루오레신으로 표지된다. 상보적인 서열을 가진 DNA 또는 RNA의 뻗어나기로서, 예를 들면, 관심 유전자를 함유하는 겔 상에 바이러스 플라크, 박테리아 콜로니 또는 밴드를 표지하는 프로브가 사용될 수 있다. 프로브는 클로닝된 DNA일 수 있거나 또는 이것은 합성 DNA 가닥일 수 있다; 후자는 예를 들면, cDNA 라이브러리 또는 게놈 라이브러리를 선별하기 위한 프로브로서, 단백질의 일부를 미세 서열분석하고, 단백질을 암호화하는 핵산 서열을 추론하고, 그 서열을 수반하는 올리고뉴클레오티드를 합성하고, 서열을 방사성 표지하고 그리고 그것을 사용함에 의해 단리된 단백질로부터 cDNA 또는 게놈 클론을 수득하기 위해 사용될 수 있다.

[0094] 용어 "이종성"은 상이한 공급원으로부터 유도된 구조로 정의된 두 성분을 지칭한다. 예를 들면, 폴리펩티드의 맥락에서, "이종성" 폴리펩티드는 상이한 폴리펩티드 (예를 들면, 재조합 폴리펩티드를 포함하는 제1 성분 및 원상태 GDF15 폴리펩티드로부터 유도된 제2 성분)로부터 유도된 작동가능하게 연결된 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 키메라성 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드의 맥락에서, "이종성" 폴리뉴클레오티드는 상이한 유전자 (예를 들면, 본 명세서에서 개시된 일 구현예에 따르면 폴리펩티드를 암호화하는 핵산으로부터의 제1 성분 및 담체 폴리펩티드를 암호화하는 핵산으로부터의 제2 성분)로부터 유도될 수 있 작동가능하게 연결된 핵산 서열을 포함할 수 있다. 다른 예시적 "이종성" 핵산은 암호화 서열을 포함하는 핵산이 암호화 서열과는 상이한 유전학적 기원으로부터 유래된 조절 요소(예를 들어, 프로모터)에 작동적으로 연결된(예를 들어, 프로모터, 암호화 서열 또는 이 둘다와 비교하여 상이한 유전학적 기원일 수 있는 목적하는 숙주 세포에서 발현을 제공하기 위해) 발현 작제물을 포함한다. 예를 들어, GDF15 폴리펩티드 또는 이의 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오티드와 작동적으로 연결된 T7 프로모터는 이종성 핵산인 것으로 일컬어진다. 재조합 세포와 관련하여 "이종성"은 이것이 존재하는 숙주 세포와는 상이한 유전학적 기원인 핵산(또는 폴리펩티드와 같은 유전자 생성물)의 존재를 지칭할 수 있다.

[0095] 용어 "작동가능하게 연결된"은 목적 기능을 제공하기 위해 분자 사이에 연결을 지칭한다. 예를 들면, 핵산의 맥락에서 "작동가능하게 연결된"은 핵산 서열 사이의 기능적 연결을 지칭한다. 예로써, 핵산 발현 조절 서열 (예컨대 프로모터, 신호 서열, 또는 전사 인자 결합 부위의 배열)은 제2 폴리뉴클레오티드에 작동가능하게 연결될 수 있고, 여기서 발현 조절 서열은 제2 폴리뉴클레오티드의 전사 및/또는 번역에 영향을 미친다. 폴리펩티드의 문맥에서, "작동가능하게 연결된"은 폴리펩티드의 기재된 활성을 제공하기 위한 아미노산 서열 (예를 들면, 상이한 도메인) 사이의 기능적 연결을 의미한다.

[0096] 본 명세서에서 사용된 바와 같이 폴리펩티드의 구조의 맥락에서, "N-말단" (또는 "아미노 말단") 및 "C-말단" (또는 "카복실 말단")은 각각 폴리펩티드의 극단 아미노 및 카복실 말단을 지칭하는 반면, 용어들 "N 말단" 및

"C-말단"은 각각 N-말단 및 C-말단을 향한 폴리펩티드의 아미노산 서열에서의 상대적 위치를 지칭하고, 그리고 N-말단 및 C-말단에서의 잔기를 각각 포함할 수 있다. "즉시 N-말단"또는 "즉시 C-말단"은 제1 및 제2 아미노산 잔기가 인접 아미노산 서열을 제공하도록 공유 결합된 제2 아미노산 잔기에 대한 제1 아미노산 잔기의 위치를 의미한다.

[0097] 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열과 관련하여 "로부터 유래된" (예를 들어, GDF15 폴리펩티드 "로부터 유래된" 아미노산 서열)은 상기 폴리펩티드 또는 핵산이 표준 폴리펩티드 또는 핵산(예를 들어, 천연적으로 발생하는 GDF15 폴리펩티드 또는 GDF15-암호화 핵산)을 기초로 하는 서열을 가짐을 지적하는 것으로 의미되고 상기 단백질 또는 핵산이 제조된 공급원 또는 방법으로서 제한하는 것으로 의미되지 않는다. 예로써, 용어 "로부터 유도된"은 참조 아미노산 또는 DNA 서열의 동족체 또는 변이체를 포함한다.

[0098] 폴리펩티드의 맥락에서, 용어 "단리된"은, 천연 발생이면, 이것이 자연적으로 발생할 수 있는 것과 상이한 환경에 있는 관심 대상의 폴리펩티드를 지칭한다. "단리된"은 목적하는 폴리펩티드가 실질적으로 풍부한 샘플 내에 존재하고/하거나 목적하는 폴리펩티드가 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 폴리펩티드를 포함하는 것으로 의미된다. 폴리펩티드가 천연 발생이 아닌 경우, "단리된"은 이것이 합성 또는 재조합의 어느 하나의 수단에 의해 만들어 진 환경으로부터 분리된 폴리펩티드를 포함한다.

[0099] "풍부한"은 샘플이 비-천연적으로 가공되어 (예를 들어, 과학자 또는 임상체에 의해 실험실 내에서) 관심 폴리펩티드가 하기로 존재한다: a) 생물학적 샘플(예를 들어, 폴리펩티드가 천연적으로 발생하거나 이것이 투여 후에 존재하는 샘플) 또는 폴리펩티드가 제조된 (예를 들어, 세균성 폴리펩티드, 항체, 폴리펩티드 등)에서와 같이) 출발 샘플 중에 폴리펩티드의 농도보다 큰 농도(예를 들어, 적어도 3배 큰, 적어도 4배 큰, 적어도 8배 큰 또는 적어도 64배 큰), 또는 b) 폴리펩티드가 제조되는 환경 (예컨대, 박테리아 세포 내) 보다 큰 농도.

[0100] "실질적으로 순수한"은 성분 (예를 들면, 폴리펩티드, 이량체, 사량체, 복합체)가 조성물의 총 함량의 약 50% 초과, 그리고 전형적으로 총 폴리펩티드 함량의 약 60% 초과를 구성하는 것을 나타낸다. 더욱 전형적으로, "실질적으로 순수한"은 총 조성물의 적어도 75%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 그 이상이 관심 대상의 성분인 조성물을 지칭한다. 일부 경우에서, 성분은 조성물의 총 함량의 약 90% 초과, 또는 약 95% 초과를 구성할 것이다.

[0101] 용어들 "항체" (Abs) 및 "면역글로불린" (Igs)은 동일한 구조적 특징을 갖는 당단백질을 지칭한다. 항체는 특이적 항원에 대해 결합 특이성을 나타내는 반면, 면역글로불린은 항원 특이성을 결하는 다른 항체-유사 분자 및 항체 양자를 포함한다. 항체는 이후에 상세히 기재된다.

[0102] 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 상동성인 항체, 즉 소량으로 존재할 수 있는 가능한 천연적으로 존재하는 돌연변이를 제외하고는 동일한 집단을 포함하는 개개 항체의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다. 단클론성 항체는 고도로 특이적이며, 단일 항원 부위에 대해 유도된다. 상이한 결정인자 (에피토프)에 관련된 상이한 항체를 포함할 수 있는 다클론성 항체 제조와 대조되게, 각각의 단클론성 항체는 항원에서 단일 결정인자에 관련된다.

[0103] 항체의 맥락에서, 용어 "단리된"은 그것의 천연 환경의 오염물질 성분로부터 분리된 및/또는 회수된 항체를 지칭한다; 이러한 오염물질 성분은 항체의 진단 또는 치료 용도를 방해할 수 있는 물질을 포함하며, 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다.

[0104] 어구 "보존적 아미노산 치환"은 하기 그룹 내에 아미노산 잔기의 치환을 의미한다: 1) L, I, M, V, F; 2) R, K; 3) F, Y, H, W, R; 4) G, A, T, S; 5) Q, N; 및 6) D, E. 보존적 아미노산 치환은 단백질 내 아미노산(들)을 유사한 산도, 염기도, 전하, 극성의 측쇄, 또는 측쇄의 크기를 갖는 아미노산으로 대체함에 의해 단백질의 활성을 보존할 수 있다. 치환, 삽입 또는 결실에 대한 지침은 상이한 변이체 단백질 또는 상이한 종으로부터의 단백질의 아미노산 서열의 정렬에 기반될 수 있다.

[0105] **성장 분화 인자 15 (GDF15)**

[0106] MIC-1 (대식세포 저해된 사이토카인-1), PDF (전립선 분화 인자), PLAB (태반 골 형성 단백질), NAG-1 (비-스테로이드 항-염증성 약물 (NSAIDs) 활성화된 유전자), TGF-PL, 및 PTGFB로도 공지된 GDF15는 변형 성장 인자  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 슈퍼-패밀리의 구성원이다. 퓨린-유사 프로테아제에 의해 후속적으로 절단되는 62 kDa 세포내 전구체 단백질로서 합성된 GDF15는 25 kDa 디설파이드-연결된 단백질로서 분비된다. (참고, 예를 들면, Fairlie et al., J. Leukoc. Biol 65:2-5 (1999)). GDF15 mRNA는 간, 신장, 췌장, 결장 및 태반을 포함하는 몇 개의 조직에서 관찰되고 그리고 간에서 GDF15 발현은 기관 예컨대 간, 신장, 심장 및 폐의 부상 동안 유의미하게 상향조



절될 수 있다.

- [0107] GDF15 전구체는 29 아미노산 신호 펩티드, 167 아미노산 프로-도메인, 및 퓨린-유사 프로테아제에 의해 프로-도메인으로부터 절개된 112 아미노산의 성숙한 도메인을 함유하는 308 아미노산 폴리펩티드 (NCBI Ref. Seq.NP\_004855.2)이다. 308-아미노산 GDF15 폴리펩티드는 "전장" GDF15 폴리펩티드로 지칭되고; 112-아미노산 GDF15 폴리펩티드 ("전장" GDF15의 아미노산 197-308)은 "성숙한" GDF15 폴리펩티드 (서열 번호: 1)이다. 다르게 명시되지 않는 한, 용어 "GDF15"는 112 아미노산 성숙한 인간 서열을 지칭한다. 또한, 특정한 GDF15 잔기에 대해 숫자의 참조는 112 아미노산 성숙한 서열을 지칭한다 (즉, 잔기 1은 Ala (A)이고, 그리고 잔기 112는 Ile (I)임; 참고 서열 번호: 1). 주목할 것은, GDF15 전구체 아미노산 서열은 세 개의 절개 부위를 예측하여, "성숙한" 인간 GDF15의 3가지 추정 형태 (즉, 110, 112 및 115 아미노산)를 초래하는 반면, 112 아미노산 성숙한 서열은 정확한 것으로 인정된다.
- [0108] 본 개시내용의 범위는 마우스 (NP\_035949), 침팬지 (XP\_524157), 오랑우탕 (XP\_002828972), 붉은털원숭이 (EHH29815), 자이언트 팬다 (XP\_002912774), 긴팔원숭이(XP\_003275874), 기니아 피그 (XP\_003465238), 흰담비 (AER98997), 카우 (NP\_001193227), 돼지 (NP\_001167527), 개 (XP\_541938) 및 오리너구리 (Ornithorhynchus anatinus; AFV61279)를 포함하는, 다른 포유동물 종으로부터 GDF15 오쏘로그, 및 그것의 변형된 형태 및 그것의 용도를 포함한다. 인간 GDF15로부터의 성숙한 형태는 마우스 오쏘로그에 대략 67% 아미노산 동일성을 갖는다.
- [0109] 편의상, 변형된 인간 GDF15 분자, GDF15 변이체 (뮤테인 등) 및 이후에 기술된 변형된 GDF15 뮤테인은 종합적으로 "폴리펩티드(들)"로 이후에 지칭된다. 본 개시내용의 폴리펩티드 및 핵산 분자와 관련하여 "인간"에 대한 임의의 지칭은 폴리펩티드 또는 핵산이 획득되는 방식 또는 공급원에 대해 제한되도록 의도되는 것이 아니라, 오히려 천연 발생 인간 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 서열에 상응할 수 있기 때문에 단지 서열에 대한 참조로 된다고 인지되어야 한다. 특정 구현예에서, 변형된 인간 GDF15 분자는 N-글리코실화된 이량체이다. 이들을 암호화하는 인간 폴리펩티드 및 핵산 분자에 부가하여, 본 개시내용은 다른 종으로부터의 GDF15 - 관련된 폴리펩티드 및 상응하는 핵산 분자를 고려한다.
- [0110] A. 목적 물리적 특성을 갖는 폴리펩티드
- [0111] 본 개시내용은 부분적으로, 서열 번호: 1 (성숙한 112 아미노산 긴 인간 GDF15)의 아미노산 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 고려한다. 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 하나 이상의 아미노산 치환 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 아미노산 치환에 부가하여, 본 개시내용의 폴리펩티드는 또한 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 아미노산 결실을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 아미노산 결실을 포함할 수 있다.
- [0112] 편리성 및 명료성을 위하여, 서열 번호: 1의 아미노산 서열 이 본원에 제시된 폴리펩티드에 대한 참조 서열로 사용된다. 따라서, 아미노산 잔기 위치는 본 명세서에서는 서열 번호: 1에 대해 참조하여 넘버링된다. 서열 번호: 1의 서열이 하기에 제시된다:
- [0113] ARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLLQTYD DLLAKDCHCI
- [0114] 일부 구현예에서, 본 개시내용의 폴리펩티드는 그와 같은 부위가 서열 번호: 1에 존재하지 않는 위치에서 하나 이상의 N-연결된 글리코실화 공통 부위(들)를 도입하는 하나, 둘, 셋 또는 그 이상의 아미노산 치환, 부가 또는 결실을 포함할 수 있다. 본 N-연결된 글리코실화 공통 부위는 서열 NXS/T를 포함하고, 여기서 N은 Asn이고; X는 프롤린과 다른 아미노산이고; 그 다음 Ser (S) 또는 Thr (T) 중 어느 하나가 따른다.
- [0115] 본 개시내용의 폴리펩티드의 예는 그와 같은 부위가 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 존재하지 않는 아미노산 위치에서 1, 2, 3, 4개 이상의 글리코실화 공통 부위(예를 들면, N-연결된 글리코실화 공통 부위)를 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0116] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 치환의 위치에 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 제공하는 서열 번호: 1에 대한 하나의 아미노산 치환을 포함할 수 있다 (예를 들면, 서열 번호: 1에서의 NGD 서열이 하나의 치환; 밀줄친 위치의 치환에 의해 NGT/S로 변화될 수 있음). 다른 사례에서, 폴리펩티드는 치환의 위치에 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 제공하는 서열 번호: 1에 대한 2개의 아미노산 치환을 포함할 수 있다 (예를 들면, 서열 번호: 1에서의 KTD 서열이 2개의 치환; 밀줄친 위치의 치환에 의해 NTT/S로 변화될 수 있음). 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 치환의 위치에 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 제공하는 서열 번호: 1에 대한 세

개의 아미노산 치환을 포함할 수 있다 (예를 들면, 서열 번호: 1에서의 GPG 서열이 세 개의 치환; 밑줄친 위치의 치환에 의해 NTT/S로 변화될 수 있음).

- [0117] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 결실의 위치에 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 제공하는 서열 번호: 1에 대한 하나 이상의 아미노산 결실을 포함할 수 있다. 예를 들면, 서열 번호: 1 내 NGDHCPLGPGGCCRLHT (서열 번호: 119) 서열은 아미노산 D 내지 H (밑줄침))의 결실에 의해 변화될 수 있어 그렇게 함으로써 N-연결된 글리코실화 공통 부위: NGT를 제공한다.
- [0118] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 부가(들)의 위치(들)에 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 제공하는 서열 번호: 1에 대한 하나 이상의 아미노산 부가를 포함할 수 있다. 일 아미노산의 부가에 의해 N-연결된 글리코실화 공통 부위의 도입의 예는 서열 번호: 1 내에 서열 LHT에 N을 부가하는 것을 포함하여, 그렇게 함으로써 서열 LNHT를 형성하고, 여기서 NHT는 N-연결된 글리코실화 공통 부위이다.
- [0119] 전술한 바와 같이, 폴리펩티드는 서열 번호: 1에 대한 하나 이상의 치환을 포함할 수 있고 그리고 본 치환은 서열 번호: 1 내 상응하는 아미노산의 위치로 넘버링될 수 있다.
- [0120] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 여기서 인접 아미노산 서열은 치환 D5T/S 또는 R21N을 갖는다.
- [0121] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 여기서 인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 상응하는 아미노산에 상대적인 치환의 하기 쌍 중 적어도 하나를 갖는다:
- [0122] i. R16N 및 H18T 또는 R16N 및 H18S;
- [0123] ii. S23N 및 E25T 또는 S23N 및 E25S;
- [0124] iii. L24N 및 D26T 또는 L24N 및 D26S;
- [0125] iv. S50N 및 F52T 또는 S50N 및 F52S;
- [0126] v. F52N 및 A54T 또는 F52N 및 A54S;
- [0127] vi. Q51N 및 R53T 또는 Q51N 및 R53S;
- [0128] vii. R53N 및 A55T 또는 R53N 및 A55S;
- [0129] viii. S64N 및 H66T 또는 S64N 및 H66S;
- [0130] ix. L65N 및 R67T 또는 L65N 및 R67S;
- [0131] x. S82N 및 N84T 또는 S82N 및 N84S;
- [0132] xi. K91N 및 D93T 또는 K91N 및 D93S;
- [0133] xii. D93N 및 G95T 또는 D93N 및 G95S;
- [0134] xiii. T94N 및 V96T 또는 T94N 및 V96S;
- [0135] xiv. V96N 및 L98T 또는 V96N 및 L98S;
- [0136] xv. S97N 및 Q99T 또는 S97N 및 Q99S; 및
- [0137] xvi. A106N 및 D108T 또는 A106N 및 D108S.
- [0138] 예를 들면, 상기 i)에서 치환은 폴리펩티드가 서열 번호: 1의 아미노산 위치 18에 상응하는 아미노산 위치에서 트레오닌 (T) 또는 세린 (S)을 갖는 것을 나타내며, 여기서 서열 번호: 1에서 히스티딘 (H)가 아미노산 위치 18에 존재한다. 유사하게, 위치 5에서 D를 T 또는 S로의 치환은 D5T/S로 표시될 수 있다. 서열 번호: 1에 대한 폴리펩티드 내 상응하는 아미노산의 위치는 아미노산 서열을 정렬시킴으로써 결정될 수 있다.
- [0139] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 N-글리코실화 공통 서열이 서열 번호: 1에 존재하지 않는 위치에 단일 N-글리코실화 공통 서열을 제공하는 2개의 아미노산 치환 (한 쌍의 치환)을 포함할 수 있다. 이러한 치환의 예는 R16N 및 H18T/S; K91N 및 D93T/S; T94N 및 V96T/S; 및 상기에 열거된 다른 것을 포함한다. R16N 및 H18T/S는 폴리펩

티드가 서열 번호: 1의 위치 16에 상응하는 위치에 N을 가지고, 여기서 서열 번호: 1에서 R이 존재하고 그리고 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 위치 18에 상응하는 위치에 T 또는 S 중 어느 하나를 가지고 여기서 H가 존재하는 것을 나타낸다. 서열 번호: 1에서 서열 RXH (위치 16-18에서)는 N-연결된 글리코실화 공통 서열에 대한 임의의 잔기를 포함하지 않기 때문에, 한 쌍의 치환은 N- 연결된 글리코실화 공통 서열의 도입을 이끈다.

- [0140] 대안적 구현예에서, 예를 들면, 서열 NGD (위치 3-5에서)가 서열 번호: 1에 존재하기 때문에, 단일 아미노산 치환은 N-연결된 글리코실화 공통 서열을 제공하기에 충분할 수 있으며, D를 T 또는 S로 단일 치환은 각각, 둘 모두가 N-글리코실화 공통 서열인 서열 NGT 또는 NGS를 생성한다.
- [0141] 특정 경우에, 1 초과와 N-글리코실화 공통 서열이 야생형 GDF15에 도입될 수 있다. 예를 들면, 야생형 GDF15 아미노산 서열은 1, 2, 3, 4개 이상의 N-글리코실화 공통 서열을 제공하도록 치환 및/또는 결실에 의해 변형될 수 있다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 112 아미노산 서열에 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 112 인접 아미노산을 포함할 수 있고, 여기서 112 인접 아미노산은 1, 2, 3, 4개 이상의 N-글리코실화 공통 서열, 예컨대, 1-12, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4, 1-3, 또는 1-2개의 N-글리코실화 공통 서열을 포함한다.
- [0142] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 112 아미노산 서열에 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 112 인접 아미노산을 포함할 수 있고, 여기서 112 인접 아미노산은 1, 2, 3, 4개 이상의 쌍의 본 명세서에서 제시된 치환을 포함한다.
- [0143] 본 개시내용은 또한 상기에 기재된 폴리펩티드의 활성 단편 (예를 들면, 하위서열)인 폴리펩티드를 고려한다. 활성 단편 또는 하위서열의 길이는 40 아미노산 내지 111 아미노산, 예를 들면, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 106, 109, 또는 최대 111 아미노산일 수 있다.
- [0144] 폴리펩티드는 인접 아미노산의 정의된 길이에 대해 참조 서열과 비교하여 정의된 서열 동일성을 갖는다 (예를 들면, "비교 윈도우"). 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 서열의 최적의 정렬은 예를 들어, 문헌[참조: Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), by the homology alignment algorithm of Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), by the search for similarity method of Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. Appl. Math. 2:482 (1981)]의 국부 상동성 알고리즘, 문헌[참조: Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)]의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌[참조: Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)]의 유사성 방법에 대한 검색, 문헌[참조: (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Madison, WI.)]에서 상기 알고리즘의 컴퓨터화된 실행, 또는 수동 정렬 및 육안 검사[문헌참조: 예를 들어, Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. 1995 supplement)]에 의해 수행될 수 있다.
- [0145] 예로서, 적합한 폴리펩티드는 서열 번호: 1에서 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 또는 최대 112 아미노산의 인접 연신부에 대해 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0146] 본 명세서에서 개시된 폴리펩티드의 예시적인 단편은 서열 번호: 1에 대한 아미노산의 결실을 가지는 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들면, 폴리펩티드는 서열 번호: 1에 대한 N-말단 절단 및/또는 C-말단 절단을 가질 수 있다. 본 절단은 참조 폴리펩티드, 예를 들면 서열 번호: 1에 대해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 그 이상 아미노산의 것일 수 있다. 특정 구현예에서, 관심 대상의 폴리펩티드는 N-연결된 글리코실화 공통 서열, 예컨대 본 명세서에서 개시된 것, 및 서열 번호: 1에 대한 N-말단 절단 및/또는 C-말단 절단을 도입하는 하나 이상의 치환을 포함할 수 있다.
- [0147] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 적어도 98 아미노산 길이일 수 있고 그리고 서열 번호: 1에서 98 아미노산의 상응하는 연신부에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. 이 폴리펩티드는 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 처음 둘 내지 처음 열넷 아미노산 (예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 아미노산)을 결할 수 있으며, 한편 서열 번호: 1의 C-말단에 존재하는 아미노산을 보유한다. 환언하면, 결실된 아미노산(들)은 서열 번호: 1의 N-말단 아미노산에 상응한다.
- [0148] 특정 구현예에서, GDF15 뮤테인은 적어도 106 아미노산 길이일 수 있고 그리고 서열 번호: 1에서 106 아미노산의 상응하는 연신부에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가질 수 있다. GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는 제1 6개 아미노산을 결할 수 있다.
- [0149] 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 적어도 109 아미노산 길이일 수 있고 그리고 서열 번호: 1에서 109 아미노산의 상응하는 연신부에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 아미노산 서열 동일성을 가질 수

있다. GDF15 뮤테인은 서열 번호: 1의 N-말단에 존재하는제1 3개 아미노산을 결할 수 있다.

[0150] 본 개시내용의 예시적인 폴리펩티드는 WT hGDF15에 대해 2개의 N-말단 아미노산 ( $\Delta$ N2)의 결실을 포함할 수 있고, 그리고 N-말단에서 Fc 서열에 융합될 수 있다. 그러나, 아미노산 치환의 위치를 지칭할 때, 표시된 잔기 번호는 WT 성숙 hGDF15 (WT; 서열 번호: 1)에서의 위치에 상응하는 것이다. 따라서, N-말단에서 처음 두 아미노산을 누락하는 폴리펩티드의 N-말단에서의 아미노산은 비록 이것이 GDF15 뮤테인 폴리펩티드 아미노산 서열에서 첫 번째 아미노산이고 이중성 아미노산 서열 (예를 들면, Fc)에 선행되지만 잔기 3으로 지칭될 수 있다.

[0151] 전술한 바와 같이, 이들 폴리펩티드 단편은 본 명세서에서 개시된 1, 2, 또는 그 이상의 아미노산 치환과 같이, 서열 번호: 1의 서열에 대해 N-글리코실화 공통 서열을 도입하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

[0152] 상기에서 명시된 바와 같이 그리고 이하에서 더 상세히 기재된 바와 같이, 본 개시내용의 폴리펩티드는, 예를 들면, 페길화 (폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 또는 그것의 유도체 중 하나 이상의 분자의 공유 결합); 글리코실화 (예를 들면, N-글리코실화); 폴리스알릴화; 혈청 알부민을 포함하는 알부민 융합 분자 (예를 들면, 인간 혈청 알부민 (HSA), 사이노 혈청 알부민, 또는 소 혈청 알부민 (BSA)); 예를 들면, 콘주게이트된 지방산 사슬을 통한 알부민 결합 (아실화); Fc-융합; 및 PEG 모방체와 융합을 통하여 변형될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 변형은 부위-특이적인 방식으로 도입된다. 다른 구현예에서, 본 변형은 링커를 포함한다. 본 링커는 폴리펩티드에 변형 모이어티를 콘주게이트될 수 있다.

[0153] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 알부민으로 콘주게이션함에 의한 성숙한 인간 GDF15 및 GDF15 뮤테인 (예컨대 상기에 기술된 폴리펩티드)의 변형을 고려한다. 다른 구현예에서, 본 개시내용은 N-글리코실화 또는 O-글리코실화를 통해 폴리펩티드의 변형을 고려한다. 알부민 및 이들의 폴리펩티드 콘주게이트(예를 들면, 융합 단백질), 및 글리코실화된 폴리펩티드의 특징은 이후에 더 기재된다.

[0154] **Fc-GDF15 융합 폴리펩티드 및 이들의 복합체**

[0155] 예시적인 구현예에서, 본 명세서에서 개시된 GDF15 폴리펩티드는 본 명세서에서 기재된 폴리펩티드 (예를 들면, 인간 GDF15 분자, 변형된 인간 GDF15 분자, GDF15 뮤테인, 및 변형된 GDF15 뮤테인) 중 하나 이상의 아미노산 서열에 융합된 Fc 폴리펩티드 또는 그것의 단편을 포함하는 융합 폴리펩티드로 존재할 수 있다. 본 명세서에서 제공된 바와 같은, GDF15 폴리펩티드는 야생형 폴리펩티드 또는 뮤테인, 예를 들면, 글리코실화 뮤테인일 수 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 폴리펩티드, 예를 들면 GDF15 폴리펩티드의 맥락에서 "글리코실화 뮤테인" 또는 "글리코뮤테인" 또는 "글리코실화 변이체" 또는 "글리코 변이체"는 참조 (야생형) 폴리펩티드가 글리코실화 공통 부위를 포함하지 않는 위치인 아미노산 서열 내 위치에 하나 이상의 글리코실화 공통 부위를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 특정 경우에, 본 융합 폴리펩티드는 본 명세서에서 개시된 GDF15 글리코뮤테인의 N-말단에 융합된 Fc-서열을 포함할 수 있다.

[0156] 본 명세서에서 기재되거나 또는 당해 기술에서 공지된 임의의 Fc 폴리펩티드 서열은 본 개시내용의 융합 단백질의 성분일 수 있다. 융합 단백질의 성분은 링커, 예컨대 본 명세서에서 기재된 링커를 통해 임의로 공유결합될 수 있다. 본 개시내용의 일부 구현예에서, 본 융합 단백질은 C-말단 모이어티로서 본 명세서에서 기재된 폴리펩티드와 N-말단 모이어티로서 Fc 폴리펩티드 서열을 포함한다.

[0157] 특정 경우에, 본 명세서에 개시된 Fc-GDF15 융합 폴리펩티드의 Fc 파트너는 인간 IgG Fc (예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4) 또는 그것의 변이체의 서열을 갖는 Fc일 수 있다. 인간 IgG1 Fc의 아미노산 서열은 서열 번호: 2로 제공된다:

[0158] EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK  
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ  
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 2)

[0159] 힌지 영역은 이텔렉체로 되고, CH2 도메인은 밀줄 처 지고, 그리고 CH3 도메인은 이중 밀줄이 처 진다. Fc 서열 내 아미노산의 위치의 넘버링은 EU 넘버링 (Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969))에 따른다. 따라서, EU 넘버링에 따라, 서열 번호: 2에 위치 1에서 글루탐산 잔기 "E"는 216으로 넘버링되고; CH2 도메인은 231로 넘버링된 알라닌 (A)으로 시작하고; CH3 도메인은 341로 넘버링된 글리신 (G)으로 시작한다.

[0160] 본 명세서에서 기재된 Fc-GDF15 융합 폴리펩티드의 Fc 파트너는 서열 번호: 2에 적어도 90% 동일한, 예를 들면, 서열 번호: 2에 적어도 93%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 그 이상 동일한 인접 아미노산 서열을



갖는 Fc일 수 있다. 특정 구현예에서, 본 Fc 파트너는 서열 번호: 2 내 CH3 도메인에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열 또는 CH3 도메인을 포함하는 Fc의 단편일 수 있다. 특정 구현예에서, 본 Fc 파트너는 서열 번호: 2 내 CH2 및 CH3 도메인에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열 또는 CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 Fc의 단편일 수 있다. 특정 구현예에서, 본 Fc 파트너는 서열 번호: 2 내 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열 또는 부분적 힌지 영역, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 Fc의 단편일 수 있다. 특정 구현예에서, 본 Fc 파트너는 서열 번호: 2에 제시된 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0161] 특정 경우에, Fc-GDF15 융합 폴리펩티드의 Fc 파트너는 돌출부가 가공된 공동을 포함하는 또 다른 Fc 폴리펩티드를 결합시킬 수 있는 가공된 돌출부를 포함할 수 있다. 다른 사례에서, Fc-GDF15 융합 폴리펩티드의 Fc 파트너는 공동이 가공된 돌출부를 포함하는 또 다른 Fc 폴리펩티드를 결합시킬 수 있는 가공된 공동을 포함할 수 있다. 가공된 돌출부 및/또는 공동은 갖는 예시적인 Fc 서열은 US 8,216,805에 기재되어 있다. 특정 경우에, 본 돌출부 및 본 공동은 Fc 폴리펩티드의 CH3 도메인으로 가공될 수 있다. 특정 경우에, 본 개시내용의 Fc-GDF15 융합 폴리펩티드와 결합하는 Fc 파트너는 GDF15 폴리펩티드에 콘주게이트되지 않는다. 따라서, Fc 파트너는 이 중이량체 당 하나의 GDF15 분자로, 이중이량체를 형성하는 Fc-GDF15 융합 폴리펩티드와 이량체화된다.

[0162] "돌출부들" 또는 "손잡이"는 제1 폴리펩티드의 CH3 도메인에서 작은 아미노산 측쇄를 더 큰 측쇄(예를 들면, 티로신 또는 트립토판)로 치환함에 의해 가공될 수 있다. 돌출부와 동일하거나 유사한 크기의 보상성 "공동" 또는 "홀"은 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 것(예를 들면 알라닌 또는 트레오닌)으로 대체함에 의해 제2 폴리펩티드의 CH3 도메인에서 임의로 생성된다.

[0163] "제1 폴리펩티드"는 제2 폴리펩티드와 연계되어 지는 임의의 폴리펩티드일 수 있다. 제1 및 제2 폴리펩티드는 "계면" (하기에 정의됨)에서 만난다. 본 계면에 부가하여, 제1 폴리펩티드는 하나 이상의 추가의 도메인, 예컨대 CH2 도메인 또는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 특정 경우에, 제1 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드의 계면을 형성할 수 있는 CH3 도메인을 포함한다.

[0164] "제2 폴리펩티드"는 "계면"을 통해 제1 폴리펩티드와 연계되도록 되는 임의의 폴리펩티드일 수 있다. 본 계면에 부가하여, 제2 폴리펩티드는 하나 이상의 추가의 도메인, 예컨대 CH2 도메인 또는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 특정 경우에, 제2 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 계면을 형성할 수 있는 CH3 도메인을 포함한다.

[0165] "계면"은 제2 폴리펩티드의 계면 내 하나 이상의 "접촉" 아미노산 잔기 (또는 다른 비-아미노산 그룹)와 상호 작용하는 제1 폴리 펩티드 내의 이들 "접촉" 아미노산 잔기 (또는 다른 비-아미노산 그룹 예컨대 탄수화물 그룹, NADH, 바이오틴, FAD 또는 헴 그룹)를 포함한다. 특정 경우에, 계면은 면역글로불린의 도메인 예컨대 불변 도메인 (또는 그것의 단편)일 수 있다. 특정 경우에, 계면은 IgG 항체, 예를 들면, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체로부터 유도된 면역글로불린의 CH3 도메인을 포함한다.

[0166] "돌출부"는 제1 폴리펩티드의 계면으로부터 돌출되고, 따라서 이중이량체를 안정화시키기 위하여, 인접 계면 (즉, 제2 폴리펩티드의 계면) 내의 보충적 공동 내에 위치가능하고, 그리고 이로써 이중이량체 형성을, 예를 들어 동중이량체의 형성보다 용이하게 하는 적어도 하나의 아미노산 측쇄를 지칭한다. 공동은 본래의 계면에 존재할 수 있거나 합성적으로(예를 들어, 계면을 암호화하는 핵산을 변화시킴에 의해) 도입될 수 있다. 돌출부는, 예를 들면 재조합 수단에 의해 합성으로 (예를 들면 계면을 암호화하는 핵산을 변형함에 의해) 도입될 수 있다.

[0167] "공동(cavity)"은 제2 폴리펩티드의 계면으로부터 오목하고, 따라서 제1 폴리펩티드의 인접한 계면 상에 상응하는 돌출부 ("크롭")을 수용하는 적어도 하나의 아미노산 측쇄를 지칭한다. 공동은 본래의 계면에 존재할 수 있거나 합성적으로(예를 들어, 계면을 암호화하는 핵산을 변화시킴에 의해) 도입될 수 있다. 예를 들어, 제2 폴리펩티드의 계면을 암호화하는 핵산은 동공을 암호화하도록 변경된다.

[0168] 돌출부는 또한 "크롭"으로 지칭되고 공동은 또한 "홀"로 지칭된다. 예시적 돌출부 및 공동이 US8,216,805에 개시되며, 하기 아미노산 위치에서의 치환을 포함한다: 347, 366, 368, 394, 405, 및 407. 아미노산의 위치의 넘버링은 EU 넘버링에 따른다. 가공된 돌출부는 인간 IgG1 Fc 서열 내 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함할 수 있고, 여기서 본 치환은 아미노산 잔기 347, 366 및 394로 구성된 군으로부터 선택된 위치에서 존재한다. 예를 들면, 적어도 하나의 치환은 Q347W/Y, T366W/Y, 및 T394W/Y로 구성된 군으로부터 선택된다. 특정 경우에, 가공된 공동은 인간 IgG1 Fc 서열 내 상응하는 아미노산의 적어도 하나의 치환을 포함하고, 여기서 본 치환은 아미노산 잔기 366, 368, 394, 405, 및 407로 구성된 군으로부터 선택된 위치에서 존재한다. 예를 들면,

적어도 하나의 치환은 T366S, L368A, T394S, F405T/V/A, 및 Y407T/V/A로 구성된 군으로부터 선택된다.

- [0169] 특정 경우에, 돌출부는 치환 T366W/Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 T366S, L368A, 및 Y407T/V/A를 포함할 수 있다.
- [0170] 예를 들면, 돌출부는 치환 T366W/Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T/V/A를 포함할 수 있다. 다른 사례에서, 돌출부는 치환 T366Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T를 포함할 수 있다. 다른 예에서, 돌출부는 치환 T366W를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407A를 포함할 수 있다. 추가 예에서, 돌출부는 치환 T394Y를 포함할 수 있고 그리고 공동은 치환 Y407T를 포함할 수 있다.
- [0171] 특정 구현예에서, 융합 폴리펩티드 내 GDF15 폴리펩티드의 Fc 파트너는 융합 폴리펩티드의 특성을 개선하는 추가의 돌연변이를 포함할 수 있다. 이와 같이, 본 명세서에서 기재된 제1 및 제2 폴리펩티드 내 Fc 서열은 추가의 돌연변이를 포함할 수 있다. 예를 들면, Fc 파트너 서열은 다르게는 Fc 파트너의 특징일 수 있는 IgG 효과기 기능을 폐지하는 (예를 들면, 감소하는 또는 제거하는) 돌연변이(들)을 포함할 수 있다. 특정 경우에, Fc 파트너 서열은 효과기 기능 예컨대 보체-의존적 세포독성 (CDC), 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC) 및 항체-의존적 세포 식균작용 (ADCP)을 폐지하는 돌연변이(들)을 포함할 수 있다.
- [0172] 4개의 인간 IgG 아이소타입은 상이한 친화도로 활성화 Fc  $\gamma$  수용체 (Fc  $\gamma$ RI, Fc  $\gamma$ RIIa, Fc  $\gamma$ RIIIa), 저해된 Fc  $\gamma$ RIIb 수용체, 및 보체의 제1 성분 (C1q)에 결합하여, 매우 상이한 효과기 기능을 부여한다. 따라서, 결합 영역 내의 돌연변이는 효과기 기능에 유의미한 영향을 가질 수 있다.
- [0173] Fc  $\gamma$ Rs 또는 C1q에 IgG의 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인 내에 위치한 잔기에 의존한다. CH2 도메인의 두 영역은 Fc  $\gamma$ Rs 및 C1q 결합에 결정적이고 그리고 IgG2 및 IgG4에서 독특한 서열을 가진다. 위치 233-236에서 IgG2 잔기 및 위치 327, 330 및 331에서 IgG4 잔기의 인간 IgG1로의 치환은 ADCC 및 CDC 활성을 크게 감소하는 것으로 나타났다 (Armour KL. et al., 1999. Eur J Immunol. 29(8):2613-24; Shields RL et al., 2001, J Biol Chem. 276(9):6591-604). 더욱이, Idusogie 등은 K322를 포함하는 상이한 위치에서 알려진 치환은 유의미하게 보체 활성화를 감소했다는 것을 입증하였다 (Idusogie EE. et al., 2000. J Immunol. 164(8):4178-84). 유사하게, 뮌린 IgG2A의 CH2 도메인에서의 돌연변이는 Fc  $\gamma$ RI, 및 C1q에 대한 결합을 감소하는 것으로 나타났다 (Steurer W. et al., 1995. J Immunol. 155(3):1165-74). 특정 구현예에서, Fc 폴리펩티드는 IgG 효과기 기능(들)을 폐지하는 CH2 도메인 내 돌연변이를 포함할 수 있다. CH2 영역 내 예시적 돌연변이는 하기를 포함한다: APELLGGP (서열 번호: 96) → APALLGGP (서열 번호: 98); APELLGGP (서열 번호: 96) → APELLAGGP (서열 번호: 99); 및 APELLGGP (서열 번호: 96) → APALLAGGP (서열 번호: 97).
- [0174] 일부 구현예에서, GDF15 글리코뮤테인에 콘주게이트된 Fc 폴리펩티드는 일부 또는 모두의 야생형 힌지 서열 (일반적으로 그것의 N 말단에서)을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 폴리펩티드는 기능적 또는 야생형 힌지 서열을 포함하지 않는다. 특정 경우에, Fc 서열은 하기 힌지 서열 중 하나를 포함할 수 있다: EPKSCDKTHTCPPCP (서열 번호: 100); KSCDKTHTCPPCP (서열 번호: 101); SCDKTHTCPPCP (서열 번호: 102); CDKTHTCPPCP (서열 번호: 103); DKTHTCPPCP (서열 번호: 104); KTHTCPPCP (서열 번호: 105); THTCPPCP (서열 번호: 106); 또는 CPPCP (서열 번호: 107); 또는 하기를 갖는 이의 변이체 (하나 이상의 치환 (예컨대 1-6개 치환, 예를 들어, 1-5, 1-4, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 치환). 특정 경우에, Fc 서열은 또 다른 Fc의 힌지 영역과 공유 결합 (예를 들면, 하나 이상의 이황화 결합)을 형성하는 힌지 영역을 포함할 수 있다. 따라서, 특정 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 복합체 내 제1 및 제2 폴리펩티드는 제1 및 제2 폴리펩티드의 힌지 영역 사이에 공유 상호작용을 통해 연계되어 질 수 있다. 본 공유 상호작용은 1 또는 2 분자간 이황화 결합을 포함할 수 있다.
- [0175] 본 명세서에서 상세히 기재된 것에서, GDF15 글리코뮤테인에 콘주게이트된 Fc 크롭 또는 홀 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드가 고려된다. 그와 같은 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드가 Fc 서열의 홀 안으로 크롭의 배치를 통해 물리적으로 연계할 수 있는 제2 Fc 폴리펩티드와 복합체로 될 수 있다.
- [0176] 특정 경우에, 제1 Fc 폴리펩티드 및 제2 Fc 폴리펩티드의 복합체가 개시된다. 제1 또는 제2 폴리펩티드 중 하나는 Fc 및 GDF15의 융합 폴리펩티드일 수 있다. 본 명세서에서 지칭된 바와 같이, GDF15 폴리펩티드는 GDF15 폴리펩티드의 글리코실화를 유도하는 글리코실화 돌연변이(들)을 포함할 수 있다. 글리코실화된 GDF15 폴리펩티드는 또한 GDF15-글리칸 또는 GDF15-글리코뮤테인으로 지칭될 수 있다. GDF15-글리칸 또는 GDF15-글리코뮤테인은 본 명세서에서 개시된 바와 같을 수 있다. 특정 경우에, 본 명세서에서 제공된 Fc-크롭 또는 Fc-홀 폴리펩티드에 융합된 GDF15-글리칸 또는 GDF15-글리코뮤테인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 인접 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드일 수 있고, 여기서 본

인접 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 대해 치환 D5T; D5S; 또는 R21N을 가진다. 특정 구현예에서, Fc-크롭 또는 Fc-홀 폴리펩티드에 융합된 GDF15-글리칸 또는 GDF15-글리코뮤테인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열에 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드일 수 있고, 여기서 아미노산 서열은 서열 번호: 1의 아미노산에 상대적인 치환의 하기 쌍 중 하나 이상을 포함한다:

[0177] xvii. R16N 및 H18T 또는 R16N 및 H18S;

[0178] xviii. S23N 및 E25T 또는 S23N 및 E25S;

[0179] xix. S50N 및 F52T 또는 S50N 및 F52S;

[0180] xx. F52N 및 A54T 또는 F52N 및 A54S;

[0181] xxi. R53N 및 A55T 또는 R53N 및 A55S;

[0182] xxii. S64N 및 H66T 또는 S64N 및 H66S;

[0183] xxiii. K91N 및 D93T 또는 K91N 및 D93S;

[0184] xxiv. D93N 및 G95T 또는 D93N 및 G95S;

[0185] xxv. T94N 및 V96T 또는 T94N 및 V96S;

[0186] xxvi. V96N 및 L98T 또는 V96N 및 L98S;

[0187] xxvii. S97N 및 Q99T 또는 S97N 및 Q99S; 및

[0188] xxviii. A106N 및 D108T 또는 A106N 및 D108S.

[0189] 특정 경우에, 복합체는 제1 및 제2 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함할 수 있고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있다; 그리고 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고, 여기서 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드의 C-말단 또는 제2 폴리펩티드의 C-말단 중 어느 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단 콘주게이트된다. 따라서, 복합체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드의 이중이량체를 포함한다. 제1 또는 제2 폴리펩티드의 어느 하나는 본 명세서에서 기재된 GDF15 뮤테인에 융합되기 때문에, 일 GDF15 분자가 이중이량체 당 존재한다. 특정 경우에, GDF15 뮤테인은 본 명세서에서 기재된 GDF15 뮤테인일 수 있다.

[0190] 본 명세서에서 논의된 바와 같이 제1 및 제2 폴리펩티드는 공유 및/또는 비-공유 상호작용, 예컨대, 소수성 상호작용, 이황화 결합, 또는 둘 모두를 통해 이중이량체를 형성하도록 상호작용할 수 있다.

[0191] 특정 구현예에서, 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체가 개시된다. 각각의 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함할 수 있고, 여기서 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함할 수 있고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있고; 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함할 수 있고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있고; 여기서 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 그리고 여기서 제1 폴리펩티드 C-말단 또는 제2 폴리펩티드 C-말단 중 어느 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단 콘주게이트되고, 여기서 제1 이중이량체 내 GDF15 뮤테인은 제2 이중이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되고 그렇게 함으로써 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체를 형성한다. 복합체가 제2 이중이량체와 물리적으로 연계된 제1 이중이량체를 포함하는 본 개시내용의 복합체에서, GDF15의 두 분자는 이중이량체-이중이량체 복합체 당 존재한다.

[0192] 본 명세서에서 지칭된 바와 같이, 제1 및 제2 폴리펩티드는 공유 및/또는 비-공유 상호작용, 예컨대, 소수성 상호작용, 이황화 결합, 또는 둘 모두를 통해 이중이량체를 형성하도록 상호작용할 수 있고, 그리고 제1 및 제2 이중이량체 이량체는 공유 및/또는 비-공유 상호작용, 예컨대, 소수성 상호작용, 이황화 결합, 또는 둘 모두에 의해 이량체-이량체 복합체를 형성하도록 상호작용할 수 있다.

[0193] 특정 경우에, 본 명세서에서 기재된 각각의 이중이량체, 예를 들면 두 이중이량체의 복합체에 존재하는 GDF15

뮤테인은 서열에서 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 특정 경우에, 두 이중이량체의 복합체 내 GDF15 뮤테인은 서열에서 동일할 수 있다.

[0194] GDF15 뮤테인에 대한 융합을 위해 그리고 Fc-GDF15 융합 단백질에 대한 결합 파트너로서 예시적인 Fc 서열이 본 명세서에서 개시되어 진다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 복합체에 존재하는 Fc 서열은 가공된 '크롭' 및 '홀' 서열 이외의 서열에서 유사하거나 또는 동일할 수 있다.

[0195] 특정 경우에, 본 명세서에서 기재된 복합체를 형성하기 위해 상호 작용할 수 있는 제1 및 제2 폴리펩티드는 페어 I 내지 VIII과 같이 아래에서 제시된 바와 같이 될 수 있다. 하기에 제시된 서열에서, 인간 이뮤노글로빈 G1 (hIgG1) Fc 서열은 그 다음에 링커 서열 (밑줄침), 그 다음 GDF15 뮤테인 서열 (굵은 글씨로)이 뒤따른다.

[0196] **쌍 I:**

[0197] 제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>2</sub>-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

[0198] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGSGGGSGNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPD TVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDITGVSLQTYDDLAKDCHCI** (서열 번호: 3)

[0199] 제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[0200] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**CA**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 4)

[0201] **쌍 II:**

[0202] 제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

[0203] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAAN MHAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDITGVSLQTYDDLAKDCHCI** (서열 번호: 5)

[0204] 제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[0205] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**CA**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 6)

[0206] **쌍 III:**

[0207] 제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)

[0208] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGDHCHPLGPGRCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANM HAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDITGVSLQTYDDLAKDCHCI** (서열 번호: 7)

[0209] 제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[0210] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**CA**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 8)

[0211] **쌍 IV:**

[0212] 제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)

[0213] DKHTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK



VSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRANLTDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANM  
HAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTDITGVSLQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 9)

제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGGSVFLFPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 10)

쌍 V:

제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)

DKTHTCCPCPAPALAGGSPVFLFPFKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGAWDWLSPREVQVTMCIGACPSQNRNTANM  
HAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPA SYNPMVL IQKTD TGVSLQTYDDLAKDCHCI (서열 번호: 11)

제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTI**SK**AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**SC**AVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL**VSK**LTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 12)

쌍 VI:

제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)

DKTHTCPCPPAPALAGGGSVFLFPFKPDKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGYFSPDAIVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFNATNM  
HAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPA SYNPMVL IQKTD TGVS LQTYDDLAKDCHCI (서열 번호: 13)

제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAPALAGGSPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 14)

쌍 VII:

제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)

DKTHTCPCPCAPALAGGGSVFLFPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGYFSPDAIVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCLPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANM  
HAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPA SYNPMVL IQNTTTGVS LQTYDDLAKDCHCI (서열 번호: 15)

제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

DKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKD~~TL~~MI~~S~~RTP~~E~~VT~~C~~VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTI~~S~~KA~~K~~GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**SC**AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 16)

쌍 VIII:

제1 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCK  
VSNKALPAPIEKTIISKAKGPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGYFSPDAIWEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWOOGNVFS

CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANM  
HAQIKTSLHRLKPDTPVAPCCVPASYNPMVLIQKTNITVSLQTYDDLAKDCHCI (서열 번호: 17)

[0234] 제2 폴리펩티드: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[0235] DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 18)

[0236] 특정 경우에, 본 명세서에서 기재된 복합체를 형성하기 위해 상호 작용할 수 있는 제1 및 제2 폴리펩티드는 쌍 I 내지 VIII 에서 상기 기재된, 제1 및 제2 폴리펩티드 각각의 아미노산 서열과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 서열 동일성은 하기일 수 있다: 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99% 이상.

[0237] 특정 구현예에서, 복합체는 하기를 포함할 수 있다: 서열 번호: 3의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 4의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드, 여기서 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 적어도 하나의 분자간 이황화 결합을 통하여 공유적으로 연결된다. 또한 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체가 본원에 제공되며, 상기 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체 각각은 하기를 포함한다: 서열 번호: 3의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 4의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드.

[0238] 특정 구현예에서, 복합체는 하기를 포함할 수 있다: 서열 번호: 5의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드, 여기서 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 적어도 하나의 분자간 이황화 결합을 통하여 공유적으로 연결된다. 또한 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체가 본원에 제공되며, 상기 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체 각각은 하기를 포함한다: 서열 번호: 5의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 6의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드.

[0239] 특정 구현예에서, 복합체는 하기를 포함할 수 있다: 서열 번호: 7의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드, 여기서 상기 제1 및 제2 폴리펩티드는 적어도 하나의 분자간 이황화 결합을 통하여 공유적으로 연결된다. 또한 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체가 본원에 제공되며, 상기 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체 각각은 하기를 포함한다: 서열 번호: 7의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제1 폴리펩티드; 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열에 적어도 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 갖는 제2 폴리펩티드.

[0240] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 복합체는 2개의 이중이량체를 포함할 수 있으며, 각 이중이량체는 하기를 포함한다:

[0241] (a) 크롭 (Fc-크롭) 및 하기 서열을 포함하는 hIgG1-Fc 폴리펩티드:

[0242] DKHTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 127); 및

[0243] (b) 홀 (Fc-홀) 및 하기 서열을 포함하는 hIgG1-Fc 폴리펩티드:

[0244] DKTHTCPPCPAPALAGGVSFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK  
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS  
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 4).

[0245] 여기서 Fc-크롭 (a) 또는 the Fc-홀 (b)은, GDF15 글리코뮤테인의 C-말단 내지 N-말단에서 융합된다. GDF15 글

리코뮤테인의 서열은 하기와 같을 수 있다:

- [0246] ARNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDYDLLAKDCHCI (서열 번호: 128; GDF15 (A1-I112) D5T); 또는
- [0247] NGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 129; ΔN2-GDF15 (N3-I112) D5T); 또는
- [0248] GTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 130; ΔN3-GDF15 (G4-I112) D5T); 또는
- [0249] GDHCPLGPGRCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 131; ΔN3-GDF15 (G4-I112) R21N); 또는
- [0250] GDHCPLGPGRCRLHTVRANLTDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 132; ΔN3-GDF15 (G4-I112) (S23N/E25T)); 또는
- [0251] GDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQNRANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 133; ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)); 또는
- [0252] GDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFNATNMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 134; ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)); 또는
- [0253] GDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQNTTGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 135; N3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)); 또는
- [0254] GDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKNTTGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 136; ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)).
- [0255] 특정 예에서, Fc-크롭의 아미노산 서열은 서열 번호: 127의 아미노산 서열에 적어도 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일할 수 있다. 특정 예에서, Fc-홀의 아미노산 서열은 서열 번호: 4의 아미노산 서열에 적어도 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일할 수 있다. 특정 예에서, GDF15 뮤테인의 아미노산 서열은 서열 번호: 128-136 중 임의의 하나의 아미노산 서열에 적어도 85%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일할 수 있다.
- [0256] Fc-크롭 또는 Fc-홀은 링커 서열 (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub> 을 통해 GDF15 글리코뮤테인과 연결될 수 있고, 여기서 n=1-10, 예컨대, 2, 3, 4, 또는 5이다.
- [0257] 특정 예시에서, 본 개시내용의 복합체는 하기의 회수량을 가질 수 있다: 적어도 50 mg/L, 예를 들어 적어도 55 mg/L 초과, 60 mg/L, 65 mg/L, 70 mg/L, 75 mg/L, 80 mg/L, 85 mg/L, 90 mg/L, 95 mg/L, 100 mg/L, 110 mg/L, 120 mg/L, 130 mg/L, 140 mg/L, 150 mg/L, 160 mg/L, 170 mg/L, 180 mg/L, 190 mg/L, 200 mg/L 이상. 특정 경우에서, 본 개시내용의 복합체는 하기의 회수량을 가질 수 있다: 적어도 50 mg/L-300 mg/L, 예컨대 60 mg/L-300 mg/L, 75 mg/L-300 mg/L, 75 mg/L-250 mg/L, 75 mg/L-200 mg/L, 75 mg/L-175 mg/L, 75 mg/L-150 mg/L, 100 mg/L-300 mg/L, 100 mg/L-250 mg/L, 100 mg/L-200 mg/L, 100 mg/L-150 mg/L, 100 mg/L-125 mg/L, 110 mg/L-300 mg/L, 또는 150 mg/L-300 mg/L. 복합체의 회수는 각각 완전히 조립된 복합체 내에 존재하는 2개의 이량체를 형성하는 제1 및 제2 폴리펩티드를 발현하는 숙주 세포가 배양되는 배양 배지로부터 수득된 완전히 조립된 이량체-이량체 복합체의 양을 지칭한다.
- [0258] 본 개시내용은 또한 Fc 폴리펩티드 융합 파트너, 및 이러한 것을 포함하는 융합 단백질을 고려하고, 여기서 본 Fc 폴리펩티드 융합 파트너는 하전된 Fc 쌍 중 하나의 파트너로 변형된다. "하전된 Fc 쌍의 파트너"는 (i) "음으로 하전된" Fc 서열 (임의로 힌지 영역을 결함)이고 하전된 쌍 돌연변이를 포함함 또는 (ii) "양으로 하전된" Fc 서열 (임의로 힌지 영역을 결함) 및 하전된 쌍 돌연변이를 포함함을 지칭한다. "양으로 하전된" 및 "음으로 하전된"은 본 명세서에서 Fc 서열에서 전하 쌍 돌연변이의 성질을 기술하기 위한 참조를 용이하게 하기 위해 사용되고, 그리고 전체 서열 또는 작제물이 필연적으로 양전하 또는 음전하를 지니는 것을 나타내지 않는다. 본 개시내용의 폴리펩티드 작제물 (예를 들면, GDF15 글리코뮤테인, 변형된 GDF15 글리코뮤테인)에서의 사용에 적합한 하전된 Fc 아미노산 서열은 예를 들면 WO 2013/113008에 기재되어 있다.
- [0259] 양으로 하전된 Fc ("Fc(+)")의 예는 힌지 영역을 결하는 Fc 서열의 아스파르트산-대-리신 돌연변이 (E356K) 및 글루탐산-대-리신 돌연변이 (D399K)를 포함하는 Fc를 포함한다. 음으로 하전된 Fc ("Fc(-)")의 예는 힌지 영역

을 결합하는 Fc 서열에서 2개의 리신-대-아스파르트레이트 돌연변이 (K392D, K409D)를 포함하는 Fc를 포함한다. C-말단 리신 (K477)은 또한 임의로 또한 결실될 수 있다. Fc(+)폴리펩티드 융합 단백질 (예를 들면, Fc(+)GDF15 뮤테인 융합 단백질) 및 Fc(-)폴리펩티드 융합 단백질 (예를 들면, Fc(-)GDF15 뮤테인 융합 단백질)이 함께 배양될 때, 아스파르트레이트 잔기는 정전기적 힘을 통해 리신 잔기와 연계하여, GDF15 폴리펩티드 융합 단백질의 Fc(+)와 Fc(-) 서열 사이에 Fc 이중이량체의 형성을 용이하게 한다.

[0260] 본 개시내용은 또한 제1 Fc 서열의 N-말단을 제2 Fc의 C-말단에 연결하는 링커에 의해 직렬로 연결된 2개의 Fc 서열을 포함하는 "헤미(hemi)" 또는 "헤미Fc" 작제물로 지정된 작제물을 고려한다. 일부 구현예에서, 모노머는 GDF15 서열의 N-말단을 제1 Fc 서열의 C-말단에 연결하는 제1 링커에 의해 제1 Fc 서열에 연결된 폴리펩티드 (예를 들면, 성숙한 변형된 GDF15 또는 GDF15 글리코뮤테인) 서열을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 서열은 제1 Fc 서열의 N-말단을 제2 Fc의 C-말단에 연결하는 제2 링커에 의해 제2 Fc 서열에 연결된다. 제1 및 제2 Fc 서열은 또한 Fc 힌지 영역에 의해 연계된다. 이러한 2개의 모노머는 모노머가 연계하여 2개의 폴리펩티드 서열 사이의 사슬간 이황화 결합을 통해 연결된 이량체를 형성한다. 본 개시내용의 GDF15 뮤테인과 함께 사용하기에 적합한 헤미Fc 폴리펩티드의 예에 대해서는 WO 2013/113008을 참조한다.

[0261] 본 개시내용은 또한 하전된 Fc 쌍 (예를 들면, Fc의 다량체)을 포함하는 폴리펩티드의 다량체, 또는 그것의 단편을 갖는 융합 단백질을 고려한다.

[0262] 본 개시내용의 복합체는 개선된 특성 예컨대 증가된 용해도, 감소된 응집을 가지고, 및/또는 혈청 반감기를 증가한다. 특정 경우에, 본 복합체의 용해도는 일반적으로 비콘주게이트된 재조합 인간 GDF15 및 Fc (크롭 또는 홀) 콘주게이트된 야생형 GDF15에 대해 개선된다. 특정 구현예에서, 복합체는 pH 7.0에서 포스페이트 완충된 염수 (PBS)에서 적어도 1 mg/mL의 용해도를 가진다. 다른 구현예에서, 복합체는 적어도 2 mg/mL, 적어도 3 mg/mL, 적어도 4 mg/mL, 또는 적어도 5 mg/mL의 용해도를 가진다. 다른 구현예에서, 복합체는 pH 7.0에서 포스페이트 완충된 염수 (PBS)에서 적어도 6 mg/mL, 적어도 7 mg/mL, 적어도 8 mg/mL, 적어도 9 mg/mL, 또는 적어도 10 mg/mL의 용해도를 가진다. 특정 구현예에서, 복합체는 10 mg/mL보다 더 큰 용해도를 가진다.

[0263] 글리코실화: 본 개시내용의 목적을 위해, "글리코실화"는 단백질, 지질 또는 다른 유기 분자에 글리칸을 부착하는 효소 과정에 대해 광범위하게 지칭하는 것으로 의미된다. 본 개시내용과 관련하여 용어 "글리코실화"의 사용은 일반적으로 하나 이상의 탄수화물 모이어티를 부가 또는 결실하는 것 (화학 및/또는 효소 수단에 의해 글리코실화를 결실함에 의하거나 또는 기저 글리코실화 부위를 제거함에 의함), 및/또는 천연 서열에 존재할 수 있거나 또는 없을 수 있는 하나 이상의 글리코실화 부위를 부가하는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 또한, 본 어구는 존재하는 다양한 탄수화물 모이어티의 성질 및 비율의 변화를 포함하는 원상태 단백질의 당질의 정성적 변화를 포함한다.

[0264] 글리코실화는 단백질의 물리적 특성에 극적으로 영향을 미칠 수 있고 그리고 또한 단백질 안정성, 분비, 및 세포 내 국재화에서 중요할 수 있다. 사실상, 본 명세서에서 기재된 GDF15 뮤테인 폴리펩티드의 글리코실화는 그것의 물리적 특성에 유익한 개선을 부여한다. 예로써, 그러나 비제한적으로, GDF15 뮤테인의 용해도는 글리코실화에 의해 개선될 수 있고, 그리고 이러한 개선은 실질적일 수 있다 (실시에 참고). 이러한 변형된 GDF15 뮤테인에 의해 나타난 용해도 개선은, 예를 들면, 비-글리코실화된 GDF15/GDF15 뮤테인보다 약제학적 투여에 대해 보다 적합한 제형의 생성을 가능하게 한다. 글리코실화된 GDF15/GDF15 뮤테인 폴리펩티드는 또한 향상된 안정성을 보인다. 게다가, 본 폴리펩티드는 하나 이상의 약력학적 특성, 예컨대 반감기를 개선할 수 있다.

[0265] 글리코실화 부위의 부가는 상기에서 기재된 바와 같이 아미노산 서열을 변경함에 의해 달성될 수 있다. 폴리펩티드에 대한 변경은, 예를 들면, 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기 (O-연결된 글리코실화 부위에 대해) 또는 아스파라긴 잔기 (N-연결된 글리코실화 부위에 대해)의 부가, 또는 치환에 의해 될 수 있다. 각 유형에서 발견된 N-연결된 및 O-연결된 올리고당 및 당 잔기의 구조는 상이할 수 있다. 양자에서 통상적으로 발견되는 일 유형의 당은 N-아세틸뉴라민산 (이후에 시알산으로 칭함)이다. 시알산은 보통 N-연결된 및 O-연결된 올리고당 양자의 말단 잔기이고 그리고, 그것의 음전하 특성에 의해, 당단백질에 산성 특성을 부여할 수 있다. 본 개시내용의 특정한 구현예는 상기에서 기재된 바와 같이 N-글리코실화 변이체의 생성 및 용도를 포함한다.

[0266] 폴리펩티드 상에 탄수화물 모이어티의 수를 증가하는 또 다른 수단은 폴리펩티드에 글리코사이드의 화학 또는 효소 커플링에 의한다.

[0267] 디하이드로폴레이트 환원효소 (DHFR) - 결핍된 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포는 재조합 당단백질의 생산을 위한 숙주세포로 통상적으로 사용된다. 이들 세포는 효소 베타-갈락토시드 알파-2,6-시아릴전달효소를 발현하지



않고 그리고 따라서 이들 세포에서 생산된 당단백질의 N-연결된 올리고당에 알파-2,6 연결에서 시알산을 부가하지 않는다.

[0268] 특정 구현예에서, 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공통 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인은 글리코실화된다. 따라서, 특정 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 복합체 내 GDF15 뮤테인은 GDF15 뮤테인 안으로 도입된 N-연결된 글리코실화 공통 부위에서 글리코실화될 수 있다. 특정 경우에, 본 명세서에서 기재된 복합체가 세포주로부터 발현 동안에 생산된 글리코실화된 GDF15와 같은, 글리코실화된 GDF15를 포함할 수 있는 반면, 복합체는 탄수화물 모이어티를 제거하기 위해 생산-후 처리될 수 있다. 탄수화물 모이어티의 생산-후 제거는 진행 속주 세포에서의 발현 도중 GDF15 뮤테인 (및 Fc 서열)에 부착된 실질적으로 모든 탄수화물 거의 제거를 초래할 수 있다.

[0269] 따라서, 본 개시내용은 또 다른 단백질 (예를 들면, 대상체 단백질에 이중성인 아미노산 서열을 갖는 단백질), 또는 담체 분자와 같은, 폴리펩티드 서열의 N- 및/또는 C-말단에 하나 이상의 추가의 성분 또는 분자의 콘주게이션을 고려한다. 따라서, 예시적인 폴리펩티드 서열은 또 다른 성분 또는 분자를 갖는 콘주게이트로 제공될 수 있다.

[0270] 폴리펩티드는 또한 큰, 서서히 대사작용된 거대분자 예컨대 단백질; 다당류, 예컨대 세파로오스, 아가로스, 셀룰로오스, 셀룰로오스 비드; 폴리머성 아미노산 예컨대 폴리글루탐산, 폴리에틸렌; 아미노산 코폴리머; 불활성화된 바이러스 입자; 불활성화된 박테리아 독소 예컨대 디프테리아, 테타누스독소증, 콜레라, 류코톡신 분자로부터 변성독소; 불활성화된 박테리아; 및 수지상 세포에 콘주게이트될 수 있다. 이러한 콘주게이트된 형태는, 원한다면, 본 개시내용의 폴리펩티드에 대한 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있다. 특정 경우에, 본 명세서에서 기재된 복합체 내 GDF15는 큰, 서서히 대사작용된 거대분자에 콘주게이트된 폴리펩티드일 수 있다.

[0271] 콘주게이션을 위한 추가의 후보자 성분 및 분자는 단리 또는 정제에 적합한 이들을 포함한다. 특정한 비제한적인 그 예는 예를 들면, 플라스틱 또는 폴리스티렌 비드, 플레이트 또는 비드, 자기 비드, 시험 스트립, 및 막을 포함하는, 고정 지지체를 포함하는 결합 분자, 예컨대 바이오틴 (바이오틴-아비딘 특이적 결합 쌍), 항체, 수용체, 리간드, 렉틴, 또는 분자를 포함한다.

[0272] 그것의 다양한 분자량으로 콘주게이트를 효과적으로 분리하는, 양이온 교환 크로마토그래피와 같은 정제 방법이 전하 차이에 의해 콘주게이트를 분리하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 양이온 교환 칼럼이 로딩될 수 있고 그리고 그 다음 ~20 mM 아세트산나트륨, pH ~4로 세정되고, 그리고 그 다음 pH 약 3 내지 5.5, 예를 들면, pH ~4.5로 완충된 선형 (0 M 내지 0.5 M) NaCl 구배로 용출된다. 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 수득된 분획의 함량은 종래의 방법, 예를 들면, 질량 분광법, SDS-PAGE, 또는 분자량에 의해 분자 독립체를 분리하기 위한 다른 공지된 방법을 사용한 분자량에 의해 확인될 수 있다.

[0273] 링커: 본 개시내용의 폴리펩티드 서열을 변형하기 위해 사용된 임의의 전술한 성분 및 분자는 링커를 통해 임의로 콘주게이트될 수 있다. 적합한 링커는 변형된 폴리펩티드 서열과 연결된 성분 및 분자 사이에 일부 운동을 허용하기에 일반적으로 충분한 길이인 "가요성 링커"를 포함한다. 링커 분자는 약 6-50 원자 길이일 수 있다. 링커 분자는 또한, 예를 들면, 아릴 아세틸렌, 2-10 모노머 단위를 함유하는 에틸렌 글리콜 올리고머, 디아민, 이산, 아미노산, 또는 이들의 조합일 수 있다. 적합한 링커는 쉽게 선택될 수 있고 그리고 임의의 적합한 길이, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50 아미노산일 수 있다.

[0274] 예시적 가요성 링커는 하기를 포함한다: 글리신 폴리머  $(G)_n$ , 글리신-알라닌 폴리머, 알라닌-세린 폴리머, 글리신-세린 폴리머 (예를 들어,  $(G_mS_o)_n$ ,  $(GSGGS)_n$  (서열 번호: 120),  $(G_mS_oG_m)_n$ ,  $(G_mS_oG_mS_oG_m)_n$  (서열 번호: 121),  $(GSGGS_m)_n$  (서열 번호: 122),  $(GSGS_mG)_n$  (서열 번호: 123) 및  $(GGGS_m)_n$  (서열 번호: 124) 및 이의 조합 (여기서 m, n, 및 o는 각각 독립적으로 적어도 1 내지 20, 예컨대 1-18, 2-16, 3-14, 4-12, 5-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)로부터 선택됨), 및 기타 가요성 링커. 글리신 및 글리신-세린 폴리머는 상대적으로 체계가 없고, 그리고 따라서 성분 사이에서 중성 연결기로 작용할 수 있다. 예시적인 가요성 링커는, 비제한적으로 GSGG (서열 번호: 21), GSGG (서열 번호: 22), GSGG (서열 번호: 23), GSGG (서열 번호: 24), GGGG (서열 번호: 25), 및 GSSG (서열 번호: 26)를 포함한다.

[0275] 추가 가요성 링커는 하기를 포함한다: 글리신 폴리머  $(G)_n$  또는 글리신-세린 폴리머 (예컨대  $(GS)_n$ ,  $(GSGGS)_n$  (서열 번호: 120),  $(GGGS)_n$  (서열 번호: 125) 및  $(GGGS)_n$  (서열 번호: 126), 여기서 n=1 내지 50, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50). 예시적 가요성 링커는 비제한적으로 하기를 포함한다:

GGGS (서열 번호: 19), GGGGS (서열 번호: 20), GGS (서열 번호: 21), GSGG (서열 번호: 22), GSGG (서열 번호: 23), GSGGG (서열 번호: 24), GGGSG (서열 번호: 25), 및 GSSSG (서열 번호: 26). 이들 링커 서열의 다량체 (예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 또는 30-50)는 본 명세서에서 기재된 폴리펩티드에 이중성 아미노산 서열을 융합하기 위해 사용될 수 있는 가요성 링커를 제공하기 위해 함께 연결될 수 있다. 본원에서 기재된 바와 같이, 본 이중성 아미노산 서열은 신호 서열 및/또는 융합 파트너, 예컨대, 알부민, Fc 서열, 등일 수 있다.

[0276] 예시적 링커는 하기를 포함한다: 예컨대, (GGGGS)<sub>n</sub> (서열 번호: 126) (여기서 n은 정수 1 내지 약 10 (예컨대 n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10)임); GGGSGGGGIEGR (서열 번호: 48); GGGGG (서열 번호: 27); EGGGS (서열 번호: 28).

[0277] 일부 경우에서, 본 링커는 절단가능한 링커, 예를 들면, 효소적으로 절단가능한 링커일 수 있다. 다른 사례에서, 본 링커는 비-절단가능한 링커, 예를 들면, 생체내 정상 생리적 조건 하에서 효소적으로 절단되지 않는 링커일 수 있다.

[0278] 예를 들면, 단백질분해로 절단가능한 링커는 매트릭스 메탈로프로테이나아제 (MMP) 절단 부위, 예를 들면, 콜라게나아제-1, -2, 및 -3 (MMP-1, -8, 및 -13), 젤라티나아제 A 및 B (MMP-2 및 -9), 스트로멜리신 1, 2, 및 3 (MMP-3, -10, 및 -11), 마트릴리신 (MMP-7), 및 막 메탈로프로테이나아제 (MT1-MMP 및 MT2-MMP)로부터 선택된 MMP에 대한 절단 부위를 포함할 수 있다. MMP-9의 절단 서열은 하기이다: Pro-X-X-Hy (여기서, X는 비표준화 잔기; Hy, 소수성 잔기를 나타냄) (서열 번호: 29), 예컨대 Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr) (서열 번호: 30), 예컨대 Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (서열 번호: 31) 또는 Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (서열 번호: 32). 프로테아제 절단 부위의 또 다른 예는 플라스미노겐 활성화인자 절단 부위, 예를 들면, uPA 또는 조직 플라스미노겐 활성화인자 (tPA) 절단 부위이다. uPA 및 tPA의 절단 서열의 구체적인 예는 Val-Gly-Arg를 포함하는 서열을 포함한다. 또 다른 예는 트롬빈 절단 부위, 예를 들면, CGLVPAGSGP (서열 번호: 33)이다. 프로테아제 절단 부위를 포함하는 추가 적합한 링커는 하기 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함하는 링커를 포함한다: 1) SLLKSRMVPNFN (서열 번호: 34) 또는 SLLIARRMPNFN (서열 번호: 35) (하기에 의하여 절단됨: 카텝신 B; SKLVQASASGVN (서열 번호: 36) 또는 SSVLKASDAPDN (서열 번호: 37) (하기에 의하여 절단됨: 엡스타인-바 바이러스 프로테아제; RPKPQQFFGLMN (서열 번호: 38) (하기에 의하여 절단됨: MMP-3 (스트로멜리신); SLRPLALWRSFN (서열 번호: 39) (하기에 의하여 절단됨: MMP-7 (마트릴리신); SPQGIAGQRNFN (서열 번호: 40) (하기에 의하여 절단됨: MMP-9; DVDERDVRGFASFL (서열 번호: 41) (하기에 의하여 절단됨: 서물리신-유사 MMP; SLPLGLWAPNFN (서열 번호: 42) (하기에 의하여 절단됨: 기질 메탈로프로테이나아제 2(MMP-2); SLLIFRSWANFN (서열 번호: 43) (하기에 의하여 절단됨: 카텝신 L; SGVVIATVIVIT (서열 번호: 44) (하기에 의하여 절단됨: 카텝신 D; SLGPQGIWGQFN (서열 번호: 45) (하기에 의하여 절단됨: 기질 메탈로프로테이나아제 1(MMP-1); KKSPGRVVGGSV (서열 번호: 46) (하기에 의하여 절단됨: 우로키나아제-유형 플라스미노겐 활성화인자; PQGLLGAPGILG (서열 번호: 47) (하기에 의하여 절단됨: 막 유형 1 기질 메탈로프로테이나아제 (MT-MMP); HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (서열 번호: 94) (하기에 의하여 절단됨: 스트로멜리신 3 (or MMP-11), 서물리신, 섬유아세포 콜라게나아제 및 스트로멜리신-1; GPQGLAGQRGIV (서열 번호: 49) (하기에 의하여 절단됨: 기질 메탈로프로테이나아제 13 (콜라게나아제-3); GGSQGRGRKALE (서열 번호: 50) (하기에 의하여 절단됨: 조직-유형 플라스미노겐 활성화인자(tPA); SLSALLSSDIFN (서열 번호: 51) (하기에 의하여 절단됨: 인간 전립선-특이적 항원; SLPRFKIIGGFN (서열 번호: 52) (하기에 의하여 절단됨: 칼리크레인 (hK3); SLLGIAPGNFN (서열 번호: 53) (하기에 의하여 절단됨: 호중구 엘라스타아제; 및 FFKNIVTPRTPP (서열 번호: 54) (하기에 의하여 절단됨: 칼페인 (칼슘 활성화된 중성 프로테아제).

[0279] 본 명세서에서 제공된 특정 아미노산 서열 및 핵산 서열에 부가하여, 본 개시내용은 또한 본 아미노산 및 핵산에 대해 서열에서 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한 서열을 갖는 폴리펩티드 및 핵산을 고려한다. 2종 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열, 또는 2종 이상의 아미노산 서열의 맥락에서 용어를 "동일한" 또는 퍼센트 "동일성"은, 지정된 영역에 걸쳐 최대 상응성에 대해 비교되고 정렬될 때, 동일하거나 또는 동일한 (예를 들면, 명시된 영역에 걸쳐 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 동일한) 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 명시된 백분율을 가지는 2종 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 본 개시내용은 특이적으로 복합체에 존재하는 제1 및 제2 폴리펩티드를 고려하고, 본 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 각각 본 명세서에서 제공된 제1 및 제2 폴리펩티드 쌍의 제1 및 제2 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대해 서열에서 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 가진다.

[0280] **폴리펩티드의 생산 방법**

[0281] 본 개시내용의 폴리펩티드는 재조합 및 비-재조합 방법 (예를 들면, 화학 합성)을 포함하는 임의의 적합한 방법에 의해 생산될 수 있다.

[0282] A. 화학적 합성

[0283] 폴리펩티드가 화학적으로 합성되는 경우, 본 합성은 액체-상 또는 고체-상을 통해 진행될 수 있다. 고체상 펩티드 합성 (SPPS)은 비천연 아미노산 및/또는 펩티드/단백질 골격 변형의 혼입을 허용한다. 다양한 형태의 SPPS, 예컨대 Fmoc 및 Boc가 본 개시내용의 폴리펩티드를 합성하기 위해 이용가능하다. 본 화학적 합성의 자세한 사항은 당해 기술에 공지되어 있다 (예를 들면, Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med. Chem. 6:3-10; 및 Camarero J.A. et al., 2005 Protein Pept Lett. 12:723-8).

[0284] B. 재조합 생산

[0285] 폴리펩티드가 재조합 기술을 사용하여 생산되는 경우, 본 폴리펩티드는, 각각 원핵 또는 진핵 세포, 예컨대 박테리아 (예를 들면, *E. 콜리*) 또는 효모 숙주세포일 수 있는, 임의의 적합한 숙주세포 및 임의의 적합한 작제물을 사용하여 세포내 단백질 또는 분비된 단백질로서 생산될 수 있다. 숙주세포로 사용될 수 있는 진핵 세포의 다른 예는 곤충 세포, 포유동물 세포, 및/또는 식물 세포를 포함한다. 포유동물의 숙주세포가 사용되는 경우, 이들은 인간 세포 (예를 들면, HeLa, 293, H9 및 저켓 세포); 마우스 세포 (예를 들면, NIH3T3, L 세포, 및 C127 세포); 영장류 세포 (예를 들면, Cos 1, Cos 7 및 CV1) 및 햄스터 세포 (예를 들면, 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포)를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드 및 폴리펩티드를 포함하는 복합체는 CHO 세포에서 생산된다. 다른 구현예에서, 폴리펩티드 및 폴리펩티드를 포함하는 복합체는 효모 세포에서 생산되고 그리고 특정 구현예에서 포유동물-유사 N-글리칸을 갖는 당단백질을 생산하도록 유전자 상으로 가공된 효모 세포일 수 있다.

[0286] 폴리펩티드의 발현에 적합한 다양한 숙주-벡터 시스템은 본 분야에 알려진 바와 같은 표준 절차에 따라 이용될 수 있다. 참고: 예를 들어, Sambrook et al., 1989 Current Protocols in Molecular Biology Cold Spring Harbor Press, New York; and Ausubel et al. 1995 Current Protocols in Molecular Biology, Eds. Wiley and Sons. 유전학적 물질의 숙주 세포로의 도입을 위한 방법은 예를 들어, 형질전환, 전기천공, 콘주게이션, 인산칼슘 방법 등을 포함한다. 전달 방법은 도입된 폴리펩티드-암호화 핵산의 안정한 발현을 제공하기 위해 선택될 수 있다. 상기 폴리펩티드-암호화 핵산은 유전성 에피솜 요소(예를 들어, 플라스미드)로서 제공되거나 게놈에 통합될 수 있다. 관심 폴리펩티드 생산에서의 사용을 위한 다양한 적합한 벡터가 상업적으로 이용가능하다.

[0287] 벡터는 숙주 세포에서 염색체의 유지를 제공하거나 숙주 세포 게놈으로의 통합을 제공할 수 있다. 상기 발현 벡터는 전사 및 해독 조절 서열을 제공하고 유도성 또는 항상성 발현을 제공할 수 있고, 여기서, 상기 암호화 영역은 전사 개시 영역, 및 전사 및 해독 종결 영역의 전사 조절하에 작동적으로 연결된다. 일반적으로, 상기 전사 및 해독 조절 서열은 프로모터 서열, 리보솜 결합 부위, 전사 개시 및 종료 서열, 해독 개시 및 종료 서열, 및 인핸서 또는 액티베이터 서열을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 프로모터는 항상성이거나 유도성일 수 있고 강한 항상성 프로모터(예를 들어, T7)일 수 있다.

[0288] 발현 작제물은 일반적으로, 목적하는 단백질을 암호화하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기 위해 프로모터 서열 근처에 위치한 간편한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주에서 작동하는 선택가능한 마커는 벡터를 함유하는 세포의 선택을 촉진시키기 위해 존재할 수 있다. 더욱이, 상기 발현 작제물은 추가의 요소들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 발현 벡터는 1개 또는 2개의 복제 시스템을 가질 수 있고, 이것이 유기체, 예를 들어, 발현을 위한 포유동물 또는 곤충 세포, 및 클로닝 및 증폭을 위한 원핵 숙주에 유지되도록 한다. 추가로, 발현 작제물은 형질전환된 숙주 세포의 선택을 가능하기 위해 선택가능한 마커 유전자를 함유할 수 있다. 선택가능한 유전자는 당업자에게 널리 공지되어 있고 사용되는 숙주 세포에 따라 다양하다.

[0289] 단백질의 분리 및 정제는 당업계에 공지된 방법에 따라 성취될 수 있다. 예를 들면, 단백질은 단백질 항시적으로 및/또는 유도에 의해 발현되도록 유전적으로 변형된 세포의 용해물로부터; 숙주세포가 성장된 배양 배지로부터; 또는 단백질에 특이적으로 결합하는 태그를 갖는 샘플 (세포 용해물, 배양 배지, 또는 반응 혼합물)을 접촉하는 것, 비-특이적으로 결합된 물질을 제거하기 위해 수세하는 것, 및 특이적으로 결합된 단백질을 용출하는 것을 포함할 수 있는, 친화도 정제에 의한, 합성 반응 혼합물로부터 분리될 수 있다. 분리된 단백질은 투석 및 단백질 정제 방법에 통상적으로 사용되는 다른 방법에 의해 추가로 정제될 수 있다. 일 구현예에서, 단백질은 금속 킬레이트 크로마토그래피 방법을 사용하여 분리될 수 있다. 단백질은 분리를 용이하게 하기 위해 변형을

함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 개시내용의 복합체는 크기에 기반하여 분리될 수 있다.

[0290] 특정 구현예에서, 복합체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 여기서 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 여기서 제1 폴리펩티드 C-말단 또는 제2 폴리펩티드 C-말단 중 어느 하나는 제1 및 제2 폴리펩티드를 발현하는 숙주세포가 배양된 배지로부터 단리될 수 있는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단 콘주게이트된다.

[0291] 특정 구현예에서, 복합체는 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하고, 각각의 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 여기서 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되고, 여기서 제1 폴리펩티드 C-말단 또는 제2 폴리펩티드 C-말단 중 어느 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단 콘주게이트되고, 여기서 제1 이중이량체 내 GDF15 뮤테인은 제2 이중이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되어 그렇게 함으로써 제1 및 제2 폴리펩티드를 발현하는 숙주세포가 배양된 배지로부터 단리될 수 있는 제1 이중이량체 및 제2 이중이량체를 포함하는 복합체를 형성한다.

[0292] 본 명세서에서 지칭된 바와 같이, 제1 및 제2 핵산은 단일 숙주세포 또는 2개의 상이한 숙주세포에서 단일 벡터 또는 별개 벡터로 존재할 수 있다. 특정 경우에, 본 개시내용의 제1 및 제2 폴리펩티드는 동일한 세포에서 발현되어 존재할 수 있는 제1 및 제2 핵산 각각에 의해 암호화될 수 있다. 제1 및 제2 핵산이 상이한 세포에 존재하는 구현예에서, 세포는 생산 공정 동안에 일부 점으로 융합될 수 있다.

[0293] 복합체는 실질적으로 순수한 또는 단리된 형태 (예를 들면, 다른 폴리펩티드로부터 유리)로 제조될 수 있다. 복합체는 존재할 수 있는 다른 성분(예를 들어, 다른 폴리펩티드 또는 다른 복합체 (예를 들어, 동종이량체, 동종다량체) 또는 다른 숙주 세포 성분)에 비해 폴리펩티드가 풍부한 조성물에 존재할 수 있다. 예를 들면, 정제된 복합체 (예를 들면, 이중이량체-이중이량체 복합체)는 복합체가 다른 발현된 단백질이 실질적으로 없는, 예를 들면, 조성물의 90% 미만, 60% 미만, 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 또는 1% 미만이 다른 발현된 단백질을 구성하도록 제공될 수 있다.

[0294] **항체**

[0295] 본 개시내용은 본 개시내용의 폴리펩티드 또는 융합 단백질에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 포함하는 항체를 제공한다. 용어 "항체"는, 이들이 목적 생물학적 활성을 나타낸다면, 온전한 단클론성 항체, 다클론성 항체, 적어도 2종의 온전한 항체로부터 형성된 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체), 및 Fab 및 F(ab')<sub>2</sub>를 포함하는 항체 결합 단편을 포괄한다. 기본적인 전체의 항체 구조 단위는 사량체를 포함하고, 그리고 각 사량체는 폴리펩티드 사슬의 2개의 동일한 쌍으로 구성되고, 각 쌍은 하나의 "가벼운" 사슬 (약 25 kDa) 및 하나의 "무거운" 사슬 (약 50-70 kDa)을 갖는다. 각각의 쌍의 아미노 말단 부분은 항원 인식에 주로 책임이 있는 약 100 내지 110 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 대조적으로, 각 쌍의 카복시 말단 부분은 효과기 기능에 주로 책임이 있는 불변 영역을 정의한다. 인간 경쇄는 카파 및 람다로 분류되고, 반면에 인간 중쇄는 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로 분류되고, 그리고 항체의 아이소타입을 IgM, IgD, IgG, IgA, 및 IgE로 각각 정의한다. 결합 단편은 제조법 DNA 기술에 의해, 또는 무순상 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산된다. 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 및 단일-사슬 항체를 포함한다.

[0296] 각각의 중쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(VH)에 이어 수많은 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 하나의 말단에 가변 도메인을(VL) 그리고 그 다른 말단에 불변 도메인을 갖는다; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되며, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 경쇄 및 중쇄 내에, 가변 및 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 결합되고, 중쇄는 또한 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 포함한다(참조: 일반적으로, Fundamental Immunology Ch. 상기 항체 사슬들은 모두 상보성 결정 영역 또는 CDR로도 불리는, 3개의 초가변 영역에 의해 연결된 상대적으로 보존된 프레임워크 영역 (FR)의 동일한 일반적 구조를 나타낸다. 각 쌍의 2개의 사슬로부터 유래된 CDR은 프레임워크 영역에 의해 정렬되어 특이적 에피토프에의 결합을 가능하게 한다. N-말단으로부터 C-말단까지, 경쇄 및 중쇄 모두는 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2,



FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다.

- [0297] 온전한 항체는 2개의 결합 부위를 가지고 그리고, 이작용성 또는 이중특이적 항체를 제하고, 본 2개의 결합 부위는 동일하다. 이중특이적 또는 이중작용적 항체는 2개의 상이한 무거운/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 혼성화 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함하는 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다.
- [0298] 상기에 제시된 바와 같이, 결합 단편은 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다. 효소 파파인으로 항체의 절단은 "Fab" 단편으로도 알려진 2개의 동일한 항원-결합 단편과 항원-결합 활성이 없는 "Fc" 단편을 생성한다. 효소 캡신으로 항체의 절단은 항체 분자의 2개의 아암이 연결되고 2-항원 결합 부위를 포함하는 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성한다. 본 F(ab')<sub>2</sub> 단편은 항원을 가고 결합시키는 능력을 갖는다.
- [0299] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "Fab"는 VH 및 VL 영역뿐만 아니라 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 CH1 도메인을 포함하는 항체의 단편을 지칭한다.
- [0300] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "Fv"는 항원-인식 및 항원-결합 부위 양자를 보유하는 항체의 최소 단편을 지칭한다. 2-사슬 Fv 중에서, 이 영역은 비-공유 회합에 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체를 포함한다. 단일-쇄 Fv 중에서, 1 개의 중쇄 및 1 개의 경쇄 가변 도메인은 경쇄 및 중쇄가 2-쇄 Fv 중에서도 비슷한 "이량체" 구조로 결합할 수 있도록 가요성 펩티드 링커에 의해 공유 결합될 수 있다. 이는 상기 입체배치에서 각각의 가변 도메인의 3 개의 CDR은 VH-VL 이량체의 표면 상에서 항원-결합 부위를 정의하도록 상호작용한다. 여섯 개의 CDR이 총체적으로 항체에 항원-결합 특이성을 부여하지만, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDR만 포함하는 Fv의 절반)도 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0301] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 특정한 리간드와 접촉하게 하고 그리고 그것의 특이성을 결정하는 면역학적 수용체의 일부를 지칭한다.
- [0302] 용어 "초가변성 영역"은 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변성 영역은 일반적으로 CDR로부터의 아미노산 잔기 및/또는 "초가변성 루프"로부터의 이들 잔기를 포함한다.
- [0303] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "에피토프"는 단백질 항원 상의 항체에 대한 결합 부위를 지칭한다. 에피토프 결정인자는 보통 분자 예컨대 아미노산 또는 당 측쇄를 그룹화하는 화학적으로 활성인 표면, 뿐만 아니라 특정 3차원 구조적 및 전하 특징을 포함한다. 항체는 해리 상수가  $\leq 1 \mu\text{M}$ ,  $\leq 100 \text{ nM}$  또는  $\leq 10 \text{ nM}$ 일 때 항원에 결합한다고 한다. 증가된 평형 상수 (" $K_D$ ")는 에피토프와 항체 사이에 보다 낮은 친화도가 있음을 의미하고, 반면에 감소된 평형 상수는 에피토프와 항체 사이에 보다 큰 친화도가 있음을 의미한다. 특정 양 "보다 많지 않은"의  $K_D$  를 갖는 항체는 항체가 주어진  $K_D$  로 또는 그 이상 강하게 에피토프에 결합한다는 것을 의미한다.  $K_D$  가 에피토프 및 항체의 결합 특성을 기술하는 반면, "효력"은 항체의 기능에 대한 항체 자체의 유효성을 기술한다. 필연적으로 평형 상수와 효력 사이에는 상관 관계가 없고; 따라서, 예를 들면, 상대적으로 낮은  $K_D$  는 자동적으로 높은 효능을 의미하지 않는다.
- [0304] 항체에 대한 참조에서 용어 "선택적으로 결합한다"는 항체가 단지 단일 기질에만 결합한다는 것을 의미하지 않고, 제1 기질에 대한 항체의  $K_D$  가 제2 기질에 대한 항체의  $K_D$  보다 작다는 것을 의미한다. 에피토프에 배타적으로 결합하는 항체는 단지 그 단일 에피토프에만 결합한다.
- [0305] 인간에게 투여될 때, 설치류 (즉, 쥐 또는 랫트) 가변 및/또는 불변 영역을 함유하는 항체는 때때로, 예를 들면, 신체로부터의 신속한 제거 또는 항체에 대한 신체에 의한 면역 반응의 생성과 관련된다. 설치류-유도된 항체의 이용을 피하기 위해서, 완전 인간 항체가 설치류 안으로 인간 항체 기능의 도입을 통해 생성될 수 있어 설치류가 완전 인간 항체를 생산한다. 본 명세서에서 특이적으로 확인되지 않는다면, "인간" 및 "완전 인간" 항체는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 용어 "완전 인간"은 단지 부분적으로 인간인 항체가 전적으로, 또는 완전히 인간인 것으로부터 구분될 때 유용할 수 있다. 숙련가는 완전 인간 항체를 생성하는 다양한 방법을 알고 있다.
- [0306] 가능한 인간 항-마우스 항체 반응을 다루기 위해, 키메라성 또는 달리 인간화된 항체가 이용될 수 있다. 키메라성 항체는 인간 불변 영역 및 쥐 가변 영역을 가지며, 그리고 이와 같이, 인간 항-키메라성 항체 반응은 일부 환자에서 관찰될 수 있다. 따라서, 가능한 인간 항-마우스 항체 또는 인간 항-키메라성 항체 반응을 회피하기 위해 다량체 효소에 대한 완전 인간 항체를 제공하는 것이 유리하다.
- [0307] 완전 인간 단클론성 항체는, 예를 들면, 숙련가에게 공지된 기술에 의해 하이브리도마 세포주의 생성에 의해 제

조될 수 있다. 다른 제조 방법은 적합한 포유동물 숙주세포, 예컨대 CHO 세포의 형질전환을 위한 특정한 항체를 암호화하는 서열의 사용을 포함한다. 형질전환은, 예를 들면 바이러스에 (또는 바이러스 벡터 안으로) 폴리뉴클레오티드를 패키징 및 바이러스 (또는 벡터)로 숙주세포를 형질도입하는 것을 포함하는 숙주세포 안으로 폴리뉴클레오티드를 도입시키기 위한 임의의 공지된 방법에 의해 또는 당해 기술에서 공지된 형질감염 절차에 의해 될 수 있다. 포유동물 세포에 이중 폴리뉴클레오티드를 도입하는 방법은 당업계에서 공지되어 있고, 텍스트란-매개 형질감염, 인산 칼슘 침전, 폴리브렌 매개 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 리포솜 내 폴리뉴클레오티드의 캡슐화 및 DNA를 핵으로 직접 미세 주사하는 것 등을 포함한다. 발현을 위해 호스트로 이용가능한 포유동물 세포주는 당해 기술에서 잘 알려져 있고 그리고, 비제한적으로, CHO 세포, HeLa 세포, 및 인간 간세포 암종 세포를 포함한다.

[0308] 항체는 본 개시내용의 폴리펩티드를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 항체는 대상체에서 본 개시내용의 하나 이상의 폴리펩티드의 수준을 검출하고, 검출된 수준을 표준 대조군 수준이나 또는 앞서 (예를 들어, 임의의 병 이전에) 결정된 대상체의 기준선 수준에 대해 비교함에 의해 진단으로서 사용될 수 있다.

#### [0309] 치료적 및 예방적 용도

[0310] 본 개시내용은 본 명세서에서 기재된 바와 같이 본 개시내용의 복합체, 또는 이들의 조성물의 투여에 의해, 대사성 및 대사성-관련된 질환, 예컨대, 비만 및 다른 체중 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 및 글루코스 대사 장애를 치료하거나 또는 예방하는 방법을 제공한다. 이러한 방법은 또한, 예를 들면 증상의 중증도 또는 빈도를 감소함에 의해 질환, 장애 또는 병태와 관련된 하나 이상의 증상에 유리한 효과를 가질 수 있다.

[0311] 대상체가 본 명세서에서 제공된 방법에 의해 체중 장애 (예를 들면, 비만)의 치료 또는 예방의 후보자일 수 있는지를 결정하기 위해, 파라미터 예컨대, 비제한적으로, 병인 및 대상체의 상태의 정도 (예를 들어, 대상체가 참조 건강한 사람에 비교될 때 얼마나 과체중인가)가 평가되어야 한다. 예를 들면,  $\sim 25$  및  $\sim 29.9 \text{ kg/m}^2$  사이의 BMI를 갖는 성인은 과체중 (전-비만)으로 간주될 수 있으며, 반면  $\sim 30 \text{ kg/m}^2$  또는 그보다 높은 BMI를 갖는 성인은 비만으로 간주될 수 있다. 본 명세서에서 논의된 바와 같이, 본 발명의 복합체는 식욕 억제에 효과적일 수 있고, 예를 들면 식욕을 감소할 수 있어 체중 감소를 유도한다.

[0312] 대상체가 본 명세서에서 제공된 방법에 의해 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 및/또는 글루코스 장애의 치료 또는 예방을 위한 후보자일 수 있는지를 결정하기 위해, 당해 분야에서 공지된 다양한 진단 방법이 이용될 수 있다. 이러한 방법은 본 명세서에서 다른 곳에 기재된 것들(예를 들면, 공복 혈장 글루코스 (FPG) 평가 및 경구 글루코스 내성 시험 (oGTT))을 포함한다.

[0313] 대사성 및 대사성-관련된 질환, 예컨대, 비만 및 다른 체중 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 글루코스 대사 장애를 치료하거나 또는 예방하기 위해 대상체에게 투여될 때 본 명세서에서 제공된 복합체는 혈당 수준에서의 감소, 체중에서의 감소 및/또는 음식 섭취에서의 감소를 유도할 수 있다.

[0314] 특정 구현예에서, 본 명세서에서 고려된 복합체는 본 복합체의 투여 부재의 것에 비교될 때 적어도 5%의 혈당 수준, 체중, 및/또는 음식 섭취를 감소할 수 있다. 예를 들면, 본 명세서에서 고려된 복합체는 치료 또는 예방의 시작 전의 것에 비교하여 적어도 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%의 혈당 수준, 체중, 및/또는 음식 섭취를 감소할 수 있다.

[0315] 특정 구현예에서, 대사성 장애를 치료하기 위해 사용된 본 개시내용의 복합체는 복합체 당 2개의 이종이량체 분자를 포함하는 복합체일 수 있고, 여기서 각 이종이량체는 동일하고, 그리고 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 본 제1 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있고; 본 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 여기서 상기 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되어 이종이량체를 형성하고, 여기서 각 이종이량체 내 제1 폴리펩티드 C-말단 또는 제2 폴리펩티드 C-말단 중 어느 하나는 적어도 하나의 N-연결된 글리코실화 공동 부위를 포함하는 GDF15 뮤테인의 N-말단 콘주게이트되고, 여기서 이종이량체 내 GDF15 뮤테인은 또 다른 이종이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되어, 그렇게 함으로써 두 이종이량체를 포함하는 복합체를 형성한다.

[0316] 또 다른 구현예에서, 대사성 장애를 치료하기 위해 사용된 본 개시내용의 복합체는 복합체 당 2개의 이종이량체 분자(이종이량체와 연계된 이종이량체)를 포함하는 복합체일 수 있고, 여기서 각 이종이량체는 동일하고, 그리고 각 이종이량체는 IgG Fc 서열을 갖는 제1 폴리펩티드를 포함하고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된

돌출부를 포함하는 CH3 서열을 포함할 수 있고, 여기서 제1 폴리펩티드의 C-말단은 GDF15 글리코뮤테인의 N-말단에 융합되고; 그리고 제2 폴리펩티드는 IgG Fc 서열을 포함하고, 본 IgG Fc 서열은 적어도 하나의 가공된 공동을 포함하는 CH3 서열을 포함하고; 여기서 상기 제1 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 공동 안으로 제1 폴리펩티드의 돌출부를 위치시킴을 통해 제2 폴리펩티드와 이량체화되어 이중이량체를 형성하고, 여기서 이중이량체 내 GDF15 뮤테인은 또 다른 이중이량체 내 GDF15 뮤테인과 이량체화되어 그렇게 함으로써 두 이중이량체를 포함하는 복합체를 형성한다.

[0317] **약제학적 조성물**

[0318] 본 개시내용의 복합체는 대상체에 투여를 위해 적합한 조성물의 형태로 될 수 있다. 일반적으로, 이러한 조성물은 하나 이상의 복합체 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 또는 생리적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제를 포함하는 "약제학적 조성물"이다. 특정 구현예에서, 복합체는 약제학적 조성물에 치료적으로 유효한 양으로 존재한다. 약제학적 조성물은 본 개시내용의 방법에 사용될 수 있다; 따라서, 예를 들면, 약제학적 조성물은 본 명세서에서 기재된 치료적 및 예방적 방법 및 용도를 실시하기 위해 대상체에 생체의 또는 생체내로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 지칭된 바와 같이, 복합체는 글리코실화되거나 또는 되지 않을 수 있다. 예를 들면, 복합체는 진행 숙주 세포에서 생산된 것으로 글리코실화될 수 있고 그리고 약제학적 조성물 안에 제형화 전에 탄수화물 모이어티의 제거를 위한 처리가 될 수 있다. 탄수화물 모이어티의 제거는 복합체 내 폴리펩티드의 글리코실화에서 유의미한 감소 또는 복합체 내 폴리펩티드의 글리코실화의 완벽한 부재를 초래할 수 있다.

[0319] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 복합체, N-글리코실화된 복합체, 또는 이들의 조성물의 투여에 의해 글루코스 대사 또는 체중 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 개시내용은 복합체, N-글리코실화된 복합체, 또는 이들의 조성물의 투여에 의해 음식 섭취를 감소 또는 체중을 감소하기 위한 방법이다. 본 개시내용은 더욱이 대사성 및 대사성-관련된 질환, 예컨대, 비만 및 다른 체중 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 및 글루코스 대사 장애로부터 선택된 증상을 치료하는데 사용하기 위한 약제의 제조에 전술한 서열, 복합체, N-글리코실화된 복합체, 또는 이들의 조성물의 용도를 제공한다. 본 개시내용은 더욱이 글루코스 대사 또는 체중 장애를 치료하는데 사용하기 위한 약제의 제조에 전술한 서열, 복합체, N-글리코실화된 복합체, 또는 이들의 조성물의 용도를 제공한다. 본 개시내용은 더욱이 음식 섭취 또는 체중을 감소하는데 사용하기 위한 약제의 제조에 전술한 서열, 복합체, N-글리코실화된 복합체, 또는 이들의 조성물의 용도를 제공한다.

[0320] 또한 본 명세서에서는 대사성 및 대사성-관련된 질환, 예컨대, 비만 및 다른 체중 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 및 글루코스 대사 장애로부터 선택된 증상을 치료하기 위한 또는 예방하기 위한 조성물, 예를 들면, 본 명세서에서 기재된 서열, 복합체, 및 N-글리코실화된 복합체의 약제학적 조성물이 제공된다. 본 개시내용은 더욱이 글루코스 대사 또는 체중 장애를 치료하기 위한 전술한 서열, 복합체, 또는 N-글리코실화된 복합체의 조성물 (예를 들면, 약제학적 조성물)을 제공한다. 본 개시내용은 더욱이 음식 섭취 또는 체중을 감소하기 위한 전술한 서열, 복합체, 또는 N-글리코실화된 복합체의 조성물 (예를 들면, 약제학적 조성물)을 제공한다.

[0321] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 의도된 방법 또는 투여 경로와 양립가능하도록 제형화될 수 있다; 예시적인 투여 경로는 본 명세서에서 제시된다. 더욱이, 약제학적 조성물은 본 개시내용에 의해 고려되는 것과 같은 질환, 장애 및 증상을 치료 또는 예방하기 위해 본원에서 기재된 바와 같이 다른 치료적으로 활성인 제제 또는 화합물 (예를 들면, 글루코스 저하 제제)과 함께 사용될 수 있다.

[0322] 약제학적 조성물은 전형적으로 치료적 유효량의 본 개시내용에 의해 고려된 복합체 중 적어도 하나 및 하나 이상의 약제학적으로 및 생리적으로 허용가능한 제형화 제제를 포함한다. 적합한 약제학적으로 허용가능한 또는 생리적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 부형제는, 비제한적으로, 항산화제 (예를 들면, 아스코르브산 및 소듐 바이셀페이트), 보존제 (예를 들면, 벤질 알코올, 메틸 파라벤, 에틸 또는 n-프로필, p-하이드록시벤조에이트), 유화제, 현탁화제, 분산제, 용매, 충전제, 팽화제, 세제, 버퍼, 비히클, 희석제, 및/또는 아조반트를 포함한다. 예를 들면, 적합한 비히클은 생리 식염수 용액 또는 시트레이트 완충 식염수일 수 있으며, 가능하게는 비경구 투여를 위한 약제학적 조성물에서 통상적인 다른 물질로 보강될 수 있다. 중성의 완충된 염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 염수는 추가의 예시적인 비히클이다. 당해 분야의 숙련가는 약제학적 조성물 및 복용 형태에서 사용될 수 있는 다양한 버퍼를 쉽게 인식할 것이다. 전형적인 버퍼는, 비제한적으로, 약제학적으로 허용가능한 약산, 약염기, 또는 이들의 혼합물을 포함한다. 예로서, 버퍼 성분은 수용성 물질 예컨대 인산, 타르타르산, 락트산, 석신산, 시트르산, 아세트산, 아스코르브산, 아스파르트산, 글루탐산, 및 그것의 염일 수 있다. 허용가능한 완충제는, 예를 들면, Tris 버퍼, N-(2-하이드록시에틸)피페라진-N'-(2-에탄설폰산) (HEPES),



2-(N-모폴리노)에탄설펜산 (MES), 2-(N-모폴리노)에탄설펜산 나트륨 염 (MES), 3-(N-모폴리노)프로판설펜산 (MOPS), 및 N-트리스[하이드록시메틸]메틸-3-아미노프로판설펜산 (TAPS)을 포함한다.

[0323] 약제학적 조성물이 제형화된 후, 이는 액제, 현탁제, 겔제, 유제, 고체로서, 또는 탈수되거나 동결건조된 분말로서 멸균 바이알 속에 저장될 수 있다. 이러한 제형은 즉시 사용 가능한 형태, 사용 전에 재구성을 필요로 하는 동결건조된 형태, 사용 전에 희석을 필요로 하는 액체 형태 또는 다른 허용 가능한 형태로 보관될 수 있다. 일부 구현예에서, 약제학적 조성물은 단일-사용 용기 (예를 들면, 단일-사용 바이알, 앰플, 주사기, 또는 자동 주사기 (예를 들면, EpiPen®에 유사한 것))로 제공되고, 반면에 다중-사용 용기 (예를 들면, 다중-사용 바이알)가 다른 구현예에서 제공된다. 이식물 (예를 들면, 이식가능 펌프) 및 카테터 시스템을 포함하는 임의의 약물 전달 장치가 복합체를 전달하기 위해 사용될 수 있고, 이 둘 모두는 숙련자에게 잘 알려져 있다. 일반적으로 피하로 또는 근육 내로 투여되는 데포 주사는 정의된 기간에 걸쳐 명세서에서 개시된 복합체를 방출시키기 위해 이용될 수 있다. 데포 주사는 보통 고체- 또는 오일-기재이며, 그리고 일반적으로 본 명세서에 제시된 제형 성분 중 적어도 하나를 포함한다. 당해 분야의 숙련가는 데포 주입의 가능한 제형 및 용도에 대해 익숙하다.

[0324] 상기 약제학적 조성물은 멸균 주사용 수성 또는 오일성 현탁제 형태일 수 있다. 이 현탁제는 위에 지칭된 적절한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 공지 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사가 가능한 제제는 또한 무-독성의 비경구적으로-허용가능한 희석제 또는 용매 속의 멸균 주사가 가능한 액제 또는 현탁제, 예를 들어, 1,3-부탄디올 중의 액제일 수 있다. 이용될 수 있는 허용가능한 희석제, 용매 및 분산매는 물, 링거액, 등장의 염화나트륨 용액, 크레모포어 EL™ (BASF, 뉴저지 주 파시파니) 또는 포스페이트 완충된 염수 (PBS), 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜 (예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 및 적합한 이들의 혼합물을 포함한다. 추가로, 멸균 비휘발성 오일(fixed oil)은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 이 목적을 위하여, 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함하는, 임의의 자극없는 고정된 오일이 이용될 수 있다. 더욱이, 올레산과 같은 지방산은 주사용 제제에서 용도를 발견한다. 특정한 주사가 가능한 제형의 장기적인 흡수는 흡수를 지연하는 제제(예를 들면, 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴)을 포함하여 의해 달성될 수 있다.

[0325] 활성 성분 (예를 들면, 본 개시내용의 복합체)을 함유하는 약제학적 조성물은 경구용으로 적합한 형태, 예를 들면, 정제, 캡슐, 트로키, 로젠지, 수성 또는 유성 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 또는 연질 캡슐, 또는 시럽, 용액, 마이크로비드 또는 엘릭시르로 될 수 있다. 경구용을 위해 의도된 약제학적 조성물은 약제학적 조성물의 제조에 대한 기술에서 공지된 임의의 방법에 따라 제조될 수 있고, 이러한 조성물은 약제학적으로 품격있고 맛있는 조합약을 제공하기 위해 하나 이상의 제제 예컨대, 예를 들면, 감미제, 풍미제, 착색제 및 보존제를 함유할 수 있다. 정제, 캡슐 등은 정제 제조를 위해 적합한 비독성 약제학적으로 허용되는 부형제와 혼합된 활성 성분을 함유한다. 이들 부형제는, 예를 들어, 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘 또는 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 봉해제, 가령 옥수수 전분, 또는 알긴산; 결합제, 가령 녹말, 젤라틴 또는 아카시아; 및 윤활제, 가령 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다.

[0326] 경구 투여에 적합한 정제, 캡슐 등은 위장관에서 봉해 및 흡수를 지연하고 그렇게 함으로써 지속 작용을 제공하기 위한 공지된 기술에 의해 코팅되거나 또는 코팅되지 않을 수 있다. 예를 들면, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 시간 지연 물질이 사용될 수 있다. 이들은 또한 조절 방출을 위한 삼투요법 정제를 형성하기 위해 당해 기술에서 공지된 기술에 의해 코팅될 수 있다. 추가 제제는 투여된 조성물의 전달을 조절하기 위해 생분해성 또는 생체적합성 입자 또는 폴리머성 기질 예컨대 폴리에스테르, 폴리아민 산, 하이드로겔, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리무수물, 폴리글리콜 산, 에틸렌-비닐아세테이트, 메틸셀룰로오스, 카복시 메틸셀룰로오스, 프로타민 설페이트, 또는 락타이드/글라이콜라이드 코폴리머, 폴리락타이드/글라이콜라이드 코폴리머, 또는 에틸렌비닐아세테이트 코폴리머를 포함한다. 예를 들면, 경구 제제는 각각 하이드록시메틸셀룰로오스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 또는 폴리 (메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐의 사용에 의해 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐 안에, 또는 콜로이드 약물 전달 시스템 안에 포획될 수 있다. 콜로이드성 분산 시스템은 거대분자 복합체, 나노-캡슐, 마이크로구형체, 마이크로비드, 및 수중유 에멀전, 교질입자, 혼합된 교질입자, 및 리포솜을 포함하는 지질-기반 시스템을 포함한다. 리포솜의 예는, 예를 들어, 미국 특허 번호 4,235,871, 4,501,728, 및 4,837,028.에 기재된다. 상기 지칭된 제형의 제조 방법은 당해 분야의 기술자에게 익숙할 것이다.

[0327] 경구용 제형은 또한 경질 젤라틴 캡슐로서 제공될 수 있고, 여기서, 활성 성분은 불활성 고체 희석제, 예를 들어, 탄산칼슘, 인산칼슘, 카올린, 미세결정성 셀룰로오스, 또는 연질 젤라틴 캡슐과 혼합되고, 여기서, 상기 활성 성분은 물 또는 오일 매질, 예를 들어, 땅콩유, 액체 파라핀 또는 올리브유와 혼합된다.



- [0328] 수성 현탁제는 이의 제조를 위해 적합한 부형제와 혼합된 활성 물질을 함유한다. 이러한 부형제는 현탁제, 예를 들어 카복시메틸셀룰로오스나트륨, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트래거캔스검 및 아카시아검이며; 분산제 또는 습윤제는 천연 유래 포스파타이드, 예를 들어 레시틴, 또는 산화알킬렌의 지방산과의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 산화에틸렌의 장쇄 지방족 알코올과의 축합생성물, 예를 들어, 헵타데카에틸렌옥시세탄올, 또는 산화에틸렌의 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분적 에스테르와의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 솔비톨 모노올레이트, 또는 산화에틸렌의 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분적 에스테르와의 축합 생성물, 예를 들어, 폴리에틸렌 솔비탄 모노올레이트일 수 있다. 수성 현탁제는 또한 하나 이상의 보존제를 함유할 수 있다.
- [0329] 오일 현탁제는 활성 성분을 식물성 오일, 예를 들어, 땅콩유, 올리브유, 참깨유 또는 코코넛유 또는 미네랄 오일, 예를 들어, 액체 파라핀 중에 현탁시킴에 의해 제형화될 수 있다. 오일성 현탁제는 증점제, 예를 들어, 밀납, 경질 파라핀 또는 세틸 알콜을 함유할 수 있다. 상기된 것들과 같은 감미제, 및 향제는 맛있는 경구 제제를 제공하기 위해 첨가될 수 있다.
- [0330] 물의 첨가에 의한 현탁액의 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립은 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 하나 이상의 보존제와 혼합하여 활성 화합물을 제공한다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제가 본원에 예시된다.
- [0331] 본 개시내용의 약제학적 조성물은 또한 수중유 에멀전 형태일 수 있다. 유성 상은 식물성 오일, 예를 들어, 올리브유 또는 땅콩유, 또는 미네랄 오일, 예를 들어, 액체 파라핀 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 유화제는 천연 검, 예를 들어, 검 아카시아 또는 검 트라가칸트, 천연의 포스파티드, 예를 들어, 대두, 렉시틴 및 에스테르 또는 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분적 에스테르, 무수물, 예를 들어, 소르비탄 모노올레에이트, 및 에틸렌 옥사이드와 상기 부분적 에스테르의 응축 생성물, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있다.
- [0332] 제형은 또한, 체내 유래의 빠른 분해 또는 제거에 대해 화합물을 보호할 담체, 예컨대 제어방출형 제형 (임플란트, 리포솜, 하이드로겔, 전구약물 및 미세캡슐화된 전달 시스템을 포함)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 시간 지연 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트 단독, 또는 왁스와 조합된 물질이 사용될 수 있다.
- [0333] 본 개시내용은 약물의 직장 투여를 위한 좌제 형태로의 복합체의 투여를 고려한다. 이들 좌제는 통상의 온도에서는 고체이지만 직장 온도에서는 액체여서 직장에서 용융되어 약물을 방출시키는 적합한 비-자극 부형제와 약물을 혼합함에 의해 제조될 수 있다. 그와 같은 물질은, 비제한적으로, 코코아 버터, 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.
- [0334] 본 개시내용에 의하여 고려된 복합체는 하기의 형태일 수 있다: 현재 공지되거나 향후 개발될, 임의의 기타 적합한 약제학적 조성물 (예컨대 비강용 또는 흡입용 스프레이).
- [0335] 제형 중 폴리펩티드 복합체의 농도는 광범위하게 다양할 수 있고(예를 들어, 약 0.1중량% 미만, 일반적으로 2중량% 또는 적어도 약 2중량%에서, 많게는 20중량% 내지 50중량%) 일반적으로 주로 유체 용적, 점도 및 대상체-기반 인자 (예컨대 선택된 투여의 특정 방식에 따름)를 기반으로 선택될 것이다.
- [0336] 본 명세서에서 나노 정확성 의료의 데포 전달 기술 (Nano Precision Medical; 캘리포니아 주 에머리빌)이 고려된다. 본 기술은 거대분자, 예컨대 단백질 및 펩티드 치료제의 영차 방출 속도를 생성하는 티타니아 나노튜브막을 이용한다. 생체적합성 막은 치료적 거대 분자의 장기간 (예를 들면, 최대 1년) 일정한-속도 전달을 제공하는 작은, 피하 임플란트 안에 수용된다. 본 기술은 현재 II형 당뇨병의 치료를 위한 GLP-1 효능제의 전달에 대해 평가되고 있다. 특정 구현예에서, 본 명세서에서 기재된 복합체(들)은 막을 갖는 제형일 수 있다. 예를 들면, 복합체는 막 안으로 함침될 수 있거나 또는 막으로 둘러싸일 수 있다. 본 막은 디스크, 튜브 또는 구형체의 형상일 수 있다. 특정 구현예에서, 튜브는 나노튜브일 수 있거나 또는 구형체는 나노구형체일 수 있다.
- [0337] **투여 경로**
- [0338] 본 개시내용은 임의의 적절한 방식으로 개시된 복합체, 및 이들의 조성물의 투여를 고려한다. 적합한 투여 경로는 비경구 (예를 들면, 근육내, 정맥내, 피하 (예를 들면, 주사 또는 임플란트), 복강내, 낭내, 관절내, 복강내, 뇌내 (실질세포내) 및 뇌심실내), 경구, 비강, 질, 설하, 안구내, 직장, 국소 (예를 들면, 경피), 설하 및 흡입을 포함한다.
- [0339] 일반적으로 피하로 또는 근육 내로 투여되는 데포 주사는 정의된 기간에 걸쳐 명세서에서 개시된 복합체를 방출

시키기 위해 이용될 수 있다. 데포 주사는 보통 고체- 또는 오일-기재이며, 그리고 일반적으로 본 명세서에 제시된 제형 성분 중 적어도 하나를 포함한다. 당해 분야의 숙련가는 데포 주입의 가능한 제형 및 용도에 대해 익숙하다.

[0340] 항체에 관해, 예시적인 구현예에서 본 개시내용의 항체 또는 항체 단편은 4℃에서 주사를 위해 멸균된 등장의 수성 염수 용액에 10mg/ml로 보관되고 그리고 대상체에게 투여 전에 주사용 100ml 또는 200ml 0.9% 염화나트륨에 희석된다. 항체는 0.2 내지 10 mg/kg 사이의 용량으로 1시간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여된다. 다른 구현예에서, 항체는 15분 내지 2시간의 기간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여된다. 또 다른 구현예에서, 투여 절차는 피하 볼러스 주사를 통한 것이다.

[0341] 본 개시내용은 본 개시내용의 복합체가 대상체에 적어도 매일 2회, 적어도 매일 1회, 적어도 매 48시간 1회, 적어도 매 72시간 1회, 적어도 매주 1회, 적어도 매 2주 1회, 또는 매달 1회 투여되는 방법을 고려한다.

#### [0342] 병용 요법

[0343] 본 개시내용은 하나 이상의 활성 치료제 또는 다른 예방적 또는 치료적 양식과 조합하여 본 명세서에서 제공된 복합체의 사용을 고려한다. 이러한 병용 요법에서, 다양한 활성인자는 빈번하게 상이한 작용 기전을 갖는다. 이러한 병용 요법은 하나 이상의 제제의 용량 감소를 허용함으로써 하나 이상의 제제와 관련된 부작용을 감소시키거나 제거함으로써 특히 유리할 수 있으며; 더욱이, 이러한 병용 요법은 기저 질환, 장애 또는 병태에 대해 상승작용 치료 또는 예방 효과를 가질 수 있다.

[0344] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "조합"은 별도로 투여될 수 있는, 예를 들면, (예를 들면, 키트로 제공될 수 있는 것과 같이) 개별의 투여를 위해 별도로 제형화될 수 있는 요법 및 단일 제형으로 함께 투여될 수 있는 (즉, "공동-제형") 요법을 포함하는 것으로 의미된다.

[0345] 특정 구현예에서, 복합체는 순차적으로 투여되거나 또는 적용되는데, 예를 들면, 여기서 하나의 제제는 하나 이상의 다른 제제 전에 투여된다. 다른 구현예에서, 복합체는 동시에 투여되는데, 예를 들면, 여기서 2종 이상의 제제는 동일한 또는 약 동일한 시점에 투여되고; 2종 이상의 제제는 2종 이상의 별도의 제형 또는 단일 제형으로 조합(즉, 공동-제형)으로 존재할 수 있다. 2종 이상의 제제가 순차적으로 또는 동시에 투여되는지 여부에 무관하게, 이들은 본 개시내용의 목적을 위해 조합하여 투여되는 것으로 간주된다.

[0346] 본 개시내용의 복합체는, 비만, 섭식 장애, 고혈당증, 고인슐린혈증, 포도당 과민증, 및 다른 글루코스 대사 장애로부터 고통받고 있는 대상체에 정상적으로 투여된 것을 포함하여, 본 명세서에서 제시된 질환, 장애 또는 병태의 치료, 예방, 억제 또는 완화에 유용한 다른 제제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0347] 본 개시내용은 다음의 것을 포함하는 수많은 제제 (및 이들의 부류)와 병용 요법을 고려한다; 1) 인슐린, 인슐린 모방체 및 설폰닐우레아 (예를 들면, 클로르프로파마이드, 톨라자마이드, 아세토헥사마이드, 톨부타마이드, 글리부라이드, 글리메피라이드, 글리피자이드) 및 메글리티나이드 (예를 들면, 레파글리나이드 (프란딘) 및 나테글리나이드 (스타릭스(STARLIX)))를 포함하는, 인슐린 분비의 자극을 수반하는 제제; 2) 바이구아나이드 (예를 들면, 메트포르민 (글루코파지(GLUCOPHAGE))) 및 그것의 약제학적으로 허용가능한 염, 특히, 메트포르민 하이드로클로라이드, 및 그것의 연장-방출 제형, 예컨대 Glumetza™, Fortamet™, 및 GlucophageXR™) 및 글루코스 이용을 증진하고, 간 글루코스 생산을 감소하고 및/또는 장 글루코스 산출을 줄임으로 작용하는 다른 제제; 3) 알파-글루코시다제 저해제 (예를 들면, 아카르보스, 보글리보스 및 미글리톨) 및 탄수화물 소화를 늦추고 그리고 결과적으로 소화관으로부터 흡수를 늦추고 그리고 식후의 고혈당증을 감소하는 다른 제제; 4) 티아졸리딘디온 (예를 들면, 인슐린, 및 인슐린 모방체 (예를 들면, 인슐린 데글루텍, 인슐린 글라르긴, 인슐린 리스프로, 인슐린 데테미르, 인슐린 글루리신 및 각각의 흡입성 제형)를 포함하는 인슐린 작용 (예를 들면, 인슐린 민감화에 의함)을 고양하고, 따라서 주변 조직에서 글루코스 이용을 증진하는 로시글리타존 (AVANDIA), 트로글리타존 (REZULIN), 피오글리타존 (ACTOS), 글리피자이드, 발라글리타존, 리보글리타존, 네토글리타존, AMG 131, MBX2044, 미토글리타존, 로베글리타존, IDR-105, 트로글리타존, 엔글리타존, 시글리타존, 아다글리타존, 다르글리타존; 5) DPP-IV 저해제를 포함하는 글루카곤-유사-펩티드 (예를 들면, 알로글립틴, 오마리글립틴, 리나글립틴, 빌다글립틴 (GALVUS) 및 시타글립틴 (JANUVIA)) 및 글루카곤-유사 펩티드-1 (GLP-1) 및 GLP-1 효능제 및 유사체 (예를 들면, 엑세나타이드 (BYETTA 및 ITCA 650 (12-개월 기간에 걸쳐 엑세나타이드 유사체를 전달하는 피하로 삽입된 삼투 펌프; Intarcia, 매사추세츠주 보스턴)) 및 GLP-1 수용체 효능제 (예를 들면, 둘라글루타이드, 세마글루타이드, 알비글루타이드, 엑세나타이드, 리라글루타이드, 렉시세나타이드, 타스포글루타이드, CJC-1131, 및 BIM-51077로, 비강내, 경피, 및 그것의 제형의 매주-1회를 포함함); 및 6) DPP-IV-내성있는

유사체 (인크레틴 모방체), PPAR 감마 효능제, PPAR 알파 효능제 예컨대 페노피브르산 유도체 (예를 들면, 켄피브로질, 클로파이브레이트, 시프로피브레이트, 페노파이브레이트, 베자피브레이트), 이중-작용성 PPAR 효능제 (예를 들면, ZYH2, ZYH1, GFT505, 치글리타자르, 무라글리타자르, 알레글리타자르, 소텔글리타자르, 및 나베글리타자르), 범-작용성 PPAR 효능제, PTP1B 저해제 (예를 들면, ISIS-113715 및 TTP814), SGLT 저해제 (예를 들면, ASP1941, SGLT-3, 엠과글리플로진, 다과글리플로진, 카나글리플로진, BI-10773, PF-04971729, 레모글로플로진, TS-071, 토포글리플로진, 이프라글리플로진, 및 LX-4211), 인슐린 분비촉진제, 안지오텐신 전환효소 저해제 (예를 들면, 알라세프릴, 벤나아제프릴, 카프토프릴, 세로나프릴, 실라자프릴, 텔라프릴, 에날라프릴, 에날라프릴라트, 포시노프릴, 이미다프릴, 리시노프릴, 모벨티프릴, 페린도프릴, 퀴나프릴, 라미프릴, 스피라프릴, 데모카프릴, 또는 트란돌라프릴), 안지오텐신 II 수용체 길항제 (예를 들면, 로사르탄 즉, COZAAR®, 발사르탄, 칸데사르탄, 올메사르탄, 텔메사르탄 및 하이드로클로로티아자이드 예컨대 HYZAAR®와 조합하여 사용된 임의의 이들 약물) 또는 다른 항-고혈압 약물 예컨대 LCZ 696, RXR 효능제, 글리코겐 합성효소 키나아제-3 저해제, 면역 조절인자, 교감신경차단제, 베타-아드레날린 차단 약물 (예를 들면, 프로프라놀롤, 아테놀롤, 바이소프롤롤, 카르베딜롤, 메토프롤롤, 또는 메토프롤롤 타르테이트), 알파 아드레날린 차단 약물 (예를 들면, 독사조신, 프라조신 또는 알파 메틸도파) 중심 알파 아드레날린 효능제, 주변 혈관확장제 (예를 들면 하이드랄라진); 베타-3 아드레날린 수용체 효능제, 11베타-HSD1 저해제, 중성 엔도펩티다아제 저해제 (예를 들면, 티오르판 및 포스포르아미돈), 알도스테론 길항제, 알도스테론 합성효소 저해제, 레닌 저해제 (예를 들면 디- 및 트리-펩티드의 우레아 유도체 (미국 특허 번호 5,116,835 참고), 아미노산 및 유도체 (미국 특허 5,095,119 및 5,104,869), 비-펩티드 결합에 의해 연결된 아미노산 사슬 (미국 특허 5,114,937), 디- 및 트리-펩티드 유도체 (미국 특허 5,106,835), 펩티딜 아미노 디올 (미국 특허 5,063,208 및 4,845,079) 및 펩티딜 베타-아미노아실 아미노디올 카바메이트 (미국 특허 5,089,471); 또한, 하기 미국 특허 5,071,837; 5,064,965; 5,063,207; 5,036,054; 5,036,053; 5,034,512 및 4,894,437에 개시된 바와 같은 다양한 다른 펩티드 유사체, 및 소분자 레닌 저해제 (디올 설펜아미드 및 설펜일 (미국 특허 5,098,924), N-모폴리노 유도체 (미국 특허 5,055,466), N-헤테로사이클릭 알코올 (미국 특허 4,885,292) 및 피롤이미다졸론 (미국 특허 5,075,451)을 포함함; 또한, 펩스타틴 유도체 (미국 특허 4,980,283) 및 스타톤-함유 펩티드의 플루오로- 및 클로로-유도체 (미국 특허 5,066,643), 에날크레인, RO 42-5892, A 65317, CP 80794, ES 1005, ES 8891, SQ 34017, 알리스키렌 (2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-카바모일-2-메틸프로필)-5-아미노-4-하이드록시-2,7-디이소프로필-8-[4-메톡시-3-(3-메톡시프로폭시)-페닐]-옥탄아미드 헤미파마레이트) SPP600, SPP630 및 SPP635), 엔도텔린 수용체 길항제, 포스포디에스테라제-5 저해제 (예를 들면 실데나필, 타달필 및 바르데나필), 혈관확장제, 칼슘 채널 차단제 (예를 들면, 암로디핀, 니페디핀, 베라파르밀, 딜티아젠펜, 갈로파밀, 닐루디핀, 니모디핀, 니카르디핀), 칼륨 채널 활성인자 (예를 들면, 니코란딜, 피나시딜, 크로마카림, 미녹시딜, 아프릴카림, 로프라졸람), 지질 저해제 예를 들면, HMG-CoA 환원효소 저해제 예컨대 심바스타틴 및 로바스타틴으로, 락톤 프로-드러그 형태로 ZOCOR® 및 MEVACOR®로 시판되고 투여 후 저해제로서 기능하는 것, 및 디하이드록시 개방 고리 산 HMG-CoA 환원효소 저해제의 약제학적으로 허용가능한 염 예컨대 아토바스타틴 (특히 LIPITOR®로 시판되는 칼슘 염), 로수바스타틴 (특히 CRESTOR®로 시판되는 칼슘 염), 프라바스타틴 (특히 PRAVACHOL®로 시판되는 나트륨 염), 세리바스타틴, 및 플루바스타틴 (특히 LESCOL®로 시판되는 나트륨 염); 임의의 다른 지질 저해제 예컨대 상기에 지칭된 HMG-CoA 환원효소 저해제 및 특히 심바스타틴 (VYTORIN®) 또는 아토바스타틴 칼슘과 조합한 콜레스테롤 흡수 저해제 예컨대 에제티마이브 (ZETIA®) 및 에제티마이브; HDL-상승 약물, (예를 들면, 니아신 및 니코틴산 수용체 효능제, 및 이들의 확장된 - 또는 조절-방출 버전, 및/또는 HMG-CoA 환원효소 저해제와 같이; 니아신 수용체 효능제 예컨대 아시피목스 및 아시프란, 뿐만 아니라 니아신 수용체 부분 효능제; 글루카곤 수용체 길항제 (예를 들면, MK-3577, MK-0893, LY-2409021 및 KT6-971); 담즙산 격리제 (예를 들면, 콜레스틸란, 콜레스티마이드, 톨레스에발람 하이드로클로라이드, 콜레스티폴, 콜레스티라민, 및 가교결합된 텍스트란의 디알킬아미노알킬 유도체), 아실 CoA: 콜레스테롤 아실전달효소 저해제, (예를 들면, 아바시마이브); 염증성 병태에 사용하도록 의도된 제제, 예컨대 아스피린, 비-스테로이드 항-염증성 약물 또는 NSAIDs, 글루코코르티코이드, 및 선택적 사이클로옥시게나아제-2 또는 COX-2 저해제; 글루코키나아제 활성인자 (GKAs) (예를 들면, AZD6370); 11 $\beta$ -하이드록시스테로이드 탈수소 효소 1형의 저해제, (예를 들면, 예컨대 미국 특허 번호 6,730,690에 개시된 것, 및 LY-2523199); CETP 저해제 (예를 들면, 아나세트라픽, 에바세트라픽, 및 토르세트라픽); 푸록토오스 1,6-비스포스파타제의 저해제, (예를 들면, 예컨대 미국 특허 번호 6,054,587; 6,110,903; 6,284,748; 6,399,782; 및 6,489,476에 개시된 것); 아세틸 CoA 카복실라제-1 또는 2의 저해제 (ACC1 또는 ACC2); PCSK9 저해제; GPR-40 부분 효능제; SCD 조절인자; 지방산 합성효소의 저해제; 아밀린 및 아밀린 유사체 (예를 들면, 프람린타이드); 화학적으로 가능한 경우 상기 활성인자의 약제학적으로 허용가능한 염 형태를 포함함.

- [0348] 더욱이, 본 개시내용은 체중 감소를 증진하기 위한 제제 및 방법, 예컨대 대사를 촉진하거나 또는 식욕을 감소하는 제제 및 체중 감소를 증진하기 위한 변형된 섭식 및/또는 운동 요법과의 병용 요법을 고려한다.
- [0349] 본 개시내용의 복합체는 상황에 따라 적절한 임의의 방식으로 하나 이상의 다른 제제와 조합하여 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자 및 본 개시내용의 적어도 하나의 복합체로의 치료는 일정 기간에 걸쳐 유지된다. 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자로의 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (예를 들면, 상기 대상체가 안정한 때), 반면 본 개시내용의 복합체로의 치료는 일정한 투여 레지멘으로 유지된다. 추가 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자로의 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (예를 들면, 상기 대상체가 안정한 때), 반면 본 개시내용의 복합체(들)로의 치료는 감소된다 (예를 들면, 보다 낮은 용량, 덜 빈번한 투여 또는 보다 짧은 치료 레지멘). 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자로의 치료는 감소되거나 또는 중단되고 (예를 들면, 상기 대상체가 안정한 때), 반면 본 개시내용의 복합체로의 치료는 증가된다 (예를 들면, 보다 높은 용량, 보다 빈번한 투여 또는 더 긴 치료 레지멘). 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자로의 치료는 유지되고 그리고 본 개시내용의 복합체로의 치료는 감소되거나 또는 중단된다 (예를 들면, 보다 낮은 용량, 덜 빈번한 투여 또는 보다 짧은 치료 레지멘). 또 다른 구현예에서, 적어도 하나의 활성인자로의 치료 및 본 개시내용의 복합체로의 치료는 감소되거나 또는 중단된다 (예를 들면, 보다 낮은 용량, 덜 빈번한 투여 또는 보다 짧은 치료 레지멘).
- [0350] **투여**
- [0351] 본 개시내용의 복합체는, 예를 들면, 투여의 목표 (예를 들면, 목적 소산도); 치료되어 지는 대상체의 연령, 체중, 성별, 및 건강 및 신체 조건; 투여되어 지는 폴리펩티드, 및/또는 제형의 특성; 투여 경로; 및 질환, 장애, 상태 또는 이들 증상의 특성 (예를 들면, 글루코스/인슐린의 조절장애의 중증도 및 장애의 단계)에 의존적인 양으로 대상체에 투여될 수 있다. 투여 레지멘은 또한 투여되는 제제(들)과 관련된 임의의 부작용의 존재, 특성 및 정도를 고려한다. 유효한 복용량 및 복용량 요법은 예를 들면, 안전성 및 용량-단계적 확대 시험, 생체내 연구 (예를 들면, 동물 모델), 및 숙련자에게 공지된 다른 방법으로부터 용이하게 결정될 수 있다.
- [0352] 일반적으로, 투여 파라미터는 복용량이 대상체에게 비가역적으로 독성일 수 있는 양(즉, 최대 내성 용량, "MTD")보다 작고 그리고 대상체에 대해 측정가능한 효과를 생성하는데 필요한 양보다 적지 않게 되도록 규정한다. 이러한 양은 예를 들면, 투여 경로 및 다른 인자를 고려하여, 흡수, 분포, 대사 및 배출 ("ADME")과 관련된 약력학적 및 약동학적 파라미터에 의해 결정된다.
- [0353] 유효한 용량 (ED)은 이것을 섭취한 대상체의 일부 분획에서 치료적 반응 또는 목적 효과를 생성하는 제제의 용량 또는 양이다. 제제의 "중량 유효한 용량" 또는 ED50은 이것이 투여된 집단의 50%에서 치료적 반응 또는 목적 효과를 생성하는 제제의 용량 또는 양이다. 비록 ED50은 통상적으로 제제의 효과의 합리적인 기대치의 척도로 사용되지만, 임상이가 모든 관련 인자를 고려하여 적절하다고 여길 수 있는 용량일 필요는 없다. 따라서, 일부 상황에서는 유효한 양은 계산된 ED50보다 많고, 다른 상황에서는 유효한 양이 계산된 ED50보다 적으며, 그리고 또 다른 상황에서는 유효한 양이 계산된 ED50과 동일하다.
- [0354] 또한, 본 개시내용의 복합체(들)의 유효한 용량은 대상체에 하나 이상의 용량으로 투여될 때, 건강한 대상체에 대해 목적 결과를 생성하는 양일 수 있다. 예를 들면, 유효한 용량은, 상승된 혈장 글루코스 및/또는 혈장 인슐린을 갖는 대상체에게 투여될 때, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 또는 80%보다 그 이상으로 건강한 대상체의 것에 대해 목적 감소를 달성하는 것일 수 있다.
- [0355] 적절한 복용량 수준은 일반적으로 1일당 약 0.001 내지 100 mg/환자 체중 kg일 것이고, 단일 또는 다중 용량으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 복용량 수준은 1일당 약 0.01 내지 약 25mg/kg, 및 다른 구현예에서 1일당 약 0.05 내지 약 10mg/kg일 것이다. 적합한 복용량 수준은 1일 당 약 0.01 내지 25 mg/kg, 1일당 약 0.05 내지 10 mg/kg, 또는 1일당 약 0.1 내지 5 mg/kg일 수 있다. 본 범위 내에서, 복용량은 1일당 0.005 내지 0.05, 0.05 내지 0.5 또는 0.5 내지 5.0 mg/kg일 수 있다.
- [0356] 경구 제제의 투여를 위해, 조성물은 1.0 내지 1000 밀리그램의 활성 성분, 특히 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 50.0, 75.0, 100.0, 150.0, 200.0, 250.0, 300.0, 400.0, 500.0, 600.0, 750.0, 800.0, 900.0, 및 1000.0 밀리그램의 활성 성분을 함유하는 정제, 캡슐 등의 형태로 제공될 수 있다. 복합체는, 예를 들면, 1일당 1 내지 4회, 그리고 때로는 1일당 한 번 또는 두 번의 레지멘으로 투여될 수 있다.
- [0357] 본 개시내용의 복합체(들)의 복용량은, 복합체의 약동학 (예를 들면 반감기) 및 약동학적 반응 (예를 들면 복합



체의 치료 효과의 지속시간)에 의존하여, 1일당 한번에서 매월 한번의 범위로 될 수 있는 적절한 빈도로 반복될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여는 주당 1회, 매2주마다 1회, 매월 1회 사이에서 빈번하게 반복된다. 다른 구현예에서, 복합체는 대략적으로 개월당 한번 투여될 수 있다.

[0358] 특정 구현예에서, 개시된 복합체의 복용량은 "단위 복용 형태"에 함유된다. 어구 "단위 복용 형태"는 물리적으로 별개의 단위들을 지칭하고, 각 단위는 단독으로 또는 하나 이상의 추가 제제와 병용하여 목적 효과를 생성하기에 충분한, 본 개시내용의 복합체의 소정된 양을 함유한다. 단위 복용 형태의 변수는 특정한 제제 및 달성되어 지는 효과에 의존할 것으로 인정되어 질 것이다.

[0359] **키트**

[0360] 본 개시내용은 또한 개시된 복합체(들), 및 이들의 약제학적 조성물을 포함하는 키트를 고려한다. 본 키트는 일반적으로 아래에서 기재된 바와 같은 다양한 성분을 수용하고 그리고, 예를 들면, 상기 기재된 방법(예를 들면, 체중 감소를 요하는 대상체에 복합체의 투여)을 실행하는데 이용될 수 있는 물리적 구조의 형태로 된다.

[0361] 키트는 대상체에 투여에 적합한 약제학적 조성물의 형태로 될 수 있는, (예를 들면, 멸균된 용기에 제공된) 본 명세서에서 기재된 복합체(들) 중 1종 이상을 포함할 수 있다. 복합체(들)은 즉시 사용가능한 형태 또는, 예를 들면, 투여 전에 재구성 또는 회석을 요하는 형태로 제공될 수 있다. 복합체(들)이 사용자에게 의해 재구성될 필요가 있는 형태일 때, 본 키트는 또한 복합체(들)과 같이 또는 별도로 포장된 버퍼, 약제학적으로 허용가능한 부형제, 등을 포함할 수 있다. 병용 요법이 고려될 때, 본 키트는 몇 개의 제제를 별도로 함유할 수 있거나 또는 이들은 키트에 미리 조합될 수 있다. 본 키트의 각 성분은 개별적인 용기 내에 봉입될 수 있고 그리고 모든 다양한 용기가 단일 패키지 내로 될 수 있다. 본 개시내용의 키트는 그 안에 수용된 구성 요소를 적절하게 유지하는 데 필요한 상태를 위해 설계될 수 있다(예를 들어, 냉동 또는 동결).

[0362] 키트는 그 안의 성분들에 대한 식별 정보 및 이들의 사용에 대한 설명서 (예를 들면, 작용 기전, 약동학 및 약력학, 부작용, 사용금지 사유, 등을 포함하는, 활성 성분(들)의 투여 파라미터, 임상 약리학)을 포함하는 표지 또는 패키징 삽입물을 함유할 수 있다. 표지 또는 삽입물은 제조자 정보 예컨대 로트 번호 및 만료일을 포함할 수 있다. 표지 또는 포장 삽입물은 예를 들면, 성분을 수용하는 물리적 구조에 통합될 수 있거나, 물리적 구조 내에 별도로 함유될 수 있거나, 또는 키트의 성분(예를 들어, 앰플, 튜브 또는 바이알)에 부착될 수 있다. 예시적인 설명서는 개시된 조절인자, 및 이들의 약제학적 조성물로 혈당을 감소하거나 또는 낮추기 위한 것, 고혈당 증의 치료, 당뇨병의 치료 등을 포함한다

[0363] 표지 또는 삽입물은 추가로 컴퓨터 판독가능 매체, 예컨대 디스크 (예를 들면, 하드 디스크, 카드, 메모리 디스크), 광학 디스크 예컨대 CD- 또는 DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, 자기 테이프, 또는 전기적 저장 매체 예컨대 RAM 및 ROM 또는 이들의 혼성물 예컨대 자기/광학 저장 매체, 플래시 매체 또는 메모리-타입 카드를 포함할 수 있거나, 또는 그 안에 편입될 수 있다. 일부 구현예에서, 실제 설명서는 키트에 존재하지 않지만, 원격 소스로부터 지침서를 획득하는 수단(예를 들어, 인터넷을 통해)이 제공된다.

[0364] **실험**

[0365] 하기의 실시예는 본원 발명을 제조하고 사용하는 법의 완전한 개시 및 기재 내용을 당업자에게 제공하기 위해 제시되고 이는 발명자가 이들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니고 이들은 하기 실험이 모두 또는 일부 수행된 실험인 것을 나타내도록 의도되지 않는다. 사용되는 수 (예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확도를 확신하기 위해 노력해 왔지만 일부 실험오차 및 편차가 고려되어야 한다.

[0366] 달리 나타내지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이고 압력은 대기압 또는 이의 근접 압력이다. 하기를 포함하는 표준 약어가 사용된다: bp = 염기쌍(들); kb = 킬로베이스(들); pl = 피코리터(들); s 또는 sec = 초(들); min = 분(들); h 또는 hr = 시간(들); aa = 아미노산(들); kb = 킬로베이스(들); nt = 뉴클레오타이드(들); ng = 나노그램;  $\mu$ g = 마이크로그램; mg = 밀리그램; g = 그램; kg = 킬로그램; dl 또는 dL = 데시리터;  $\mu$ l 또는  $\mu$ L = 마이크로리터; ml 또는 mL = 밀리리터; l 또는 L = 리터;  $\mu$ M = 마이크로몰; mM = 밀리몰; M = 몰; kDa = 킬로달톤; i.m. = 근육내(로); i.p. = 복강내(로); s.c. = 피하(로); bid = 1일 2회; HPLC = 고성능 액체 크로마토그래피; BW = 체중; U = 유닛; ns= 통계적으로 유의미하지 않음; PG = 공복 혈장 글루코스; FPI = 공복 혈장 인슐린; ITT = 인슐린 내성 시험; PTT = 피루베이트 내성 시험; oGTT = 경구 글루코스 내성 시험; GSIS = 글루코스-자극된 인슐린 분비; PBS = 포스페이트-완충된 염수; PCR = 폴리머라제 연쇄 반응; NHS = N-하이드록시석신이미드; DMEM = 이글 배지의 돌베코의 변형; GC = 게놈 카피; EDTA = 에틸렌디아민테트라아세트산.



- [0367] **물질 및 방법**
- [0368] 하기 방법 및 물질이 아래 실시예에서 사용되었다:
- [0369] **동물** 섭식-유도된 비만인 (DIO) 수컷 C57BL/6J 마우스 (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME)를 60 kcal% 지방, 20 kcal% 단백질 및 20 kcal% 탄수화물을 함유하는 고-지방 섭식 (D12492, Research Diets, Inc, New Brunswick, NJ)로 12-20주 동안 유지했다. 모든 동물 연구는 NGM 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다. DIO C57BL/6J 마우스는 비만의 인간-유사 모델을 제공하고, 여기서 비만은 칼로리의 과도한 섭취에 기초한다. C57BL/6J 마우스는 고인슐린혈증 및 때때로 고혈당증뿐만 아니라 확연한 체중 증가가 관측된 비만-경향이 있다. 균주는 섭식-유도된 비만을 모델링하기 위해 가장-통상적으로 사용된 마우스 균주이다. (Nilsson C., et al., Acta Pharmacologica Sinica (2012) 33: 173-181).
- [0370] **핵산 및 아미노산 서열.** 유전자는 핵 수탁 번호 BC000529.2는 인간 GDF15 변이체를 암호화하는 ORF의 cDNA를 제시하고, 그리고 유전자는 핵 수탁 번호 NP\_004855.2는 cDNA에 의해 암호화된 아미노산 서열을 제시한다. Fc-융합 파트너를 위한 cDNA는 인비트로젠에서 구매되었고 (pFUSE-CHIg-hG1, 유전자는 핵: AY623427.1, 단백질 ID = AAT49050) 그리고 지적된 바와 같이 변형되었다. pFUSE-CHIg-hG1 벡터에 의해 암호화된 Fc-융합 파트너의 아미노산 서열은:
- [0371] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열 번호: 55)
- [0372] **발현 작제물의 작제.** 포유동물 발현 벡터 pTT5 (National Research Council Canada)는 코작(Kozak) 요소 및 인간 IgK-신호 펩티드 서열: (CACCATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGCCAGATGT) (서열 번호: 56)을 PmeI와 EcoRI 부위 사이에 을 삽입함에 의해 변형되었다. 양 제한 부위가 제거되었지만 AgeI 부위가 분비된 인자의 추가적 프레임-내 클로닝을 위해 창제되었다. 단일 단편 삽입 (예를 들면, 인간 IgG1의 Fc 부), 인-퓨전 기술 (Clontech)이 사용되었다. 2종 이상의 PCR 생성된 단편 (즉 hIgG1-Fc + GDF15)의 삽입을 위해, 우리는 제조 프로토콜에 따라 김슨 어셈블리 마스터 믹스 (NEB)를 사용하였다. 모든 PCR 단편은 사파이어 PCR 믹스에 의해 증폭되었고 퀴아젠 겔 추출 키트를 사용하여 겔-정제되었다. TOP10 전기-반응능 세포 (Life Technologies)는 클로닝 반응으로 형질전환되고, 카르베니실린을 함유하는 LB-우무 평판에 도말되고 그리고 37 °C에서 밤새 배양되었다. 단일 콜로니가 취해지고 그리고 서열분석에 의해 분석되었다. 양성 콜로니로부터의 DNA가 증폭되었고(DNA-Maxi-prep, Qiagen), 완전히 서열 확인되고 그리고 재조합 단백질 발현을 위해 포유동물 세포로 트랜스펙션하기 위해 사용되었다.
- [0373] 특정 뮤테인을 생성하기 위해, 부위 지향된 돌연변이유발은 제조사 프로토콜에 따라, 퀵체인지 라이트닝 (QuikChange Lightning) 또는 퀵체인지 라이트닝 멀티 부위-지향적 돌연변이유발 키트 (Agilent) 중 어느 하나와 적절한 프라이머로 수행되었다.
- [0374] **(Fc/Fc)-GDF15 융합 분자, 야생형 GDF15, 및 GDF15-글리코뮤테인 발현.** 모든 분자는 Expi 293F 세포 (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA)에서 일시적으로 형질감염된 것으로부터 회수되었다. 세포는 Expi 발현 배지 (Invitrogen)에서 일상적으로 하위배양되고 그리고 다양한 크기의 진탕 플라스크에서 현탁 배양으로 유지되었다. 전형적으로, 세포는 5e5 생존 세포/ml의 세포 밀도로 하위배양되고 그리고 하위배양 전 3일 동안 성장되었다. 플라스크는 110 RPM의 진탕 속도로 뉴 브런스윅 진탕기 플랫폼 (New Brunswick Scientific Company, Edison, NJ) 상에서 가습된 CO<sub>2</sub> 인큐베이터 (37°C 및 5% CO<sub>2</sub>)에 유지된다.
- [0375] 배양물의 세포 밀도가 95% 생존력 초과에서 2.5e6 생존 세포/mL에 도달될 때 형질감염이 수행된다. 전형적으로, 50mL 형질감염을 위해, 2.5e6 세포/mL x 50mL 세포가 배양 용량 42.5mL으로 250mL 진탕기 플라스크에 접종되었다. 관심 유전자를 함유하는 발현 벡터로 구성된 50 마이크로그램(50 µg)의 플라스미드 DNA가 2.5mL OPTI-MEM 환원-혈청 배지(Invitrogen)에서 먼저 희석되었다. 동시에, 엑스피펙타민 형질감염 시약 (Invitrogen), (플라스미드 DNA의 양의) 2.67배 용적도 또한 2.5mL OPTI-MEM 환원-혈청 배지로 희석되었다. 실온에서 5분 배양 후, 희석된 형질감염 시약을 희석된 플라스미드 DNA에 서서히 부가하여 형질감염 가능한 복합체를 형성하였다. 실온에서 20분 동안 더 배양 후, 5mL의 형질감염 복합체를 42.5mL의 세포 배양물에 부가하였다. 그런 다음 형질감염된 세포를 110 RPM으로 유지된 회전식 진탕기 상에서 가습된 CO<sub>2</sub> 인큐베이터에 두었다. 형질감염 24시간 후, 형질감염된 배양물에 250 µL 인헨서 1 용액 (Invitrogen) 및 2.5mL 인헨서 2 용액 (Invitrogen)을 공급하였다. 본

배양물은 그런 다음 회전식 진탕기 상에 가습된 CO<sub>2</sub> 인큐베이터로 대체되었다. 형질감염 6-내지-7일 후, 배양물은 0.2µm 필터 (Nalgene)를 통해 여과되기 전에 3000 RPM에서 30분 동안 원심분리에 의해 수확되었다. 샘플은 그런 다음 발현에 대해 쿠마시에 염색 겔 상에서 분석되었다.

[0376] **제조합 단백질의 정제.** 조건화된 배지 (CM)에 발현된 (Fc/Fc)-GDF15 분자는 정제에 따른 회수 및 활성에 대해 평가되었다. CM은 20mg/mL 이하의 수치 로딩 수용량에서 mAb SelectSuRe 칼럼 (GE) 상으로 통과되었다. CM 용적은 회수율의 평가를 위해 50mL-1000mL의 범위였다. CM의 mAb SelectSuRe 로딩 후, 컬럼은 5-10 칼럼 용적의 1XPBS (Corning Cellgro)로 세척되고, 그 다음 낮은 pH 글리신 버퍼 (Polysciences Inc)으로 단계 용출되었다. 용출 후에, (Fc/Fc)-GDF15 풀은 1M Tris pH 8.0 (Teknova)으로 pH 중화되고 그리고 그 다음 1XPBS (Corning Cellgro)로 사전-평형화된 Superdex200 (GE) 컬럼 상에 주입되었다. 완전하게 조립된 분자인, (Fc/Fc)-GDF15 온전한 분획이 모아 지고 그리고 순도에 대해 평가되고 그리고 시작 CM 용적에 기초한 회수를 결정하기 위해 적절한 흡광 계수 및 분자량을 사용하여 A280 방법을 통해 정량화되었다. 완전히 조립된 분자는 두 이종이량체의 이량체-이량체 복합체였다. 각각의 이종이량체는 크nob 인 홀(knob-in-hole) 상호 작용을 통해 Fc-GDF15 글리코 틴과 관련된 Fc 및 GDF15-GDF15 상호 작용을 통해 연관된 2개의 이종이량체를 갖고, 그리고 두 이종이량체는 GDF15 - GDF15 상호작용을 통해 연계된다.

[0377] **WT GDF15 및 GDF15 글리코뮤테인의 정제.** Fc에 콘주게이트되지 않은 GDF15 글리코뮤테인 및 야생형 GDF15는 이온교환 포착을 사용하여 배양된 배지로부터 정제되었다. WT GDF15 및 GDF15 글리코뮤테인은 최적의 용출 및 속 주세포 단백질 불순물로부터의 분리에 도움이 되는 적절한 염/pH의 구배를 사용하여 용출되었다. 모든 GDF15 분자는 그런 다음 암모늄 설페이트의 감소하는 선형 구배를 사용하여 pH 8.0에서 GE HiTrap 페닐 HP를 사용하여 추가로 정제되었다. 비-환원된 SDS-PAGE 겔 상에서 겔-이동을 통해 순도 및 글리코실화 특성에 기반하여 평가되고 풀링되었다. (Fc/Fc)-GDF15 분자와 유사하게, 야생형 GDF15 및 GDF15 글리코뮤테인은 IgG 신호 펩티드를 사용하여 발현되었다.

[0378] **실시예 1: 이종이량체 크nob-인-홀 (Fc/Fc)-GDF15 융합 분자의 디자인**

[0379] Fc-GDF15 디자인은 도 1에 기재되고 그리고 1차 서열은 아래에 묘사된다 (각제물 B1a/b-B19a/b). Fc-GDF15 분자의 생산적인 어셈블리를 달성하기 위해, GDF15/GDF15 이량체화에 대해 허용하면서 Fc/Fc 이량체화를 허용하는 효율적인 시스템이 설계되었다. 단일-사슬 Fc-GDF15의 미스-폴딩 및 응집 가능성을 피하기 위해, 높은 충실도의 GDF15/GDF15 동종이량체화를 허용하는 Fc/Fc 상호작용을 위한 이종이량체 융합 파트너가 설계되었다. 크nob-인-홀 Fc/Fc 이종이량체가 Expi 293F 일시적 시스템으로부터 분비 및 GDF15 어셈블리를 다루기 위해 설계되었다. Fc/Fc 이종이량체 크nob-인-홀 시스템은 (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>링커 (n=2, 3, 4, 또는 5) 및 GDF15와 연결된 [T366Y (크nob) // Y407T (홀)] 또는 [T366W (크nob) // T366S-L368A-Y407V (홀)] 시스템을 사용하여 평가되었다. Fc의 CH3 도메인 내 아미노산 위치의 넘버링은 EU 넘버링 시스템 (Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969))에 따른다. Acad. USA, 63, 78-85 (1969))에 기반하여 된다고 인식되어 진다. 모든 경우에, Fc-융합 (knob/hole) 파트너는 아미노산 잔기 A1-I112, R2-I112, N3-I112, G4-I112, D5-I112, H6-I112, 또는 C7-I112를 포함하는 성숙한 GDF15의 N-말단에 커플링된다. GDF15의 N-말단의 절단 ( $\Delta 1 = R2-I112$ ,  $\Delta 2 = N3-I112$ ,  $\Delta 3 = G4-I112$ ,  $\Delta 4 = D5-I112$ ,  $\Delta 5 = H6-I112$  또는  $\Delta 6 = C7-I112$ )은 N-말단 (ARNGDH, 서열 번호: 95)에서의 서열 이 단백질 분해 감수성의 부위로서 이전에 입증되었고 N-말단 절단이 이들 N-말단 절단을 포함하지 않는 GDF15 대비 우수한 안정성을 제공하기 때문에 안정성 향상을 위해 편입되었다.

[0380] 도 1A-1D는, 두 분자간 이황화 결합을 함유하는 야생형 IgG 힌지로 또는 힌지 도메인 ( $\Delta$  힌지) 없이 커플링된, 이종이량체 Fc 파트너 상의 상응하는 홀 대 크nob으로 커플링된 (사슬 B), Fc-GDF15 상의 크nob 대 홀의 배치 (사슬 A)를 기술한다. Fc 이종이량체 크nob 또는 홀 A/B 사슬에 대해, AA 돌연변이 (AP~~EL~~LGGP (서열 번호: 96) → AP~~AL~~AGGP (서열 번호: 97))가 IgG1 효과기 기능성의 제거를 위해 도입된다. (Fc/Fc)-GDF15 이종이량체 크nob-인-홀 디자인은 어셈블리를 위해 프로파일링된 발현이고 도 2a에 보고되었다. 모든 경우에, 크nob-인-홀 (Fc/Fc)-GDF15의 일시적 발현은 정제 후, 0mg/L 내지 74.9mg/L 사이의 정확하게 조립된 생성물 회수로 수득하였다 (0 = 응집물/무 발현, <25mg/L, 25mg/L-49.9mg/L, 50mg/L-74.9mg/L, 75mg/L-99.0mg/L, >100mg/L). 모든 경우에, 크nob-인-홀 이종이량체 Fc/Fc-GDF15 분자의 어셈블리 및 분비는 다양한 오염 수준의 미스-폴딩된 동종이량체 종예컨대 Fc(홀):Fc(홀), Fc(크nob):Fc(크nob), Fc(크nob)-GDF15:Fc(크nob)-GDF15 및 Fc(홀)-GDF15:Fc(홀)-GDF15가 동반되었다. 발현 프로파일링에 기반하여, 이종이량체 Fc 파트너 사슬 (도 1D) 상의 T366S-L368A-Y407V (홀)과 커플링된, Fc-GDF15 사슬 상에 위치한 T366W (크nob)이 Fc/Fc-동종이량체 생성물의 최대 안정성 및 최소화된 잘못된-짓기를 갖는 생성물을 생성하는 것이 밝혀졌다 (도 2a - 변이체 B5a/B5b). 이 설계는 추가 발현 엔지니어링

및 최적화에 초점이 맞추어졌다.

- [0381] 일시적으로 발현된 Expi 293F 공급원으로부터 변이체 B5a/B5b 회수는 0.0mg/L 내지 24.9mg/L의 범위로 되는 회수를 제공하였다. 발현, 어셈블리 & 회수를 증진하기 위해, N-글리코실화 부위가 GDF15의 성숙한 서열 내로 도입되었다 (도 1F). 본 설계된 작제물에서, GDF15 상에 단일 N-연결된 글리칸 공통 부위의 존재는 완전히 성숙한 (Fc/Fc)-GDF15 크롭-인-홀 이중이량체 B5a/B5b의 발현, 어셈블리 및 회수를 유의미하게 개선하였다 (도 2a - 변이체 B9a/B9b 대 B19a/B19b). 링커 길이는 시험관내 검정을 통한 수용체 결합 & 활성에 대한 (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>에 대해 n=5 일 때 최적인 것으로 밝혀졌다. 위치 D5T 상에 글리칸의 존재는 성숙한 GDF15의 위치 N3 상에 1차 탈아미드화 부위를 완전히 제거하고 그리고 실시예 2에서 입증된 바와 같이 분자의 안정성을 더 증진하는 것으로 나타났다.

[0382] GDF15의 서열 내 N-연결된 글리칸의 존재는 분비의 과정 중에 내형질 망 및 골지기에서의 증가된 체류 시간에 기인한 축적으로부터 미스-폴딩된 생성물을 최소화하고 발현을 돕는 것으로 제안된다. 이 추가의 체류 시간은 폴딩 동역학에 유익한 효과를 가지며 포유동물 조직 배양으로부터 유의미하게 개선된 헤테로-이량체성 (Fc/Fc) 크롭-인-홀 짝짓기 및 회수를 가능하게 하는 것으로 제안된다.

[0383] 변이체 (B1a/b-B19a/b)의 서열은 아래에 제공된다. 아래에 묘사된 서열에서, 인간 IgK 신호 펩티드는 소문자이고 그 다음 Fc 서열이다. 링커 및 GDF15 서열을 또한 포함하는 서열에서, Fc 서열은 그 다음 GDF15 서열 (굵은 글씨)이 뒤따르는 링커 서열 (밑줄 씬)이 있다. Fc 서열에서 아미노산 치환 위치의 넘버링은 EU 넘버링에 기초로, 인간 IgG1Fc (서열 번호: 2)에서 상응하는 위치에 존재하는 아미노산에 대한 치환이다. 아미노산 치환(들) 및 GDF15 서열에서 N-말단 결실의 넘버링은 야생형 인간 성숙한 GDF15 (서열 번호: 1)를 참고로 한다.

[0384] **B1a:** hIgK-hIgG1-Fc(AA)(T366Y)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[0385] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c D K T H T C P P C P A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L Y C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G S G G G G S G G G S G G G S G D H C P L G P G R C C R L H T V R A S L E D L G W A D W V L S P R E V Q V T M C I G A C P S Q F R A A N M H A Q I K T S L H R L K P D T V P A P C C P A S Y N P M V L I Q K T D T G V S L Q T Y D D L L A K D C H C I (서열 번호: 57)

[0386] **B1b:** hIgK-hIgG1-Fc(AA)(Y407T)

[0387] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c D K T H T C P P C P A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L T S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (서열 번호: 58)

[0388] **B2a:** hIgK-hIgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[0389] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c D K T H T C P P C P A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L T S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G S G G G G S G G G S G G G S G D H C P L G P G R C C R L H T V R A S L E D L G W A D W V L S P R E V Q V T M C I G A C P S Q F R A A N M H A Q I K T S L H R L K P D T V P A P C C P A S Y N P M V L I Q K T D T G V S L Q T Y D D L L A K D C H C I (서열 번호: 59)

[0390] **B2b:** hIgK-hIgG1-Fc(AA)(T366Y)

[0391] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c D K T H T C P P C P A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L Y C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (서열 번호: 60)

[0392] **B3a:** hIgK-hIgG1-Fc(헨지, AA)(T366Y)-(G<sub>4</sub>S)<sub>5</sub>-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[0393] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L Y C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K G G G G S G G G S G G G G S G G G S G G G S G D H C P L G P G R C C R L H T V R A S L E D L G W A D W V L S P R E V Q V T M C I G A C P S Q F R A A N M H A Q I K T S L H R L K P D T V P A P C C P A S Y N P M V L I Q K T D T G V S L Q T Y D D L L A K D C H C I (서열 번호: 61)

[0394] **B3b:** hIgK-hIgG1-Fc(Δ헨지, AA)(Y407T)

[0395] mdmrvpaql lgl l l l l w l r g a r c A P A L A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L T S K L T V





[illegible]





mdmrvpaql lgl lllwlr garc ARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP

ASYNPMVLIQNTTGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 114)

[0475] **IgK-GDF15-글리코뮤테인 D93N/G95T**

[0476] mdmrvpaqllgllllwlrargarcARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP  
ASYNPMVLIQKNTTGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 115)

[0477] **IgK-GDF15-글리코뮤테인 G95N**

[0478] mdmrvpaqllgllllwlrargarcARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP  
ASYNPMVLIQKTDNTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 116)

[0479] **IgK-GDF15-글리코뮤테인 S97N/Q99T**

[0480] mdmrvpaqllgllllwlrargarcARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP  
ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 117)

[0481] **IgK-GDF15-글리코뮤테인 L98N**

[0482] mdmrvpaqllgllllwlrargarcARNGDHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP  
ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI (서열 번호: 118)

[0483] GDF15 분자는 293 세포에 의해 발현된 신호 펩티다아제에 의해 분비된 폴리펩티드로부터 절단되어 진 IgK 신호 펩티드를 사용하여 발현되었다. 야생형 인간 성숙 GDF15의 회수 (서열 번호: 1) 및 GDF15 글리코뮤테인 (도 2b에 열거됨).

[0484] Fc-Fc(knob/hole)GDF15 글리코뮤테인으로 발현될 수 있는 예시적인 GDF15 글리코뮤테인은 2015년 7월 28일 출원된 미국특허출원 SN14/811,578에 기재되어 있다.

[0485] **실시예 2: DIO 마우스 모델에서 체중 및 음식 섭취에 대한 (Fc/Fc)-GDF15 융합 분자의 효과**

[0486] 체중에 대한 제조합 인간 GDF15에 융합된 제조합 Fc- 이중이량체(즉, 두 이중이량체의 복합체로, 각 이중이량체는 Fc-GDF15 글리코뮤테인 폴리펩티드와 이량체화된 Fc 폴리펩티드를 가짐)를 갖는 피하로 투여된 융합 분자의 효과가 35일 기간에 걸쳐 평가되었다. 간단히, 융합 분자 B9a/B9b, B11a/B11b 및 B13a/B13b가 대략 35-40g인 DIO 마우스 칭량에 대해 단일 피하 볼러스 주사 (10mL/kg)로서 0.4 nmol/kg 및 4nmol/kg의 용량으로 21일 동안 매주 투여되었다. 비히클 대조군 또는 융합 분자의 투여에 따른, 체중 감소가 효능을 모니터링하기 위해 21일의 단백질 투여 그 다음 14일의 세척(복용후)이 포함된 35일 기간에 걸친 다양한 시점에서 모니터링되었다.

[0487] 도 3-6에 도시된 바와 같이, 0.4nmol/kg 및 4nmol/kg의 용량으로 Fc 융합 분자 (이중이량체-이중이량체 복합체)의 투여는 유의미한 체중 감소를 초래하였다. 마우스의 각 그룹에서, n = 6이고 p-값 (\*, p<0.05; \*\*, p<0.01; \*\*\*, p<0.001, ns= 유의미하지 않음)은 각 명시된 시점에서 비히클 대조군 그룹에 비교하여 스튜던트's 언페어드 T-시험에 의해 결정되었다. 도 7에 도시된 바와 같이, SEM 분석으로 총 체중은 모든 그룹에 대한 각 샘플링 시점에서 도시되었다. 도 8에 도시된 바와 같이, SEM 분석 및 p-값으로 체중에서의 변화(g)는 모든 그룹에 대한 각 샘플링 시점에서 도시되었다. 도 9에 도시된 바와 같이, SEM 분석 및 p-값으로 체중에서의 퍼센트 변화(%)는 모든 그룹에 대한 각 샘플링 시점에서 도시되었다.

[0488] 도 3 & 5에 도시된 바와 같이, 0.4nmol/kg 용량 연구에서 B9a/B9b 및 B11a/B11b에 비교될 때 B13a/B13b에 대한 체중 감소에서 관측된 증가된 효능이 있다. B13a/B13b에 대한 증가된 생체내 효능은 GDF15의 2 N-말단 잔기의 절단에 기인한 향상된 안정성에 기인한다( $\Delta$ AR).

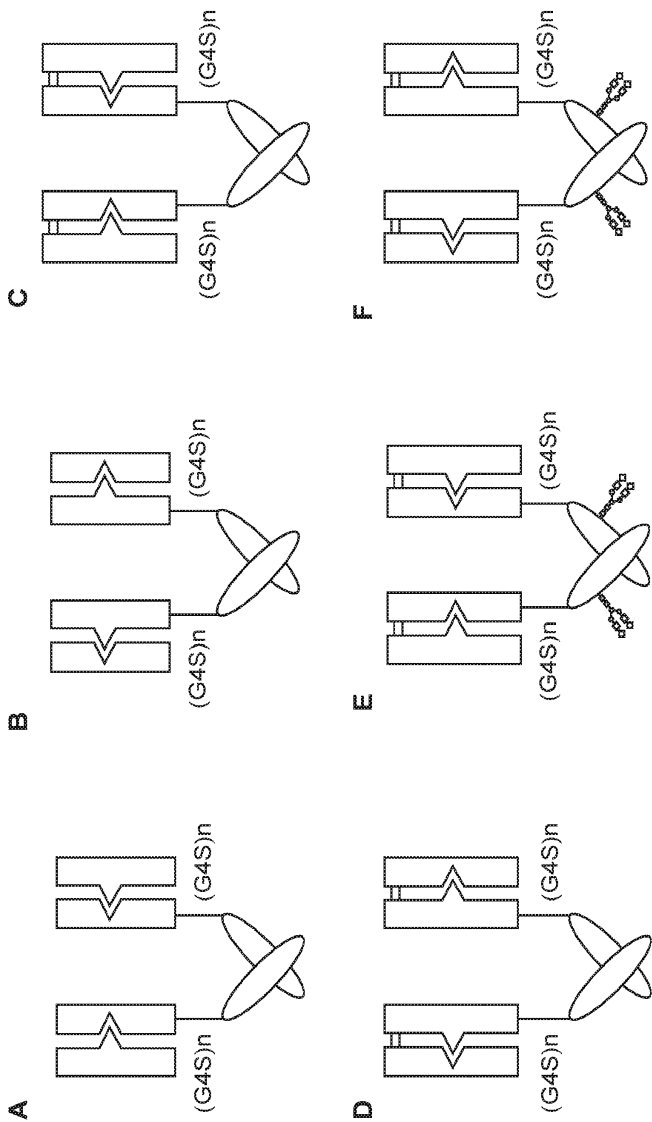
[0489] 본 발명의 특정 구현예들은, 본 발명을 실행하기 위해 본 발명자들에게 알려진 최상의 모드를 포함하여, 여기에서 설명된다. 전술한, 설명을 읽음에 의해, 개시된 구현예의 변화가 당해 기술에서 일하는 자에게 명백해질 수 있으며, 그리고 이들 숙련가는 적절한 경우 그러한 변화를 사용할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서, 본 발명은 특이적으로 본 명세서에서 기재된 것과 다르게 실시되고, 그리고 본 발명은 적용 가능한 법률에 의해 허용되는 바에 따라 본 명세서에 첨부된 청구범위에 인용된 요지의 모든 변형 및 등가물을 포함한다고 의도된다. 게다가, 이들의 모든 가능한 변화에서의 상기-기재된 요소의 임의의 조합은 본원에서 달리 명시되지 않거나 다르게는 맥락 상 명확히 금기되지 않는 한, 본 발명에 의해 내포된다.

[0490] 본원에 인용된 모든 간행물, 특허 출원, 수탁 번호, 및 기타 참고문헌이 구체적으로 및 개별적으로 참조로 인용되도록 기재된 것처럼 본원에 참고로 인용된다.

도면

도면1

크립-인-홀 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 설계



도면2a

크립-인-홀 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 회수

Fc-GDF15쇄 A	Fc 이종이량체 (크립/홀) 상대쇄 B	변이체 번호	GDF15 무테인 (글리코실화됨)	회수 (mg/L)
hlgG1-Fc(AA)(T366Y)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(Y407T)	B1a/B1b	없음	<25
hlgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366Y)	B2a/B2b	없음	25-49.9
hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366Y)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(Y407T)	B3a/B3b	없음	50-74.9
hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(Y407T)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366Y)	B4a/B4b	없음	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B5a/B5b	없음	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN6-GDF15 (C7-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366W)	B6a/B6b	없음	<25
hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366S, L368A, Y407V)	B7a/B7b	없음	25-49.9
hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366S, L368A, Y407V)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN6-GDF15 (C7-I112)	hlgG1-Fc(Δ한지, AA)(T366W)	B8a/B8b	없음	N/A
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B9a/B9b	있음	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B10a/B10b	있음	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B11a/B11b	있음	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B12a/B12b	있음	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B13a/B13b	있음	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B14a/B14b	있음	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B15a/B15b	있음	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B16a/B16b	있음	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B17a/B17b	있음	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B18a/B18b	있음	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)	B19a/B19b	있음	50-74.9
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G <sub>2</sub> S) <sub>2</sub> -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S, L368A, Y407V)			

도면2b

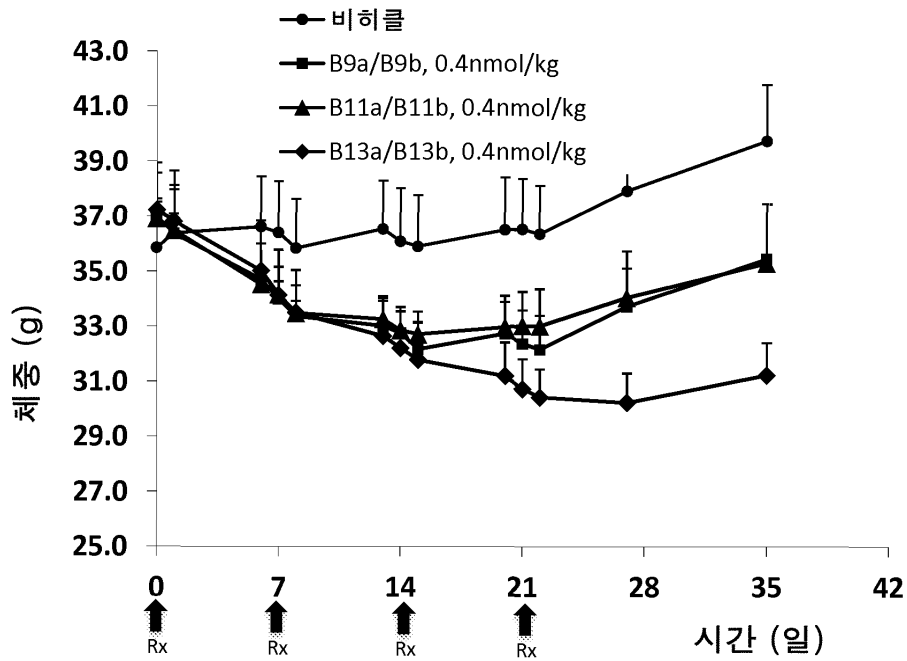
GDF15 당무테인의 회수

당변이체	회수 (mg/L)
hGDF15 야생형	< 0.99
R21N	< 0.99
R53N/A55T	4 - 7.99
S64N/H66T	16 - 31.99
P70N	2 - 3.99
Q90N	4 - 7.99
K91N/D93T	16 - 31.99
D93N/G95T	8 - 15.99
G95N	8 - 15.99
S97N/Q99T	8 - 15.99
L98N	4 - 7.99



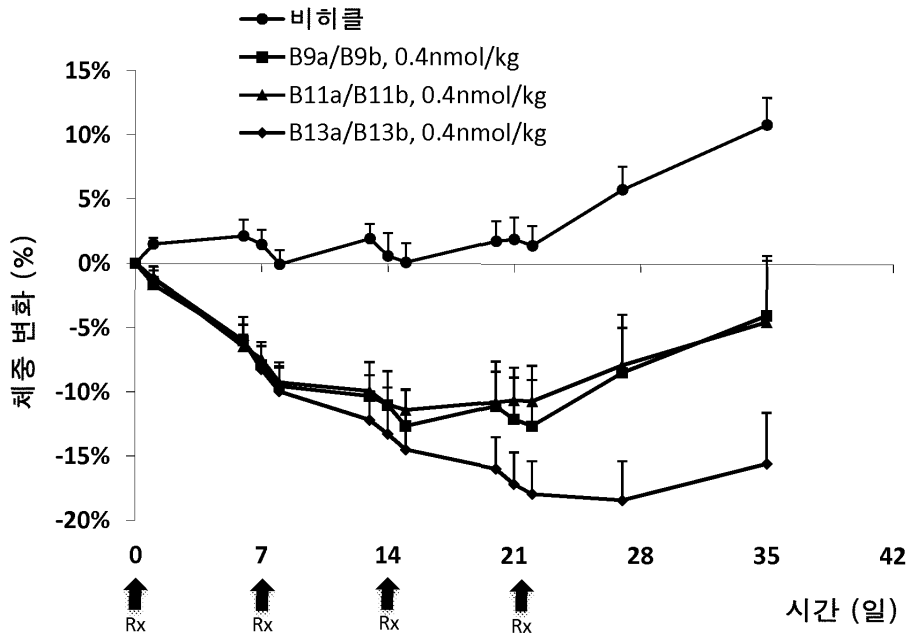
도면3

0.4 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 전달 상에서의 DIO 마우스 모델 내 체중 감소



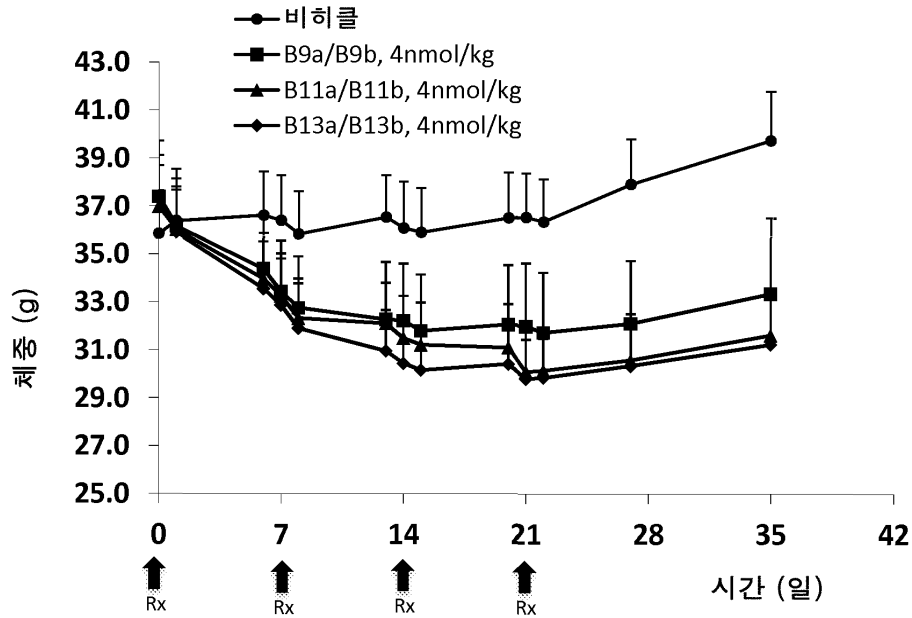
도면4

0.4 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 전달 상에서의 DIO 마우스 모델 내 체중 퍼센트



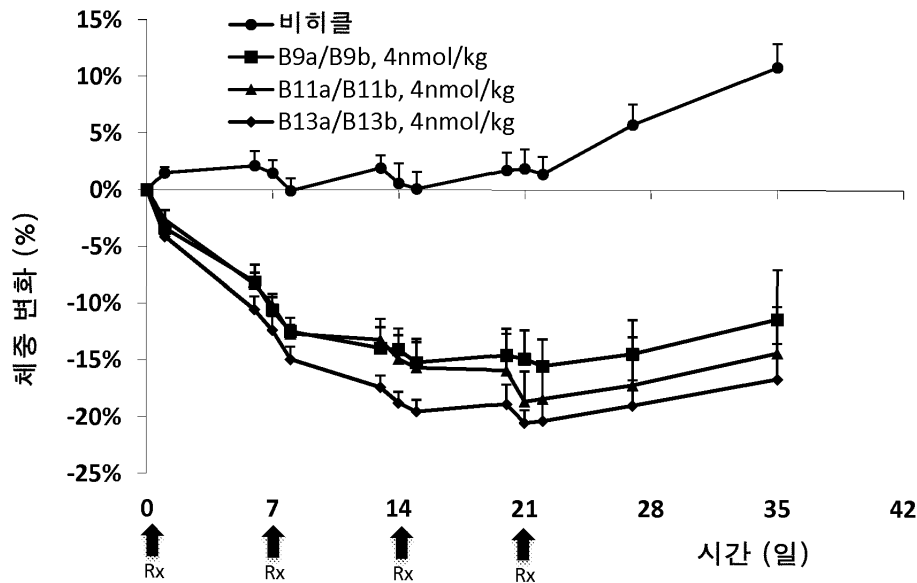
도면5

4.0 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 전달 상에서의 DIO 마우스 모델 내 체중 감소



도면6

4.0 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자의 전달 상에서의 DIO 마우스 모델 내 체중 퍼센트 감소



도면7

0.4 nmol/kg 및 4.0 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자에 대한 각 시점에 대한 DIO 마우스 내 체중 (g)

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	35.9	36.4	36.6	36.4	35.9	36.6	36.1	35.9	36.5	36.6	36.4	37.9	39.8
B9a/B9b 0.4nmol/kg	37.0	36.4	34.7	34.0	33.4	33.0	32.8	32.2	32.7	32.4	32.2	33.7	35.5
B9a/B9b 4nmol/kg	37.4	36.2	34.4	33.5	32.8	32.3	32.2	31.8	32.1	32.0	31.7	32.1	33.4
B11a/B11b 0.4nmol/kg	36.9	36.5	34.5	34.2	33.5	33.3	32.9	32.7	33.0	33.0	33.0	34.1	35.3
B11a/B11b 4nmol/kg	37.0	36.0	34.0	33.3	32.3	32.1	31.5	31.2	31.1	30.1	30.2	30.6	31.6
B13a/B13b 0.4nmol/kg	37.2	36.8	35.0	34.2	33.5	32.7	32.2	31.8	31.2	30.7	30.4	30.2	31.2
B13a/B13b 4nmol/kg	37.4	35.9	33.6	32.9	31.9	31.0	30.5	30.2	30.4	29.8	29.9	30.4	31.2

sem	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	1.77	1.72	1.81	1.87	1.78	1.74	1.92	1.84	1.89	1.82	1.76	1.87	2.04
B9a/B9b 0.4nmol/kg	1.58	1.58	1.30	1.17	1.13	0.91	0.93	0.99	1.16	1.21	1.23	1.39	2.01
B9a/B9b 4nmol/kg	2.32	2.35	2.27	2.12	2.14	2.39	2.37	2.35	2.47	2.63	2.51	2.61	3.15
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0.59	0.58	0.52	0.47	0.45	0.77	0.69	0.82	1.15	1.23	1.35	1.69	2.15
B11a/B11b 4nmol/kg	1.70	1.78	1.89	1.76	1.65	1.69	1.76	1.76	1.81	1.72	1.68	1.93	1.87
B13a/B13b 0.4nmol/kg	1.69	1.80	1.81	1.64	1.55	1.44	1.33	1.36	1.21	1.09	1.02	1.07	1.17
B13a/B13b 4nmol/kg	1.70	1.75	1.96	1.94	1.87	1.70	1.66	1.69	1.71	1.64	1.63	1.71	1.97

도면8

0.4 nmol/kg 및 4.0 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자에 대한 각 시점에 대한 DIO 마우스 내 총 체중 변화(g)

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	0.0	0.5	0.8	0.5	0.0	0.7	0.2	0.0	0.6	0.7	0.5	2.1	3.9
B9a/B9b 0.4nmol/kg	0.0	-0.6	-2.3	-3.0	-3.6	-4.0	-4.2	-4.8	-4.3	-4.6	-4.8	-3.3	-1.5
B9a/B9b 4nmol/kg	0.0	-1.2	-3.0	-4.0	-4.6	-5.1	-5.2	-5.6	-5.3	-5.4	-5.7	-5.3	-4.1
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0.0	-0.4	-2.4	-2.8	-3.4	-3.7	-4.1	-4.2	-4.0	-3.9	-3.9	-2.9	-1.6
B11a/B11b 4nmol/kg	0.0	-1.0	-3.0	-3.7	-4.7	-4.9	-5.5	-5.8	-5.9	-6.9	-6.8	-6.4	-5.4
B13a/B13b 0.4nmol/kg	0.0	-0.4	-2.2	-3.1	-3.7	-4.6	-5.0	-5.5	-6.0	-6.5	-6.8	-7.0	-6.0
B13a/B13b 4nmol/kg	0.0	-1.5	-3.9	-4.5	-5.5	-6.5	-7.0	-7.3	-7.0	-7.6	-7.6	-7.1	-6.2

sem	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	0.00	0.16	0.43	0.38	0.37	0.38	0.60	0.50	0.53	0.59	0.53	0.61	0.77
B9a/B9b 0.4nmol/kg	0.00	0.21	0.48	0.59	0.75	1.06	1.08	1.14	1.38	1.30	1.44	1.31	1.54
B9a/B9b 4nmol/kg	0.00	0.17	0.53	0.47	0.46	0.58	0.58	0.68	0.79	0.80	0.76	1.02	1.51
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0.00	0.22	0.35	0.52	0.47	0.45	0.50	0.60	0.86	0.91	0.99	1.43	1.88
B11a/B11b 4nmol/kg	0.00	0.30	0.31	0.34	0.26	0.69	0.77	0.82	1.22	1.03	1.22	1.60	1.58
B13a/B13b 0.4nmol/kg	0.00	0.34	0.65	0.84	0.80	0.92	1.01	0.91	1.07	1.12	1.16	1.31	1.62
B13a/B13b 4nmol/kg	0.00	0.13	0.34	0.37	0.29	0.31	0.29	0.31	0.62	0.36	0.57	0.83	1.13

생형성되지 않은 t-테스트	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클													
B9a/B9b 0.4nmol/kg		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0.4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	**	**	**	**	*
B11a/B11b 4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0.4nmol/kg		*	**	**	**	***	**	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

도면9

0.4 nmol/kg 및 4.0 nmol/kg의 (Fc/Fc)-GDF15 분자에 대한 각 시점에 대한 DIO 마우스 내 체중 퍼센트감소 (%)

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	0.0%	1.5%	2.2%	1.5%	0.0%	2.0%	0.6%	0.1%	1.8%	1.9%	1.4%	5.8%	10.8%
B9a/B9b 0.4nmol/kg	0.0%	-1.6%	-6.0%	-7.9%	-9.5%	-10.3%	-11.0%	-12.6%	-11.0%	-12.1%	-12.6%	-8.4%	-4.0%
B9a/B9b 4nmol/kg	0.0%	-3.3%	-8.1%	-10.6%	-12.4%	-13.9%	-14.1%	-15.2%	-14.5%	-14.8%	-15.5%	-14.4%	-11.4%
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0.0%	-1.1%	-6.4%	-7.4%	-9.2%	-9.9%	-11.0%	-11.4%	-10.8%	-10.6%	-10.7%	-7.9%	-4.5%
B11a/B11b 4nmol/kg	0.0%	-2.6%	-8.3%	-10.2%	-12.6%	-13.2%	-14.9%	-15.6%	-15.9%	-18.6%	-18.4%	-17.2%	-14.4%
B13a/B13b 0.4nmol/kg	0.0%	-1.1%	-6.0%	-8.2%	-9.9%	-12.2%	-13.2%	-14.5%	-15.9%	-17.1%	-17.9%	-18.4%	-15.5%
B13a/B13b 4nmol/kg	0.0%	-4.1%	-10.5%	-12.3%	-14.9%	-17.4%	-18.8%	-19.5%	-18.8%	-20.5%	-20.3%	-19.0%	-16.7%

sem	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클	0.00%	0.48%	1.27%	1.14%	1.10%	1.10%	1.77%	1.48%	1.56%	1.69%	1.52%	1.77%	2.09%
B9a/B9b 0.4nmol/kg	0.00%	0.60%	1.25%	1.45%	1.86%	2.65%	2.63%	2.77%	3.46%	3.24%	3.58%	3.49%	4.29%
B9a/B9b 4nmol/kg	0.00%	0.58%	1.53%	1.13%	1.19%	1.85%	1.86%	2.09%	2.36%	2.52%	2.35%	3.01%	4.37%
B11a/B11b 0.4nmol/kg	0.00%	0.59%	0.89%	1.29%	1.16%	1.23%	1.32%	1.63%	2.38%	2.54%	2.77%	3.94%	5.16%
B11a/B11b 4nmol/kg	0.00%	0.86%	1.00%	1.00%	0.76%	1.83%	2.09%	2.25%	3.23%	2.68%	3.13%	4.24%	4.09%
B13a/B13b 0.4nmol/kg	0.00%	0.92%	1.82%	2.12%	1.98%	2.22%	2.35%	2.14%	2.46%	2.46%	2.55%	3.04%	3.97%
B13a/B13b 4nmol/kg	0.00%	0.44%	1.15%	1.22%	1.11%	1.03%	0.96%	1.04%	1.72%	1.13%	1.57%	2.24%	3.15%

쌍형성되지 않은  
t-테스트

	D 0	D1	D6	D7	D8	D13	D14	D15	D20	D21	D22	D27	D35
비히클													
B9a/B9b 0.4nmol/kg		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0.4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	**	*	*
B11a/B11b 4nmol/kg		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0.4nmol/kg		*	**	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4nmol/kg		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

서열 목록

<110> NGM BIOPHARMACEUTICALS, Inc.

Shen, Wenyan

Lindhout, Darrin A.

Haldankar, Raj

Matern, Hugo

<120> COMPOSITIONS AND METHODS OF USE FOR TREATING METABOLIC DISEASES

<130> NGMB-142WO



<150> US 62/073,737  
 <151> 2014-10-31  
 <150> US 62/244,604  
 <151> 2015-10-21  
 <160> 136  
 <170> KoPatent In 3.0  
 <210> 1  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1

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

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

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

<210> 2  
 <211> 232  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 2

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

225 230

<210> 3

<211> 347

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 3

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

130 135 140

Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Gly Thr

225                      230                      235                      240  
 His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg  
                          245                      250                      255  
 Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg  
                          260                      265                      270

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

                         340                      345  
 <210>    4  
 <211>    227  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    synthetic polypeptide sequence  
 <400>    4

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
130 135 140  
Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 5

<211> 362

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 5

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
                     130                      135                      140  
 Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
  
 225                      230                      235                      240  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Gly Thr His  
                     245                      250                      255  
 Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala  
                     260                      265                      270  
 Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu  
                     275                      280                      285  
 Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala  
                     290                      295                      300

Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro  
305 310 315 320  
Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met  
325 330 335  
Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp  
340 345 350  
Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
355 360  
<210> 6  
<211> 227  
<212> PRT  
<213>  
> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 6  
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
130 135 140

Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 7

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 7

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 130 135 140  
 Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys  
 245 250 255  
 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Asn Ala Ser  
 260 265 270  
 Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val  
 275 280 285  
 Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala  
 290 295 300  
 Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp  
 305 310 315 320  
 Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val  
 325 330 335  
 Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp  
 340 345 350  
 Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 355 360

<210> 8  
 <211> 227  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 8  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 130 135 140  
 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 Val 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> 9

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 9

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

130 135 140

Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

225 230 235 240  
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys

245 250 255

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Asn  
260 265 270

Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val  
275 280 285

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala  
290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp  
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val

325 330 335  
Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp

340 345 350  
Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

355 360

<210> 10

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 10

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
    130                      135                      140  
 Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 11

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 11

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

130 135 140

Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys  
 245 250 255  
 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser  
 260 265 270

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

340 345 350  
 Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 355 360

<210> 12  
 <211> 227  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 12

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
130 135 140  
Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 13

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400

> 13

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 130 135 140  
 Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys  
 245 250 255  
 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser  
 260 265 270  
 Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val

275						280						285					
Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Asn	Ala	Thr		
290						295						300					
Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp		
305				310				315				320					
Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val		
325								330				335					
Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp		
340						345						350					
Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile									

	355	360	
<210>	14		
<211>	227		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	synthetic polypeptide sequence		
<400>	14		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
130 135 140  
Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 15

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 15

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

130 135 140

Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp

305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val



325 330 335  
Leu Ile Gln Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp

340 345 350

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

355 360

<210> 16

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 16

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

130 135 140

Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 17

<211> 361

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 17

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

130	135	140	
Leu Trp 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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly			
225	230	235	240
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys			
	245	250	255
Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser			
	260	265	270
Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val			
	275	280	285
Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala			
	290	295	300
Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp			
305	310	315	320
Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val			
	325	330	335
Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp			
	340	345	350
Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile			
	355	360	
<210>	18		
<211>	227		
<212>	PRT		

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 18

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

130 135 140  
Leu Ser Cys Ala 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 Val 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> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 19

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 20

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 21

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 21

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 22

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 23  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 23  
 Gly Ser Gly Ser Gly  
 1 5

<210> 24  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 24

Gly Ser Gly Gly Gly  
 1 5

<210> 25  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 25

Gly Gly Gly Ser Gly  
 1 5

<210> 26  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 26

Gly Ser Ser Ser Gly  
 1 5

<210> 27  
 <211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 27

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 28

Glu Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 29

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (2)..(3)

<223> the amino acid at this position may be any amino acid

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223> the amino acid at this position may be any hydrophobic amino acid

<400> 29

Pro Xaa Xaa Xaa

1

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence



<220><221> UNSURE

<222> (2)..(3)

<223> the amino acid at this position may be any amino acid

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223> the amino acid at this position may be any hydrophobic amino acid

<220><221> UNSURE

<222> (5)

<223> the amino acid at this position may be any Ser or Thr

<400> 30

Pro Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 31

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (2)

<223> the amino acid at this position may be Leu or Gln

<400> 31

Pro Xaa Gly Met Thr Ser

1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (2)

<223> the amino acid at this position may be Leu or Gln

<400> 32

Pro Xaa Gly Met Thr

1 5  
 <210> 33  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 33

Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro

1 5 10  
 <210> 34  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 34

Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn

1 5 10  
 <  
 210> 35  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 35

Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn

1 5 10  
 <210> 36  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 36

Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn

1 5 10  
 <210> 37

<211> 12

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 37

Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn

1 5 10

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 38

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn

1 5 10

<210> 39

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 39

Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn

1 5 10

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 40

Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 41

<211> 14

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 41  
 Asp Val Asp Glu Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser Phe Leu

1	5	10
---	---	----

<210> 42  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 42  
 Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn

1	5	10
---	---	----

<210> 43  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 43  
 Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn

1	5	10
---	---	----

<210> 44  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 44  
 Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr

1	5	10
---	---	----

<210> 45  
 <211> 12  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 45

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

1 5 10

<210> 46

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 46

Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val

1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 47

Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 48

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 49

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

1 5 10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 50

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

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 51

Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn

1 5 10

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 52

Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn

1 5 10

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 53

Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 54

Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro

1 5 10

<210> 55

<211> 227

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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 Glu Glu Met 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> 56

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 56

accatggaca tgagggtccc cgctcagctc ctggggctcc tgctactctg gctccgaggt 60

gccagatgt 69

<210> 57

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

275 280 285  
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val  
 290 295 300  
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu  
 325 330 335  
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala  
 340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 370 375 380

<210> 58

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 58

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

20 25 30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 35 40 45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 50 55 60  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65 70 75 80  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 85 90 95

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

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

165 170 175  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 180 185 190  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 195 200 205  
 Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 210 215 220  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 59

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 59

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 20 25 30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

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

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

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

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

340                      345                      350

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

355                      360                      365

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

370                      375                      380

<210> 60

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

$\langle 400 \rangle$	60
-----------------------	----

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

1                      5                      10                      15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35                      40                      45

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

50                      55                      60

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

65                      70                      75                      80

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

85                      90                      95

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

100                      105                      110

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

115                      120                      125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 61

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 61

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

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val

20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

50 55 60

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

65 70 75 80



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

85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

210 215 220

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335  
 Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys  
 340 345 350  
 Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys  
 355 360 365  
 Asp Cys His Cys Ile

370  
 <210> 62  
 <211> 239  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 62

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

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

115 120 125  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
195                      200                      205  
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
210                      215                      220  
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
225                      230                      235

<210> 63

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 63

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

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

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

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

Asp Cys His Cys Ile

370

<210> 64

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 64

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

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val

20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

165 170 175

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

180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 195 200 205  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 210 215 220  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235  
 <210> 65  
 <211> 383  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 65  
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 20 25 30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 35 40 45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 50 55 60  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 85 90 95  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 100 105 110  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 115 120 125  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
  
 145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 165 170 175  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 180 185 190  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 195 200 205  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 210 215 220  
  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 225 230 235 240  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 245 250 255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 260 265 270  
 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu  
 275 280 285  
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val  
  
 290 295 300  
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu  
 325 330 335  
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala  
 340 345 350  
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser  
 355 360 365  
  
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 370 375 380  
 <210> 66  
 <211> 249  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence



<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 66

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 67

<211> 380

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu

325 330 335

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

<210> 68

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 68

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

1	5	10	15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro			
	20	25	30
Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
	35	40	45
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
	50	55	60
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
65	70	75	80
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
	85	90	95
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
	100	105	110
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	115	120	125
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
	130	135	140
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
145	150	155	160
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
	165	170	175
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
	180	185	190
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	195	200	205
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val			
	210	215	220
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln			
225	230	235	240
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	245		

<210> 69

<211> 373

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 69

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

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val

20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

35 40 45

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu

145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
210 215 220  
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly  
225 230 235 240  
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
245 250 255  
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro  
260 265 270  
Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu  
275 280 285  
Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met  
290 295 300  
Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala  
305 310 315 320  
Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala  
325 330 335  
Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys  
340 345 350  
Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys  
355 360 365  
Asp Cys His Cys Ile  
370  
<210> 70  
<211> 239  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 70  
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15  
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val  
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 35 40 45  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 50 55 60  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 65 70 75 80  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 85 90 95  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 100 105 110  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 115 120 125  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 130 135 140  
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 145 150 155 160  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 165 170 175  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 180 185 190  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 195 200 205  
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 210 215 220  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235  
 <210> 71  
 <211> 370  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 71

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15  
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val  
20 25 30  
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
35 40 45  
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
50 55 60  
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
65 70 75 80  
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
85 90 95  
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
100 105 110  
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
115 120 125  
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
130 135 140  
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
145 150 155 160  
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
165 170 175  
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
180 185 190  
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
195 200 205  
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
210 215 220  
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly  
225 230 235 240  
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly



245 250 255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys  
 260 265 270  
 Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala  
 275 280 285  
 Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly  
 290 295 300  
 Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys  
 305 310 315 320

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys  
 325 330 335  
 Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr  
 340 345 350  
 Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His  
 355 360 365

Cys Ile

370

<210> 72

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 72

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

65						70						75						80
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser			
					85						90						95	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys			
					100						105						110	
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile			
					115						120						125	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro			
					130						135						140	

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

210 215 220  
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
225 230 235

<210> 73

<211> 376

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 73

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5				10					15		
Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
				20				25					30		

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35                      40                      45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 50                      55                      60  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 85                      90                      95  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
  
 100                      105                      110  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 115                      120                      125  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 130                      135                      140  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 145                      150                      155                      160  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 165                      170                      175  
  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 180                      185                      190  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 195                      200                      205  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 210                      215                      220  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
  
 245                      250                      255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro  
 260                      265                      270  
 Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu  
 275                      280                      285  
 Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln

290 295 300  
Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn  
305 310 315 320

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

<210> 74  
<211> 249  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 74  
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15  
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30  
Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45  
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
50 55 60  
  
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
65 70 75 80  
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
85 90 95  
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
100 105 110  
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

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

130 135 140  
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
145 150 155 160  
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
165 170 175  
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
180 185 190  
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
210 215 220  
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
225 230 235 240  
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 75  
<211> 381  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 75

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

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

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

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg  
325 330 335

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr  
340 345 350

Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln  
355 360 365

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
370 375 380

<210> 76  
<211> 249  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 76

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
165 170 175

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

180 185 190  
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
195 200 205

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 77

<211> 386

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 77

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45

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

50 55 60  
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
85 90 95



Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
210 215 220

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
260 265 270

Gly Ser Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys  
275 280 285

Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala  
290 295 300

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly  
305 310 315 320

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys  
325 330 335

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

340 345 350  
 Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr  
 355 360 365  
 Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His  
 370 375 380  
 Cys Ile  
 385  
 <210> 78  
 <211> 369  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 78  
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 20 25 30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 35 40 45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 50 55 60  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65 70 75 80  
  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 85 90 95  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 100 105 110  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 115 120 125  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

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

Ile

<210> 79

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225					230					235					240
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
245															
<210>	80														
<211>	384														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														
<220><223>	synthetic polypeptide sequence														
<400>	80														
Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Trp	
1	5				10				15						
Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
20				25				30							
Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
35				40				45							
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
50				55				60							
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
65	70				75				80						
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
85				90				95							
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
100				105				110							
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
115				120				125							
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
130				135				140							
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
145	150				155				160						
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
165				170				175							
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn

180 185 190  
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
195 200 205

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

275 280 285  
Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp  
290 295 300  
Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys  
305 310 315 320  
Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser  
325 330 335  
Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro  
340 345 350

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val  
355 360 365  
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
370 375 380

<210> 81

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 81

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

1                      5                      10                      15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
  
                     20                      25                      30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
                     35                      40                      45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
                     50                      55                      60  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
                     65                      70                      75                      80  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
                     85                      90                      95  
  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
                     100                      105                      110  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
                     115                      120                      125  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
                     130                      135                      140  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
                     145                      150                      155                      160  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
  
                     165                      170                      175  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
                     180                      185                      190  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
                     195                      200                      205  
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
                     210                      215                      220  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
                     225                      230                      235                      240  
  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
                     245

<210> 82

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205



Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 210 215 220  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 225 230 235 240  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 245 250 255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 260 265 270  
 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu  
 275 280 285  
 His Thr Val Asn Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val  
 290 295 300  
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro  
 305 310 315 320  
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu  
 325 330 335  
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala  
 340 345 350  
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 370 375 380  
 <210> 83  
 <211> 249  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 83  
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 84

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 84

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
180 185 190

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
195 200 205

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
210 215 220

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

225                      230                      235                      240  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
                          245                      250                      255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
                          260                      265                      270  
 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu  
                          275                      280                      285  
 His Thr Val Arg Ala Asn Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val  
                          290                      295                      300

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

370                      375                      380

<210> 85  
 <211> 249  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 85

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

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

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

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

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

245

<210> 86

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 86

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

1                      5                      10                      15  
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
                          20                      25                      30  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
                          35                      40                      45  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
                          50                      55                      60  
  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65                      70                      75                      80  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
                          85                      90                      95  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
                          100                      105                      110  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
                          115                      120                      125  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
  
 130                      135                      140  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
 145                      150                      155                      160  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
                          165                      170                      175  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
                          180                      185                      190  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
                          195                      200                      205  
  
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 210                      215                      220  
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
                          245                      250                      255  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

260 265 270  
Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu

275 280 285  
His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val

290 295 300  
Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro

305 310 315 320  
Ser Gln Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu

325 330 335  
His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

<210> 87

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 88

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30



Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

245 250 255

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

260 265 270

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu

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

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

<210> 89

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 89

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

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

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

210 215 220  
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
225 230 235 240  
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 90

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 90

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45

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

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

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

370                      375                      380

<210>    91  
 <211>    249  
 <212>    PRT  
 <213>    Artificial Sequence  
 <220><223>    synthetic polypeptide sequence  
 <400>    91

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

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

115                      120                      125

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

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

<210> 92

<211> 383

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 92

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

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 65 70 75 80

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

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala  
340 345 350

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser  
355 360 365

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
370 375 380

<210> 93

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 93

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
35 40 45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
50 55 60

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
100 105 110

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
115 120 125

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
145 150 155 160



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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

<210> 94

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 94

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 95

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 95

Ala Arg Asn Gly Asp His

1 5

<210> 96

<211> 8

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 96  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 1 5  
 <210> 97  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 97  
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro  
 1 5  
  
 <210> 98  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 98  
 Ala Pro Ala Leu Leu Gly Gly Pro  
 1 5  
 <210> 99  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <400> 99  
 Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro  
 1 5  
 <210> 100  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 100

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

1 5 10 15

<210> 101

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 101

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 102

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 103

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 104  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5 10

<210> 105  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 105  
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5

<210> 106  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 106  
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5

<210> 107  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 107  
 Cys Pro Pro Cys Pro  
 1 5

<210> 108  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 108

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

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala  
115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile  
130

<210> 109

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 109

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

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

100 105 110  
Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala  
115 120 125  
Lys Asp Cys His Cys Ile

130  
<210> 110  
<211> 134  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 110

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15  
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly

20 25 30  
Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp  
35 40 45  
Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr  
50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Asn Ala Thr Asn Met His  
65 70 75 80  
Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro  
85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln  
100 105 110  
Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala  
115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210> 111

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 111

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210> 112

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 112

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

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

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

<210> 113

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 113

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



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

65                      70                      75                      80  
Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro

85                      90                      95  
Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Asn

100                      105                      110  
Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala

115                      120                      125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210> 114

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 114

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

1                      5                      10                      15

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

20                      25                      30

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

35                      40                      45

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

50                      55                      60

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

65                      70                      75                      80  
Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro

85                      90                      95

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

100                      105                      110

Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala

115                                      120                                      125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210>      115

<211>      134

<212>      PRT

<213>      Artificial Sequence

<220><223>      synthetic polypeptide sequence

<400>      115

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

1                                      5                                      10                                      15

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

20                                      25                                      30

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

35                                      40                                      45

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

50                                      55                                      60

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

65                                      70                                      75                                      80

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

85                                      90                                      95

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

100                                      105                                      110

Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala

115                                      120                                      125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210>      116

<211>      134

<212>      PRT

<213>      Artificial Sequence

<220><223>      synthetic polypeptide sequence

<400> 116

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys Thr Asp Thr Asn Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala

115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210> 117

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

100 105 110  
Lys Thr Asp Thr Gly Val Asn Leu Thr Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala  
115 120 125  
Lys Asp Cys His Cys Ile

130  
<210> 118  
<211> 134  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> synthetic polypeptide sequence  
<400> 118

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
1 5 10 15  
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly

20 25 30  
Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp  
35 40 45  
Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr  
50 55 60  
Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His  
65 70 75 80  
Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro  
85 90 95

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

115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile

130

<210> 119

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 119

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

1 5 10 15

Thr

<210> 120

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(5)

<223> this stretch of amino acids may be repeated up to 50 times

<400> 120

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)

<223> this amino acid may be repeated up to 20 times

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(5)  
 <223> this stretch of amino acids may be repeated up to 20 times  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (2)  
 <223> this amino acid may be repeated up to 20 times  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (3)  
 <223> this amino acid may be repeated up to 20 times  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (4)  
 <223> this amino acid may be repeated up to 20 times  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (5)  
 <223> this amino acid may be repeated up to 20 times  
 <400> 121  
 Gly Ser Gly Ser Gly

1 5  
 <210> 122  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> synthetic polypeptide sequence  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (1)..(5)  
 <223> this stretch of amino acids may be repeated up to 20 times  
 <220><221> UNSURE  
 <222> (5)  
 <223> this amino acid may be repeated up to 20 times  
 <400> 122  
 Gly Ser Gly Gly Ser  
 1 5  
 <210> 123  
 <211> 5  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(5)

<223> this stretch of amino acids may be repeated up to 20 times

<220><221> UNSURE

<222> (2)

<223> this amino acid may be repeated up to 20 times

<400> 123

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 124

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(4)

<223> this stretch of amino acids may be repeated up to 20 times

<220><221> UNSURE

<222> (4)

<223> this amino acid may be repeated up to 20 times

<400> 124

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 125

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(4)

<223> this stretch of amino acids may be repeated up to 50 times

<400> 125

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<220><221> UNSURE

<222> (1)..(5)

<223> this stretch of amino acids may be repeated up to 50 times

<400> 126

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 127

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 127

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala 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 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 130 135 140  
 Leu Trp 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> 128

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400

> 128

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 129

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 130

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 130

Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr  
1 5 10 15

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

20 25 30  
Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln  
35 40 45

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

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr  
65 70 75 80

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

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
100 105

<210> 131

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 131

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr  
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45  
Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg  
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr  
65 70 75 80

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

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

100

105

<210> 132

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 132

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

<210> 133

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 133

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45

Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg

50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 134

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 134

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 135

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 135

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr

65 70 75 80

Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln

85 90 95

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

100 105

<210> 136

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence

<400> 136

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr  
 65                                70                                75                                80  
 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln  
 85                                90                                95  
 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile  
 100                                105