(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월25일
(11) 등록번호 10-2708864
(24) 등록일자 2024년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/26 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/26 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7014250(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년08월29일
심사청구일자 2023년05월09일
(85) 번역문제출일자 2023년04월26일
(65) 공개번호 10-2023-0062673
(43) 공개일자 2023년05월09일
(62) 원출원 특허 10-2019-7008021
원출원일자(국제) 2017년08월29일
심사청구일자 2020년08월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/049137
(87) 국제공개번호 WO 2018/044903
국제공개일자 2018년03월08일
(30) 우선권주장
62/381,263 2016년08월30일 미국(US)
62/411,032 2016년10월21일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140009264 A*
WO2012071372 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777
(72) 발명자
그로마다 제스퍼
미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
오카모토 하루카
미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 33 항 심사관 : 김미화

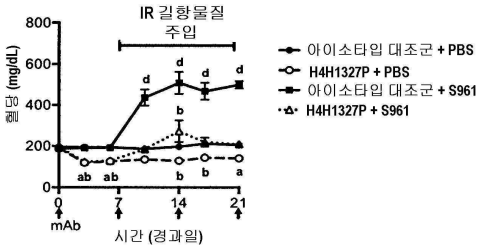
(54) 발명의 명칭 **글루카곤 수용체 신호전달을 간섭함에 의한 중증 인슐린 저항성의 치료 방법**

(57) 요 약

본원에는 중증 인슐린 저항성을 가진 환자의 치료 방법이 제공된다. 이 방법은 치료를 필요로 하는 환자에게 GCG/GCGR 신호전달 경로 억제제의 치료량을 투여하여서, 혈당 또는 베타-하이드록시부티레이트 수준이 저하되거나 또는 중증 인슐린 저항성이 중재되거나, 또는 중증 인슐린 저항성을 특징으로 하는 질병 또는 질환이 중재되

(뒷면에 계속)

대 표 도



도 1A

거나, 또는 그 질변 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 완화되거나 중증도가 감소하도록 하는 단계를 포함한다. GCG/GCGR 신호전달 경로 억제제는 신호전달 경로의 소분자 억제제, 신호전달 경로의 안티센스 억제제, GCG 중화 단클론성 항체, GCGR 길항물질, 신호전달 경로의 펩타이드 억제제, DARPin, 스피에겔머, 압타머, 엔지니어링된 Fn 타입-III 도메인, 등일 수 있다. 치료 방법은 중증 인슐린 저항성을 앓는 인간을 치료하는 데 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61P 3/10 (2018.01)

C07K 16/28 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/507 (2013.01)

A61K 2039/54 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/56 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

(72) 발명자

제스퍼스 스티븐

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

하프 조이스

미국 뉴욕 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자에서 혈당 수준 또는 케톤체의 수준을 저하시키기 위한 글루카곤 수용체 (GCGR) 길항물질을 포함하는 제약학적 조성물로서, 조성물은 환자에게 치료적 유효량으로 투여되며;

GCGR 길항물질은

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

SIR 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 2

제1 항에 있어서, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자는 B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 및 바르데-비들 증후군으로 구성되는 군으로부터 선택된 질병 또는 질환을 앓는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 3

제1 항에 있어서, 환자 혈청에 인슐린 분해 프로테아제 활성이 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 4

제1 항에 있어서, 환자 혈청에 중화 항-인슐린 항체 또는 항-인슐린 수용체 항체가 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 5

제1 항에 있어서, 조성물은 인슐린과 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 6

제1 항에 있어서, 조성물은 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 환자에게 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적

조성물.

청구항 7

제6 항에 있어서, 적어도 하나의 추가 치료제는 인슐린, 비구아니드, hIGF1, 렙틴, 피오글리타존, 빌다글립틴, 아카보즈, L-아르기닌, 트라이-요오드티로닌, 설포닐우레아, 메글리티니드, 티아졸리딘다이온 및 로시글리타존으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 8

제1 항에 있어서, GCGR 길항물질은 분리된 인간 단클론성 항체인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 9

제8 항에 있어서, 분리된 항체 또는 그것의 항원 결합 단편은

SEQ ID NO: 86에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR); 및

SEQ ID NO: 88에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 10

제1 항에 있어서, 케톤체는 베타-하이드록시부티레이트인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 11

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자를 치료하기 위한, GCGR 길항물질을 포함하는 제약학적 조성물로서,

GCGR 길항물질은

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

SIR 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 12

제11 항에 있어서, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자는 B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 및 바르데-비들 증후군으로 구성되는 군으로부터 선택된 질병 또는 질환을 앓는 것을 특징으로 하는 제약학

적 조성물.

청구항 13

제11 항에 있어서, 환자 혈청에 인슐린 분해 프로테아제 활성이 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 14

제11 항에 있어서, 환자 혈청에 중화 항-인슐린 항체 또는 항-인슐린 수용체 항체가 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 15

제11 항에 있어서, 조성물은 인슐린과 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 16

제11 항에 있어서, 조성물은 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 환자에게 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 17

제16 항에 있어서, 적어도 하나의 추가 치료제는 인슐린, 비구아니드, hIGF1, 렙틴, 피오글리타존, 빌다글립틴, 아카보즈, L-아르기닌, 트라이-요오드티로닌, 설포닐우레아, 메글리티니드, 티아졸리딘다이온 및 로시글리타존으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 18

제10 항에 있어서, GCGR 길항물질은 분리된 인간 단클론성 항체인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 19

제18 항에 있어서, 분리된 인간 단클론성 항체는

SEQ ID NO: 86에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR); 및

SEQ ID NO: 88에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 20

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자를 치료하는데 필요한 인슐린의 양 또는 투여량을 감소시키기 위한, GCGR 길항물질을 포함하는 제약학적 조성물로서,

GCGR 길항물질은

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

SIR 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 21

제20 항에 있어서, 조성물은 인슐린과 동시에 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 22

제20 항에 있어서, 인슐린의 양 또는 투여량은 30% 내지 95% 감소되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 23

제20 항에 있어서, 인슐린의 양 또는 투여량은 90% 감소되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 24

제20 항에 있어서, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자는 B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 및 바르데-비들 증후군으로 구성되는 군으로부터 선택된 질병 또는 질환을 앓는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 25

제20 항에 있어서, 환자 혈청에 인슐린 분해 프로테아제 활성이 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 26

제20 항에 있어서, 환자 혈청에 중화 항-인슐린 항체 또는 항-인슐린 수용체 항체가 있는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 27

제20 항에 있어서, 조성물은 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 환자에게 투여되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 28

제27 항에 있어서, 적어도 하나의 추가 치료제는 비구아니드, hIGF1, 렙틴, 피오글리타존, 빌다글립틴, 아카보즈, L-아르기닌, 트라이-요오드티로닌, 설포닐우레아, 메글리티니드, 티아졸리딘다이온 및 로시글리타존으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 29

제20 항에 있어서, GCGR 길항물질은 분리된 인간 단클론성 항체인 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 30

제29 항에 있어서, 분리된 항체는

SEQ ID NO: 86에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR); 및

SEQ ID NO: 88에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하는 것을 특징으로 하는 제약학적 조성물.

청구항 31

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자에서 베타-하이드록시부티레이트 수준을 저하시키기 위한 GCGR 신호전달의 억제제를 포함하는 제약학적 조성물로서, 조성물은 환자에게 치료적 유효량으로 투여되며;

GCGR 신호전달의 억제제는

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

SIR 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 32

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자에서 간의 글루코오스 생산을 억제하기 위한 GCGR 신호전달의 억제제를 포함하는 제약학적 조성물로서, 조성물은 환자에게 치료적 유효량으로 투여되며;

GCGR 신호전달의 억제제는

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

SIR 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 33

중증 인슐린 저항성(SIR) 증후군을 가진 환자에서 β-세포량을 증가시켜 인슐린 분비를 증가시키기 위한 GCGR 신호전달의 억제제를 포함하는 제약학적 조성물로서, 조성물은 환자에게 치료적 유효량으로 투여되며;

GCGR 신호전달의 억제제는

3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR)으로서, HCDR1은 SEQ ID NO: 72에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR2는 SEQ ID NO: 74에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, HCDR3은 SEQ ID NO: 76에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, HCVR; 및

3개의 경쇄 상보성 결정 영역들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)으로서, LCDR1은 SEQ ID NO: 80에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR2는 SEQ ID NO: 82에 나타낸 아미노산 서열을 갖고, LCDR3은 SEQ ID NO: 84에 나타낸 아미노산 서열을 갖는, LCVR

을 포함하는 분리된 항-GCGR 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이고;

중증 인슐린 저항성 증후군을 가진 환자는 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 특징을 특징으로 하고,

하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 받고;

50-70 μU/mL를 넘는 공복 인슐린 수준을 갖고;

350 μU/mL를 넘는 피크 인슐린 수준을 갖고;

$2x10^4$ μU/mL.min 미만의 인슐린 민감성 지수 값을 갖고;

2 mg/kg.min 아래의 글루코오스 이용률을 갖고,

SIR은 *INSR*의 유전적 변종에 의해 야기되고, 여기서 변종은 비활성 돌연변이이며, SIR을 가진 환자는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, 또는 A형 인슐린 저항성을 앓는 것인, 제약학적 조성물.

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

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

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 중증 인슐린 저항성을 치료하거나 진행을 둔화시키기 위하여 글루카곤 (GCG) 억제제 또는 글루카곤 수용체 (GCGR) 길항물질을 사용하는 방법, 및/또는 그것을 필요로 하는 환자에서 치료적 인슐린 용량을 감소시키는 방법에 관한 것이다.

[0002] 서열 목록

[0003] 서열 목록의 공식적인 사본이 2017년 8월 25일에 생성되고, 약 116 킬로바이트의 크기의, 10282WO01_SEQ_LIST_ST25의 파일명으로 ASCII 포맷화된 서열 목록으로서 EFS-Web을 통해 전자 명세서와 동시에 제출된다. 이 ASCII 포맷화된 문서에 함유된 서열 목록은 명세서의 일부이며 그 전문이 참조로 본원에 포함된다.

배 경 기 술

[0004] 글루카곤은 29개 잔기의 폴리펩타이드 호르몬으로, 인슐린과 협력하여, 혈당의 양의 항상성 조절을 매개한다. 글루카곤은 정상 혈당 수준을 유지하기 위하여 혈당 수준이 떨어졌을 때 글루코오스를 방출하도록 특정 세포, 예를 들어, 간세포를 자극함으로써 주로 작용한다. 글루카곤의 작용은 인슐린의 작용과 반대인데, 혈당 수준이 상승하면 언제나 글루코오스를 흡수하고 저장하도록 세포를 자극한다. 글루카곤은 췌장의 알파 세포에서 생성되는 반면, 인슐린은 인접한 베타 세포로부터 분비된다.

[0005] 여러 질환, 예컨대 당뇨병 및 당뇨병성 케톤산증(diabetic ketoacidosis)에서 중요한 역할을 할 수 있는 것은 바로 글루카곤 및 인슐린의 불균형이다. 특히, 더 높은 수준의 기저 글루카곤 및 식후의 글루카곤 분비의 억제 결핍은 인간에서 당뇨병성 질병의 원인이 되는 것으로 연구 결과 밝혀졌다 (Muller et al. (1970), N Eng J Med, 283: 109-115).

[0006] 혈당 수준을 상승시키는 데 미치는 글루카곤의 영향은 부분적으로는 글루카곤 (GCG)이 그것의 수용체 (GCGR로 나타냄)에 결합한 후에 특정 세포의 경로의 활성화에 의해 중재되는 것으로 여겨진다. GCGR은 G-단백질-결합 수용체의 세크레틴(secretin) 하위패밀리 (패밀리 B)의 구성원이고 대부분 간에서 발현된다. 글루카곤의 그것의 수용체에의 결합은 G-단백질 신호 변환 캐스케이드를 촉발시키고, 세포내 고리형 AMP를 활성화하며 새로운(de novo) 합성 (글루코오스 신생합성) 및 글리코겐 파괴 (글리코겐 분해)를 통해 글루코오스 생산의 증가를 유발한다 (Wakelam et al., (1986) Nature, 323:68-71; Unson et al., (1989) Peptides, 10:1171-1177; 및 Pittner

and Fain, (1991) Biochem. J., 277:371-378).

[0007] 글루카곤의 작용은 본원에서 기술되는 바와 같이, 길항물질, 예컨대 소분자 억제제, GCG 항체, 또는 GCGR 항체를 제공함으로써 억제될 수 있다. 항-GCG 항체들은, 예컨대 미국 특허 번호 4,206,199; 4,221,777; 4,423,034; 4,272,433; 4,407,965; 5,712,105; 및 PCT 공보 WO2007/124463 및 WO2013/081993에서 언급된다. 항-GCGR 항체들은 미국 특허 번호 5,770,445, 7,947,809, 및 8,545,847; 유럽 특허 출원 EP2074149A2; 유럽 특허 EP0658200B1; 미국 특허 출원 공보 2009/0041784; 2009/0252727; 및 2011/0223160; 및 PCT 공보 WO2008/036341에서 기술된다. GCG 또는 GCGR의 소분자 억제제는 예컨대 WO 07/47676; WO 06/86488; WO 05/123688; WO 05/121097; WO 06/14618; WO 08/42223; WO 08/98244; WO 2010/98948; US 20110306624; WO 2010/98994; WO 2010/88061; WO 2010/71750; WO 2010/30722; WO 06/104826; WO 05/65680; WO 06/102067; WO 06/17055; WO 2011/07722; 또는 WO 09/140342에서 언급된다.

[0008] 중증 인슐린 저항성 증후군은 환자들이 인슐린에 잘 반응하지 않는 희귀한 대사 장애이다. 중증 인슐린 저항성 증후군에 대해 활용할 수 있는 현재의 치료로는 적당한 혈당 조절을 제공하기 위한 시도로 정규적인 급식 및 초고용량의 인슐린을 포함한다. IGF-I의 투여는, 단기적으로는 효과적인 한편, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자들에게서 장기간 혈당 조절을 제공하지 못하였다. Vestergaard et al., (1997) European Journal of Endocrinology, 136:475-482. 재조합 렙틴(recombinant leptin)의 투여는 랍슨-멘덴할 증후군 (Rabson-Mendenhall syndromee, RMS)을 가진 환자에게서 여러 달에 걸쳐 혈당 수준을 감소시킴으로써 약간의 성공을 나타냈다. Cochran et al., (2004) Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 89:1548-1554.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 중증 인슐린 저항성 질환을 치료하기 위해, 또는 그 질환의 진행을 둔화시키기 위해, 즉, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자의 생명을 연장시키고 및/또는 환자의 삶의 질을 개선시키기 위해 효율적인 치료법이 없다는 전제 하에, 이런 질환을 치료하기 위한 다른 작용제들, 예컨대 본원에서 기술되는 GCG/GCGR 신호전달 경로 억제제 및 길항물질의 사용을 확인하고 탐색할 필요가 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본원에는 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질, 예컨대 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질을 포함하는 제약학적 조성물을 투여함으로써, 중증 인슐린 저항성을 특징으로 하는 질병 또는 질환을 가진 환자의 치료 방법이 제공된다. GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 글루카곤 수용체 신호전달 경로를 차단하거나 억제할 수 있는 화합물이다. 길항물질은 소분자 억제제, 펩타이드 억제제, CRISPR 기술 (규칙적인 간격을 갖는 짧은 회문구조 반복단위의 서열; CRISPR 기술은 GCGR 녹다운 또는 GCGR 활성에 영향을 영향을 미치는 조절 서열의 결실을 유발할 수 있다), 안티센스 억제제, DARPin, 및 GCG 또는 GCGR 중화 단클론성 항체의 형태를 가질 수 있다. GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 단독으로, 제약학적 조성물로, 또는 중증 인슐린 저항성과 관련된 질병 또는 질환을 치료하기에, 또는 중증 인슐린 저항성과 관련된 질병 또는 질환을 가진 환자에서 혈당 및/또는 케톤을 저하시키는 데 유용한 하나 이상의 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0011] 일부 구체예에서, 혈당 수준 및/또는 베타-하이드록시부티레이트 수준을 저하시키기 위한, 또는 케톤혈증 및/또는 케톤산증을 감소시키기 위한, 또는 고 혈당 및/또는 케톤혈증 및/또는 케톤산증과 관련된, 또는 부분적으로 그것을 특징으로 하는 질병 또는 질환을 치료하기 위한, 또는 그 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하기 위한 방법들이 제공된다. 일부 측면으로, 방법은 중증 인슐린 저항성을 가진 환자에게 GCG/GCGR 신호전달의 억제제를 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여하여서, 혈당 또는 베타-하이드록시부티레이트 수준이 저하되거나 또는 질병 또는 질환이 중재되거나, 또는 그 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 완화되거나 중증도가 감소되도록 하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, GCGR 신호전달의 억제제는 GCGR 길항물질, 예컨대 항-GCGR 항체이다. 일부 구체예에서, 항-GCGR 항체는 SEQ ID NO: 86/88의 HCVR/LCVR 서열 쌍을 가진다. 일부 구체예에서, GCGR 신호전달의 억제제는 GCG 억제제, 예컨대 항-GCG 항체이다. 일부 구체예에서, 항-GCG 항체는 SEQ ID NO: 182/190의 HCVR/LCVR 서열 쌍을 가진다. 일부 구체예에서, 항-GCG 항체는 SEQ ID NO: 166/174의 HCVR/LCVR 서열 쌍을 가진다.

[0012] 일부 측면으로, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자를 치료하는 방법이 제공되는데, 이때 환자는 상승된 수준의 혈당을 나타낸다. 그 방법은 환자에게 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질을 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여

하는 단계를 포함한다.

[0013] 일부 측면으로, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자를 치료하는 방법이 제공되는데, 이때 환자는 상승된 수준의 혈당을 나타내지 않는다. 그 방법은 환자에게 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질을 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0014] 일부 구체예에서, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자를 치료하기 위해 필요한 인슐린의 양 및/또는 투여량을 감소시키는 방법이 제공되는데, 이때 환자는 중증 인슐린 저항성 및/또는 상승된 수준의 혈당을 나타낸다. 일부 측면으로, 방법은 환자에게 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질을 포함하는 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 측면으로, GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 인슐린과 함께 투여된다. 인슐린의 양 및/또는 투여량은 GCGR에 특이적으로 결합하는 분리된 인간 단클론성 항체와 함께 투여될 때, 약 30% 내지 약 95%, 또는 약 90% 만큼 감소될 수 있다.

[0015] 일부 측면으로, GCGR 길항물질은 항-GCGR 항체일 수 있다. 항-GCGR 항체는 GCGR을 억제 또는 길항할 수 있다. 항-GCGR 항체는 GCGR 신호전달 경로를 억제 또는 차단할 수 있다. 일부 측면으로, GCG 억제제는 항-GCG 항체일 수 있다. 항-GCG 항체는 GCGR에 대한 GCG의 결합을 억제할 수 있다.

[0016] 특정 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 hGCGR에 특이적으로 결합하고, SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/68, 70/78, 86/88, 90/98, 106/108, 110/118, 126/128, 130/138 및 146/148로 구성되는 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 서열 쌍 내에 함유된 중쇄 및 경쇄 CDR 도메인을 포함한다.

[0017] 특정 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 86/88의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 중쇄 및 경쇄 CDR 도메인을 포함한다.

[0018] 특정 구체예에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 86/88의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0019] 한 구체예에서, hGCGR에 결합하는 인간 항체 또는 인간 항체의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 70, 86, 90, 106, 110, 126, 130 및 146으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 중쇄 가변 영역 (HCVR)을 포함한다.

[0020] 한 구체예에서, hGCGR에 결합하는 인간 항체 또는 인간 항체의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 68, 78, 88, 98, 108, 118, 128, 138 및 148로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함한다.

[0021] 특정 구체예에서, hGCGR에 결합하는 인간 항체 또는 그것의 단편은 SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/68, 70/78, 86/88, 90/98, 106/108, 110/118, 126/128, 130/138, 및 146/148로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0022] 특정 구체예에서, hGCGR에 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 70, 86, 90, 106, 110, 126, 130 및 146으로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 HCVR; 및/또는 SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 68, 78, 88, 98, 108, 118, 128, 138 및 148로 구성되는 군으로부터 선택된 LCVR 서열 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0023] 특정 구체예에서, 본원에 제공된 방법들은 SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 76, 96, 116 및 136으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR3 도메인; 및/또는 SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 84, 104, 124 및 144로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함하는 hGCGR에 결합하는 분리된 인간 항체 또는 그것의 항원-결합 단편의 사용을 고려한다.

[0024] 한 구체예에서, 본원에 제공된 방법들은 SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 72, 92, 112 및 132로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 74, 94, 114 및 134로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 80, 100,

120 및 140으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 82, 102, 122 및 142로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 가지는 LCDR2 도메인을 추가로 포함하는 항체 또는 그것의 단편의 사용을 고려한다.

[0025] 한 구체예에서, 항체 또는 항체의 항원-결합 단편은:

[0026] (a) SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 76, 96, 116 및 136으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR3 도메인; 및

[0027] (b) SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 84, 104, 124 및 144로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0028] 관련된 구체예에서, 항체 또는 항체의 항원-결합 단편은 추가로:

[0029] (c) SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 72, 92, 112 및 132로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR1 도메인;

[0030] (d) SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 74, 94, 114 및 134로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR2 도메인;

[0031] (e) SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 80, 100, 120 및 140으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR1 도메인; 및

[0032] (f) SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 82, 102, 122 및 142로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR2 도메인을 포함한다.

[0033] 한 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 72, 92, 112 및 132로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 74, 94, 114 및 134로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 76, 96, 116 및 136으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR3 도메인을 포함하는 HCVR; 및 SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 80, 100, 120 및 140으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR1 도메인; SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 82, 102, 122 및 142로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR2 도메인; 및 SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 84, 104, 124 및 144로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함하는 LCVR을 포함한다.

[0034] 특정 구체예에서, 인간 GCGR에 결합하는 인간 항체 또는 인간 항체의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 76/84, 86/88, 96/104, 116/124 및 136/144로 구성되는 군으로부터 선택된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 이러한 HCDR3/LCDR3 쌍을 가지는 항-GCGR 항체들의 비제한적 실례는 각각 H4H1345N, H4H1617N, H4H1765N, H4H1321B 및 H4H1321P, H4H1327B 및 H4H1327P, H4H1328B 및 H4H1328P, H4H1331B 및 H4H1331P, H4H1339B 및 H4H1339P로 지정된 항체들이다.

[0035] 한 구체예에서, 본원에 제공된 방법에 따라 유용한, GCG에 특이적으로 결합하고 GCG와 관련된 적어도 하나의 활성을 중화시키는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은: (a) SEQ ID NO: 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278 및 294로 구성되는 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 (b) SEQ ID NO: 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286 및 302로 구성되는 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.

[0036] 일부 구체예에서, GCG에 특이적으로 결합하고 GCG와 관련된 적어도 하나의 활성을 중화시키는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, SEQ ID NO: 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278 및 294로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCVR 및 SEQ ID NO: 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286 및 302로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCVR을 포함한다.

[0037] 일부 구체예에서, GCG에 특이적으로 결합하고 GCG와 관련된 적어도 하나의 활성을 중화시키는 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은, SEQ ID NO: 150/158; 166/174; 182/190; 198/206; 214/222; 230/238; 246/254; 262/270; 278/286 및 294/302로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0038] 일부 구체예에서, HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍은 SEQ ID NO: 166/174를 포함한다.

[0039] 일부 구체예에서, HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍은 SEQ ID NO: 182/190을 포함한다.

[0040] 한 구체예에서, 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은:

[0041] (a) SEQ ID NO: 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 및 296으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR1 도메인;

[0042] (b) SEQ ID NO: 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 및 298로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR2 도메인;

[0043] (c) SEQ ID NO: 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 및 300으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 HCDR3 도메인;

[0044] (d) SEQ ID NO: 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 및 304로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR1 도메인;

[0045] (e) SEQ ID NO: 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 및 306으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR2 도메인; 및

[0046] (f) SEQ ID NO: 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 및 308로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 가지는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0047] 한 구체예에서, 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 분리된 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은:

[0048] (a) SEQ ID NO: 168의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 도메인;

[0049] (b) SEQ ID NO: 170의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 도메인;

[0050] (c) SEQ ID NO: 172의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 도메인;

[0051] (d) SEQ ID NO: 176의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 도메인;

[0052] (e) SEQ ID NO: 178의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 도메인; 및

[0053] (f) SEQ ID NO: 180의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0054] 한 구체예에서, 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은:

[0055] (a) SEQ ID NO: 184의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 도메인;

[0056] (b) SEQ ID NO: 186의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 도메인;

[0057] (c) SEQ ID NO: 188의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 도메인;

[0058] (d) SEQ ID NO: 192의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 도메인;

[0059] (e) SEQ ID NO: 194의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 도메인; 및

[0060] (f) SEQ ID NO: 196의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0061] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 HCDR1 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 (HCDR1)을 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다.

[0062] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 HCDR2 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 (HCDR2)를 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다.

[0063] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 HCDR3 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 (HCDR3)을 포함하는 항체들 또는 그것들

의 항원-결합 단편들이다.

[0064] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 LCDR1 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 (LCDR1)을 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다.

[0065] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 LCDR2 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 (LCDR2)를 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다.

[0066] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 LCDR3 아미노산 서열들 중 어느 것으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 가지는 그것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 (LCDR3)을 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다.

[0067] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 LCDR3 아미노산 서열들 중 임의의 것과 쌍을 이룬 본원에 제공된 HCDR3 아미노산 중 임의의 것을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍 (HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다. 특정 구체예에 따르면, 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들은 본원에 제공된 예시적인 항-GCG 항체들 중 임의의 것 내에 함유된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 특정 구체예에서, HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍은 SEQ ID NO: 172/180을 포함한다.

[0068] 또한 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 GCG에 특이적으로 결합하고, 본원에 제공된 예시적인 항-GCG 항체들 중 임의의 것 내에 함유된 6개의 CDR의 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들이다. 특정 구체예에서, HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 아미노산 서열 세트는 SEQ ID NO: 168/170/172/176/178/180을 포함한다. 특정 구체예에서, HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 아미노산 서열 세트는 SEQ ID NO: 184/186/188/192/194/196을 포함한다.

[0069] 관련된 구체예에서, GCG에 특이적으로 결합하는 항체들, 또는 그것들의 항원-결합 단편들은 본원에 제공된 예시적인 항-GCG 항체들 중 임의의 것에 의해 정의되는 것과 같이 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 6개의 CDR의 세트 (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함한다. 예를 들어, GCG에 특이적으로 결합하는 항체들 또는 그것들의 항원-결합 단편들은 166/174; 182/190; 198/206; 214/222; 230/238; 246/254; 262/270; 278/286 및 294/302로 구성되는 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 아미노산 서열 세트를 포함한다.

[0070] GCG에 특이적으로 결합하고 상기 제공된 CDR 서열들을 포함하는 항체들의 비제한적인 실례로는 H1H059P, H4H10223P, H4H10231P, H4H10232P, H4H10236P, H4H10237P, H4H10238P, H4H10250P, H4H10256P, 및 H4H10270P를 들 수 있다.

[0071] HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 확인하기 위한 방법 및 기법들은 당업계에 잘 알려져 있고 본원에 개시된 명시된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하기 위해 사용될 수 있다. CDR의 경계를 확인하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 관례들로는, 예컨대 Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 들 수 있다. 일반적으로, Kabat 정의는 서열 가변성을 기반으로 하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기반으로 하며, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법 사이의 절충이다. 예컨대 Kabat, (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md.; Al-Lazikani et al., (1997) J. Mol. Biol. 273:927-948; 및 Martin et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 참조. 공공 데이터베이스 또한 항체 내 CDR 서열들을 확인하기 위해 이용될 수 있다.

[0072] 일부 구체예에서, 중증 인슐린 저항성을 가진 환자는 다음으로부터 선택된 질병 또는 질환 중 하나를 앓을 수 있다: 도노휴 증후군(Donohue syndrome), 랍슨-멘덴할 증후군, A형 인슐린 저항성, B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증(hyperandrogenism), 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증 (acanthosis nigricans) 증후군, 가짜말단비대증(pseudoacromegaly), 알스트롬 증후군(Alstrom syndrome), 근긴장성 이영양증(myotonic dystrophy), 베르너 증후군(Werner's syndrome), 지방이영양증(lipodystrophy), 간경변(cirrhosis), 단일인자병적 비만(monogenic morbid obesity), 고전구인슐린혈증(hyperproinsulinemia), 카르복시펩티다제 E 결핍증

(carboxypeptidase E deficiency), 결핍성 아르기닌 대사(defective arginine metabolism), 바르데-비들 증후군(Bardet-Biedl syndrome), 및 중증 인슐린 저항성을 유발하는 것으로 보고된 하나 이상의 유전자 변종의 존재와 관련된 질병 또는 질환. 일부 구체예에서, 인슐린 분해 프로테아제 활성은 환자의 혈청에서 검출된다. 일부 구체예에서, 중화 항-인슐린 항체들 또는 항-인슐린 수용체 항체들은 환자의 혈청에서 검출된다. 일부 환자에게서, 중증 인슐린 저항성은 지방이영양증으로 이어지는 지방 세포의 자가면역 파괴의 맥락에서 발생한다.

[0073] 일부 측면으로, 중증 인슐린 저항성과 관련된 유전자 변종은 다음으로부터 선택된다: *INSR*, *PSMD6*, *ADRA2A*, *AGPAT2* (지방이영양증 및 인슐린 저항성과 관련됨), *AKT2*, *APPL1*, *BBS1* (바르데-비들 증후군 1과 관련됨), *BSCL2*, *CIDEC*, *GRB10*, *IRS2*, *KLF14*, *LEP*, *LEPR*, *LMNA* (지방이영양증과 관련됨), *MC4R*, *PCNT*, *PIK2CA*, *POLD1* (지방이영양증과 관련됨), *PPARG*, *PTPRD*, *PTRF* (지방이영양증과 관련됨), *RASGRP1*, *TBC1D4*, 및 *TCF7L2*.

[0074] 일부 측면으로, 글루카곤/GCGR 길항물질을 포함하는 조성물은 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 환자에게 투여된다. 추가의 치료제는 중증 인슐린 저항성과 관련된 증상들 및 신호들을 완화 또는 감소시키는 임의의 작용제일 수 있다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 추가 치료제는 다음으로부터 선택된다: 인슐린, 비구아니드(biguanide), hIGF1, 렙틴(leptin), 메트라렙틴(metraleptin), 피오글리타존(pioglitazone), 빌다글립틴(vildagliptin), 아카보즈(acarbose), 알파-글리코시다제 억제제, L-아르기닌, 다이펩티딜-펩티다제-4 억제제, 인슐린 분비 촉진제, (secretagogues), 아밀린 수용체 작용물질(agonist), 인슐린 감작제(sensitizer), FGF21, SGLT2 억제제, SGLT1 억제제, GLP-1 수용체 작용물질, GLP-1 수용체 활성화제, 제 2 GCG 억제제, 및 제 2 GCGR 길항물질. 일부 측면으로, 인슐린 분비 촉진제는 설포닐우레아, ATP-민감성 K 채널 길항물질, 및 메글리티니드(meglitinides)로부터 선택된다. 일부 측면으로, 인슐린 감작제는 티아졸리딘다이온 및 로시글리타존(rosiglitazone)으로부터 선택된다. 일부 측면으로, 추가 치료제는 에너지 지출 및/또는 갈색 지방 활성을 증가시키는 작용제, 예를 들면, β3 아드레날린작용성 작용물질 (예컨대 미글리톨(miglitol)), NPR1 작용물질, NPR3 길항물질, 트라이요오드티로닌(triiodothyronine), 티아졸리딘다이온, VEGF, 이리신(Irisin), 메테오린(meteorin)-유사, 나트륨이뇨성 펩타이드(natriuretic peptides), 오렉신(orexin), 노르에피네프린, T4, 담즙산, FGF-21, 멘톨, 슬릿2-C BMP7, BMP8β, 및 FnIII 도메인-유사/Tn3 스캐폴드 (인간 테나신(tenascin) C의 제3 피브로넥틴 유형 III 도메인을 기반으로 한 결합 분자)일 수 있다.

[0075] 다른 목적 및 장점들은 이어지는 상세한 설명을 개관함으로써 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0076] 도 1A 내지 1E는 중증 인슐린 저항성의 마우스 모델에서, 혈당 수준, 인슐린 수준, 글루카곤 수준, 및 B-하이드록시부티레이트 수준, 뿐만 아니라 체중을 도시한다. 도 1A에서, 인슐린 수용체 길항물질인 S961, 및 GCGR에 대한 항체인 H4H1327P로 치료된 마우스 (개방 삼각형)가 인슐린 수용체 길항물질 및 아이소타입 (isotype) 대조군 항체로 치료된 마우스 (폐쇄 사각형)에서의 혈당 수준에 비해 혈당 수준의 상승을 나타냈다. 도 1B에서, 마우스의 S961로의 치료는 H4H1327P의 존재하에서도 (개방 삼각형), 시간 경과에 따라 인슐린 수준의 증가를 나타냈다 (폐쇄 사각형). 도 1C에서, H4H1327P로 치료된 마우스는, S961의 부재시에 (개방 원형) 또는 존재하에 (개방 삼각형), 아이소타입 대조군 치료된 (폐쇄 원형) 또는 S961 치료된 (폐쇄 사각형) 마우스보다 더 높은 수준의 글루카곤을 나타낸다. 도 1D에서, S961 및 H4H1327P로 치료된 마우스 (개방 삼각형)는 아이소타입 대조군 치료된 (폐쇄 원형) 및 항체 단독 대조군 (개방 원형)의 것과 같은 베타-하이드록시부티레이트 수준을 유지하였다. GCGR 항체의 부재시에 인슐린 수용체 길항물질로 치료된 마우스는 다른 치료군에 비해 더 높은 수준의 베타-하이드록시부티레이트 (폐쇄 사각형)를 나타냈다. 4개의 치료군 중에서 체중은 변함이 없었다. 도 1E 참조.

도 2A 내지 2F는 중증 인슐린 저항성의 마우스 모델에서, 혈당 수준, 인슐린 수준, 글루카곤 수준, B-하이드록시부티레이트 수준, 및 아미노산 수준, 뿐만 아니라 체중을 도시한다. 인슐린 수용체 길항물질 (S961) 치료는 항체 치료, H4H1327P에 선행되었고, 증가된 혈당 수준을 유발하였으며, 항체가 혈당 수준을 감소시키는 능력은 항체 치료를 개시한 날들 내에 증명되었다 (개방 삼각형). 도 2A 참조. 도 2B에서, S961로의 치료는 인슐린 수준이 상승하는 것을 유발하였고 (폐쇄 사각형), GCGR 항체인 H4H1327P로의 후속적인 치료는 인슐린 수준을 낮추지 못하였다 (개방 삼각형). 도 2C에서 알 수 있는 것과 같이, 글루카곤 수준은 H4H1327P로 치료된 마우스에서 더 높았고 (개방 원형), 항체와 S961 둘 다로 치료된 마우스에서도 여전히 높았다 (개방 삼각형). 도 2D는 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준이 S961로의 치료에 대한 반응으로 상승하였지만 (폐쇄 사각형), H4H1327P로 치료한 날들 내에서, 미치료된 대조군 및 항체 단독 대조군의 수준으로 떨어졌음을 보여준다. 도 2E는 아미노산 수준이 H4H1327P로 치료된 마우스에서 더 높았고 (개방 원형), 항체와 S961 둘 다로 치료된 마우스에서도 여전히 높았음 (개방 삼각형)을 보여준다. 체중의 변화는 관찰되지 않았다. 도 2F 참조.

도 3A 및 3B는 S961 및 H4H1327P 중 하나 또는 둘 다로 치료된 마우스로부터 얻어진 마우스의 간 샘플에 대한 웨스턴 블롯 분석의 결과를 제공한다. H4H1327P로의 치료는 마우스 간에서의 포스포에놀피루브산 카르복시키나아제 (Pepck)를 아이소타입 치료된 대조군 그룹에 비해 70% 감소시켰고, S961로의 치료는 Pepck 수준의 2.3배 증가를 유발하였다. H4H1327P로의 치료는 S961에 의해 유발된 증가된 수준을 기준선 아래 30%로 반전시켰다. 도 3A 및 3B 참조.

도 4A 내지 4D는 췌장 조직에 대한 4가지 치료 효과를 도시한다: 췌장 중량, 도 4A; 췌장 α-세포량, 도 4B; 췌장 β-세포량, 도 4C; 및 총 췌장 면적에 대한 샘(islet) 수, 도 4D. β-세포량은 S961 단독과 비교할 때 S961 및 H4H1327P의 존재하에 배가되었고 대조군 마우스보다 5.8배 증가하였다. 도 4C 참조.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0077] 본 발명의 방법이 기술되기 전에, 본 발명은 기술된 특정 방법, 및 실험적 질병에 국한되지 않는데, 그러한 방법 및 질병이 달라질 수 있다는 것이 인지되어야 한다. 또한 본원에서 사용된 용어는, 본 발명의 범주는 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 단지 특정 구체예들을 기술할 목적을 위한 것이며, 제한하기 위해 의도된 것이 아니라는 것이 인지되어야 한다.

[0078] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 것과 같이, 단일한 것을 나타내는 형태의 단어들은 맥락이 분명하게 다르게 표시하지 않는 한 복수의 대상물을 포함한다. 그러므로, 예를 들어, "방법"에 대한 언급은 하나 이상의 방법, 및/또는 본원에 기술된 및/또는 본 개시를 읽을 때 당업자들에게 분명해질 유형의 단계들 등을 포함한다.

[0079] 다르게 정의되지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적이고 과학적인 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야의 통상적인 지식을 가진자에 의해 일반적으로 인지되는 것과 같은 의미를 가진다. 비록 본원에 기술된 것들과 유사하거나 그것들에 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 실험에 사용될 수 있긴 하지만, 바람직한 방법 및 물질을 이제 기술한다. 본 명세서에서 언급된 모든 특허, 출원 및 비특허 공개물들은 그 전문이 참조로 본원에 포함된다.

[0080] 일반적인 설명

[0081] 중증 인슐린 저항성은 다양한 생리적 및 병리적 상태와 관련하여 발생한다. 임상적인 발견은 고인슐린혈증, 흑색 가시세포증, 난소의 고안드로겐증, 다낭성 난소, 및 결과적인 고혈당증을 포함하고, 드문 경우지만, 환자들은 케톤산증을 보일 수 있다. 비록 중증 인슐린 저항성을 보다 일반적인 인슐린 저항성과 구별하기 위해 일치되는 정의는 없지만, 증후군성 인슐린 저항성은 일차 인슐린-신호전달 결핍 (인슐린 수용체-병증 또는 인슐린 신호전달 경로의 부분적인 파괴)으로서 또는 지방 조직 비정상 (중증 비만 또는 지방이영양증)에 이차적인 인슐린 저항성으로서 분류되었다. Semple et al., (2011), Genetic syndrome of Severe Insulin Resistance, Endocrine Reviews, 32(4):498-514 참조.

[0082] 중증 인슐린 저항성의 증거는 1일당 100 이상 내지 200 유닛의 용량의 외래 인슐린을 필요로 하는 환자들 또는 내인성 인슐린의 만성적으로 상승된 순환 수준을 가진 환자들에서 볼 수 있다. Moller and Flier, (1991) New England Journal of Medicine, 325:938-948. 50 내지 70 μU/mL을 넘는 공복 인슐린 수준 또는 350 μU/mL을 넘는 피크 (경구 당부하 검사 후) 인슐린 수준이 중증 인슐린 저항성으로 제시된다. $2x10^4$ μU/mL 분 아래의 인슐린 민감성 지수 값은 전형적으로 중증 인슐린 저항성의 존재시에 발생한다. 중증 인슐린 저항성을 가진 환자들은 또한 2 mg/kg 분 아래의 글루코오스 이용률(glucose disposal rate)을 나타낸다. Tritos and Mantzoros, (1998) Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 83:3025-3030 참조.

[0083] 인슐린은 표적 세포의 원형질막 상의 인슐린 수용체와 상호작용한다. 인슐린 수용체는 경막 티로신 키나아제 수용체이고, 글루코오스 항상성을 조절하는 기능을 한다. 인슐린 수용체는 인슐린 결합을 위한 부위를 함유한 2개의 α 하위유닛, 및 티로신 키나아제 도메인을 함유한 2개의 β 하위유닛으로 구성되며; 하위유닛들은 350 kDa β-α-α-β 테트라머(tetramer)를 형성하기 위하여 이황화 브릿지에 의해 연결된다. 수용체의 2개의 아이소폼(isoform), 즉 엑손 11을 가진 아이소폼 (IR-B) 및 엑손 11이 없는 아이소폼 (TR-A)이 존재하며, 아이소폼들의 수준은 다양한 조직에서 다르게 발현된다. IR-B 아이소폼은 IR-A 아이소폼보다 높은 더 효율적인 신호전달 활성을 나타내며, IR-B 아이소폼은 간, 지방 조직, 및 근육 조직에서 대부분 발현된다. IR-A 아이소폼은 CNS 세포 및 조혈 세포에서 발현되며, 약간 더 높은 인슐린 결합 친화성을 가진다.

[0084] 활성화된 인슐린 수용체의 티로신 키나아제 활성은 글루코오스 수송의 경막 신호전달 및 글루코오스 항상성의 조절에 기여한다.

[0085] 중증 인슐린 저항성은 전형적으로 인슐린 수용체 돌연변이와 관련되어, 세포 표면 상의 감소된 발현 또는 수용체의 신호전달 능력을 초래한다. 다른 돌연변이로는 인슐린 신호 변환 경로, 예컨대 인슐린 수용체의 티로신 키나아제 도메인의 보존된 영역에 포함된 단백질의 수용체 결합 친화성의 결핍 또는 돌연변이를 포함한다.

[0086] 중증 인슐린 저항성을 가진 환자들은 다음으로부터 선택된 질병 또는 질환을 앓을 수 있다: 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, A형 인슐린 저항성, B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 또는 바르데-비들 증후군.

[0087] 중증 인슐린 저항성의 유전적 및 후천적 상태는 체조직 및 기관이 인슐린에 적절하게 반응하지 못하는 드문 장애이다. 중증 인슐린 저항성과 관련된 임상적 발견은 성장 지연, 장기 비대(organomegaly), 골격 및 지방 조직의 손상된 발달, 연조직 과도성장, 당뇨병, 간 지방증(hepatic steatosis), 흑색 가시세포증, 난소 고안드로겐증, 및 다모증(hirsutism)을 포함한다. 실험실 발견은 고인슐린혈증, 감소된 인슐린 제거율, 고혈당증, 이상지혈증(dyslipidemia), 및 상승된 안드로겐을 포함한다. 중증 인슐린 저항성과 관련된 다양한 증후군의 각각은 일반적인 임상 및 실험실 특징의 일부 또는 전부 외에도, 특유한 특징을 가진다.

[0088] 도노휴 증후군 (DS, 때로 레프리코니즘으로도 불림) 및 랍슨-멘덴할 증후군 (RMS)은 인슐린 수용체에 대한 두 대립유전자가 모두 비정상이고, 환자들이 내인성 및 외래 인슐린에 반응하지 못하는 희귀한 상염색체 열성 질병이다. DS 및 RMS를 가진 개체들은 출생 전에 발달이 충분하지 않다가, 나중에는 영유아로서 잘 자라지 못한다. 환자들은 극히 높은 수준, 정상 수준의 최대 1000배까지의 순환하는 인슐린으로 나타난다. DS의 일차 대사 결과는 공복 저혈당이고, 이차적으로는, 식후의 고혈당이다. DS로 진단받은 개체들은 보통 1세 이전에 사망하고 당뇨성 케톤산증을 나타내지 않는다. RMS를 가진 개체들은 또한 공복 저혈당을 겪고 전형적으로 유아기에 생존하지만, 시간이 지남에 따라, 중증의 난치성 당뇨성 케톤산증 및 인슐린 수준의 약화를 나타낸다.

[0089] 케톤혈증은 케톤체가 지방산의 파괴 및 아미노산의 탈아민화에 의해 형성되어 혈액에 축적될 때 발생한다. 이것이 치료되지 않은 상태로 지속되면, 환자들은 당뇨성 케톤산증으로 이어질 수 있다. 베타-하이드록시부티레이트 및 아세토아세트산은 보다 일반적인 케톤류 중 두 가지이고, 상승된 수준은 케톤혈증의 중증도를 측정하기 위해 및 케톤산증의 지표로서 사용될 수 있다.

[0090] A형 인슐린 저항성 증후군은 중증 인슐린 저항성을 특징으로 하는 또 다른 희귀한 장애로, 증상들은 전형적으로 여성의 경우 청소년기에, 또는 남성의 경우 성인기에 나타난다. 여성들은 일차 무월경(amenorrhea) 또는 희발월경(oligomenorrhea), 난소 낭종, 다모증, 및 흑색 가시세포증으로 나타나지만, 전형적으로 과체중은 아니다. 병에 걸린 남성들은 그들이 당뇨병이 발생했을 때 나타난다. DS 및 RMS와 같이, 인슐린 수용체 유전자 돌연변이는 A형 인슐린 저항성 증후군의 원인이 된다.

[0091] 지방이영양증은 인슐린 수용체 자체 또는 인슐린 신호전달 캐스케이드의 하류 구성요소의 결핍으로 인해, 비정상적인 지방조직 분포, 활용, 및 대사를 특징으로 하는 장애들의 그룹을 나타낸다. 지방이영양증을 앓는 환자들은 지방 조직의 전신성 또는 부분적인 부재, 인슐린 저항성 (당뇨병이 있거나 없음), 유의미한 이상지혈증, 및 지방간으로 나타난다. 일부 지방이영양증 증후군은, 베라르디네이-세이프 증후군(Berardinelli-Seip syndromee) 증후군과 같이, 유전되는 한편, 로렌스 증후군(Lawrence syndromee)을 포함한 다른 것들은 때로 감염성 전구증(infectious prodrome) 후에 획득된다. 추가의 지방이영양증 증후군으로는 코벌링-두니간 증후군(Kobberling-Dunnigan syndromee), 다른 이형증(dysmorphic) 특징을 가진 지방이영양증, 및 두흉부의(cephalothoracic) 지방이영양증을 들 수 있다.

[0092] B형 인슐린 저항성 증후군은 이것이 인슐린 수용체에 대한 혈청 자가-항체들의 존재와 관련되고, 자가면역 질환의 맥락에서 발생할 수 있다는 점에서 DS, RMS, 및 A형 인슐린 저항성 증후군과 상이하다. 증상은 다른 인슐린 저항성 증후군과 유사하며, 기회성 역설적 저혈당증(occasional paradoxal hypoglycemia)에 더불어 비케톤성(non-ketotic) 및 중증의 인슐린-저항성 당뇨병, 흑색 가시세포증, 및 다모증을 포함한다.

[0093] HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군은 전형적으로 비만인 젊은 여성에게서, 상이한 형태를 갖는 인슐린 저항성을 나타낸다; 일부 개체는 고농도의 인슐린을 갖지만 정상 수준의 글루코오스를 갖는 한편, 다른 개체들은 당뇨병 증상들로 나타난다. 중증 인슐린 저항성의 다른 증후군의 희귀성과 달리,

HAIR-AN 증후군은 전세계적으로 청소년기 소녀들의 약 5%가 앓는 것으로 추정된다. 이 증후군은 인슐린 수용체 유전자의 티로신 키나아제 도메인의 돌연변이와 관련이 있다.

[0094] 가짜말단비대증은 유거단증(類巨端症, acromegaloidism)과 관련이 있는 중증 인슐린 저항성으로 나타나며, 인슐린 신호전달 경로의 결핍에 의해 또는 IGF-1 수용체를 통한 고인슐린 수준 신호전달로부터 유발되는 가능성이 있다.

[0095] 다른 중증 인슐린 저항성 증후군으로는, 몇 가지 예를 들면 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 및 베르너 증후군을 포함한다.

[0096] 일부 환자에서, 질병 또는 질환은 중증 인슐린 저항성을 유발하는 것으로 보고된 유전자 변종의 존재와 관련된다. 예시적인 유전자 변종으로는 *INSR*, *PSMD6*, *ADRA2A*, *AGPAT2* (지방이영양증 및 인슐린 저항성과 관련됨), *AKT2*, *APPL1*, *BBS1* (바르데-비들 증후군 1과 관련됨), *BSCL2*, *CIDEC*, *GRB10*, *IRS2*, *KLF14*, *LEP*, *LEPR*, *LMNA* (지방이영양증과 관련됨), *MC4R*, *PCNT*, *PIK2CA*, *POLD1* (지방이영양증과 관련됨), *PPARG*, *PTPRD*, *PTRF* (지방이영양증과 관련됨), *RASGRP1*, *TBC1D4*, 및 *TCF7L2*를 들 수 있다.

[0097] 일부 환자에서, 인슐린 분해 프로테아제 활성이 환자 혈청에서 검출된다. 일부 환자에서, 중화 항-인슐린 항체들 또는 항-인슐린 수용체 항체들이 환자 혈청에서 검출된다. 일부 환자에서, 중증 인슐린 저항성은 지방이영양증으로 이어지는 지방세포의 자가면역 파괴의 맥락에서 발생한다.

[0098] 중증 인슐린 저항성 환자는 결국 고혈당증, 및 일부 증후군에서는 케톤산증이 발생한다. 예를 들어, RMS를 가진 환자에서, 인슐린 수준은 인생의 매우 조기에 시작되며, 역설적인 공복 저혈당의 기간 중에도 시작된다. 질환이 진전됨에 따라, 인슐린 수준은 여전히 상승하는 한편, 떨어진다. 게다가, 부분적으로 산화된 지방산 수준이 증가하는데, 인슐린이 지방세포로부터의 지방산의 방출을 억제할 수 없다는 것을 가리키고, 궁극적으로 끊임없는 케톤산증을 유발한다. 마찬가지로, 인슐린 수준으로서 끊임없는 고혈당증 결과는 더 이상 간의 글루코오스 생성 및 방출을 억제할 수 없다. 그러나, 극히 고농도의 인슐린 (9.5 U/kg·hr)의 연속적인 주입은 증가된 지방산 산화를 반전시키고 케톤뇨증을 차단할 수 있다. Longo et al., (1991) Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 84:2623-2629. 게다가, 고중성지방혈증 및 저 고밀도 지단백질 콜레스테롤 수준은 중증 인슐린 저항성과 관련이 있다.

[0099] 중증 인슐린 저항성 증후군 환자는 고혈당증에도 불구하고 정상적인 또는 심지어 약간 상승된 혈장내 글루카곤 수준을 갖는다. West et al., (1975) Arch. Dis. Child., 50(9):703-708; Desbois-Mouthon et al., (1997) Pediatr. Res., 42(1):72-77. 고혈당증은 인슐린 억제의 결핍 및 비정상적으로 높은 글루카곤 신호전달로 인한 향상된 간의 글루코오스 생산으로부터 유발된다.

[0100] 지금까지, 중증 인슐린 저항성 질병 또는 질환에 대한 GCG/GCGR 신호전달 경로를 길항하는 효과를 조사한 연구는 없었다. 하기 실시예에서 기술된 연구들은, 여러 주의 치료기간에 걸쳐 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준에 의해 측정되는 바, 혈당 수준 및 케톤혈증에 미치는 영향을 증명하기 위한 중증 인슐린 저항성의 마우스 모델에서, GCG/GCGR 신호전달 경로의 예시적인 억제제로서, GCGR의 길항물질을 사용한다.

[0101] 정의

[0102] 본원에서 "GCGR"로도 언급되는 "글루카곤 수용체"는 G 단백질-결합 수용체 부류 2 패밀리에 속하고 긴 아미노 말단 세포외 도메인, 7개의 경막 분절, 및 세포내 C-말단 도메인으로 구성된다. 글루카곤 수용체는 특별히 그것들이 글루카곤에 결합하는 간세포 표면상에서 발현되고 그로써 제공된 신호를 세포 안으로 변환시킨다. 따라서, 용어 "글루카곤 수용체"는 또한 글루카곤과 특이적으로 상호작용하여 생물학적 신호를 유발하는 하나 이상의 수용체를 나타낸다. 래트 및 인간 기원의 글루카곤 수용체들을 암호화하는 DNA 서열들이 분리되었고 당업계에 개시되어 있다 (EP0658200B1). 쥐과 및 시노몰구스 원숭이 상동체들 또한 분리되어 있고 서열이 알려져 있다 (Burcelin, et al., (1995) Gene 164:305-310); McNally et al., (2004) Peptides 25:1171-1178). 본원에서 사용되는 바 "글루카곤 수용체" 및 "GCGR"은 상호교환적으로 사용된다. 본원에서 사용되는 표현 "GCGR", "hGCGR" 또는 그것의 단편들은 비-인간 종으로부터 유래되는 것, 예컨대 "마우스 GCGR", "래트 GCGR", 또는 "원숭이 GCGR"로서 명시되지 않는 한, 인간 GCGR 단백질 또는 그것의 단편을 나타낸다.

[0103] 구절 "GCGR 길항물질"은 GCGR 신호전달 경로의 억제제, 길항물질, 또는 역 작용물질을 나타낸다. "GCG 억제제"는 글루카곤의 수용체에의 결합을 방지할 수 있다. GCGR 억제제는 또한 글루카곤의 수용체에의 결합을 방지할 수 있다. 그러나, 둘 다 수용체의 활성화를 효과적으로 차단 또는 약화시키거나, 또는 GCGR 활성화의 신호전달

캐스케이드 하류를 간섭할 수 있다.

[0104] GCGR 길항물질은 글루카곤 수용체에 결합할 수 있고 그로써 GCGR에 의해 매개된 GCG의 활성을 길항할 수 있다. GCGR에서 GCG의 결합 및 활성을 길항함으로써 GCG의 활성을 억제하는 것은 글루코오스 신생합성 및 글리코겐 분해의 속도, 및 혈장내 글루코오스 농도를 감소시킨다. 가상의 길항물질과 글루카곤 수용체와의 결합을 측정하는 방법들은 당업계에 알려져 있고 글루카곤 수용체에서 글루카곤 활성을 간섭하는 것을 측정하기 위한 수단은 공공연하게 이용할 수 있다; 예컨대 S. E. de Laszlo et al., (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:641-646 참조. 본원에서 유용한 것으로 고려하는 것은 그것의 기능성 성분으로서 소분자 화합물, 또는 달리 말해서 저분자량 유기 화합물을 가지는 GCGR 길항물질 또는 GCG 억제제이다. 소분자는 전형적으로 800 달톤 미만이다. 추가적으로, CRISPR 기술이 GCG 또는 GCGR 발현을 녹다운시키기 위해 사용될 수 있다.

[0105] 용어 "억제제" 또는 "길항물질"은 화학적 또는 생리적 반응 또는 응답을 지연 또는 방지하는 물질을 포함한다. 일반적인 억제제 또는 길항물질로는, 한정하는 것은 아니지만, 안티센스 분자, 항체들, 소분자 억제제, 펩타이드 억제제, DARPin, 스피에겔머(Spiegelmer), 압타머(aptamer), 엔지니어링된 Fn 타입-III 도메인, 및 그것들의 유도체를 들 수 있다.

[0106] GCG 억제제 또는 GCGR 신호전달 경로 길항물질의 실례는, 한정하는 것은 아니지만, GCGR 신호전달 경로의 결합을 차단하거나 활성을 억제하는, GCG 또는 GCGR에 대한 항체 (인간 또는 인간화된) 또는 그것의 항원 결합 단백질을 포함한다. 본원에서 기술된 방법에 사용될 수 있는 예시적인 GCGR 길항물질은 다음을 포함하는 분리된 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다: (a) SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 70, 86, 90, 106, 110, 126, 130 및 146으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및/또는 (b) SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 68, 78, 88, 98, 108, 118, 128, 138 및 148로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR. 본원에서 기술된 방법에 사용될 수 있는 예시적인 GCG 억제제는 다음을 포함하는 분리된 인간 단클론성 항체 또는 그것의 항원-결합 단편을 포함한다: (a) SEQ ID NO: 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 및 294로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및/또는 (b) SEQ ID NO: 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 및 302로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR.

[0107] "치료적으로 유효한 용량"은 그것이 투여되어 원하는 효과를 생성하는 용량이다. 정확한 용량은 치료 목적에 따라 좌우될 것이고, 공지 기법들을 사용하여 당업자에 의해 확인될 수 있을 것이다 (예를 들어, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding 참조).

[0108] 구절 "실질적으로 동일한"이란 (a) SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 70, 86, 90, 106, 110, 126, 130 및 146으로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및/또는 (b) SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 68, 78, 88, 98, 108, 118, 128, 138 및 148로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR에 대해 적어도 95% 동일성을 가지며, GCGR에 결합할 수 있고 GCGR의 생물학적 활성을 억제할 수 있는 단백질 서열을 의미한다. 구절 "실질적으로 동일한"은 또한 (a) SEQ ID NO: 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 및 294로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및/또는 (b) SEQ ID NO: 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 및 302로 구성되는 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR에 대해 적어도 95% 동일성을 가지며, GCGR에 결합할 수 있고 GCGR의 생물학적 활성을 억제할 수 있는 단백질 서열을 의미한다.

[0109] 용어 "동일성" 또는 "상동성"은 서열들이 일렬배열되고 갭이 도입된 후에, 필요하다면 전체 서열에 대한 최대 퍼센트 동일성을 이루기 위하여, 서열 동일성의 부분으로서 임의의 보존성 치환을 고려하지 않고, 그것이 비교되는 상응하는 서열의 잔기와 동일한 후보 서열의 아미노산 잔기들의 백분율을 의미하는 것으로 해석된다. N-말단 또는 C-말단 연장 또는 삽입은 그 어느 것도 동일성 또는 상동성을 감소시키는 것으로서 해석되지 않을 것이다. 일렬배열을 위한 방법 및 컴퓨터 프로그램은 당업계에 잘 알려져 있다. 서열 동일성은 서열 분석 소프트웨어 (예컨대 서열 분석 소프트웨어 패키지, Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Ave., Madison, Wis. 53705)를 사용하여 측정될 수 있다. 이 소프트웨어는 다양한 치환, 결실, 및 다른 변형에 대한 상동성의 정도를 배정함으로써 유사한 서열들을 매치시킨다.

[0110] 용어 "치료하는" (또는 "치료하다" 또는 "치료")은 기존의 증상, 장애, 질병 또는 질환의 진행, 지속 기간, 또는 중증도를 둔화, 간섭, 억제, 저지, 제어, 중단, 감소, 개선, 또는 반전시키는 것을 포함하는 과정을 나타내지만, 본질적으로 본원에 기술된 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질의 사용을 통해 모든 질환-관련 증상, 질병, 또는 장애의 총체적인 제거를 포함하는 것은 아니다. 나아가 "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하다"는 임상 결과를 포함하여 유익한 또는 원하는 결과를 얻기 위한 접근법을 나타내며, 한정하는 것은 아니지만, 다음 중 하나 이상을 포함한다: 중증 인슐린 저항성의 진전을 억제, 지연 또는 방지하는 것; 중증 인슐린 저항성과

관련된, 또는 상승된 혈장내 인슐린 수준, 상승된 혈당 수준, 및/또는 케톤혈증 또는 케톤산증 (상승된 베타-하이드록시부티레이트 수준에 의해 측정되는 경우)을 특징으로 하는 질환, 예컨대 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, A형 인슐린 저항성, B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 또는 바르데-비들 증후군, 또는 중증 인슐린 저항성을 유발하는 것으로 보고된 유전자 변종의 존재와 관련된 질병 또는 질환의 진전을 억제, 지연 또는 방지하는 것; 또는 중증 인슐린 저항성과 관련된 질환과 관련된 적어도 하나의 증상을 억제, 방지, 또는 개선하는 것; 또는 혈당 수준 및/또는 베타-하이드록시부티레이트 수준 (케톤산증의 지표로서)을 저하시켜서, 고혈당 수준 및 케톤혈증과 관련된 질병 또는 질환이 중재되거나, 적어도 그 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 완화되거나 중증도가 감소되는 것. 본원에서 사용되는 바, "치료" 또는 "치료하는"은 또한 질환에 걸린 환자들의 삶의 질을 증가시키는 것, 질환을 치료하는 데 필요한 다른 약물의 용량을 감소시키는 것 및/또는 환자들의 생존을 연장시키는 것을 나타낸다. 예를 들어, "치료" 또는 "치료하는"은 중증 인슐린 저항성을 가진 환자를 치료하기 위해 필요한 인슐린의 양 및/또는 투여량을 감소시키는 것을 포함할 수 있다.

[0111] 구절 "인슐린 저항성"은 정량적으로 정상적인 반응을 유도하기 위하여 정상적인 양보다 더 많은 양의 인슐린이 필요한 상태이다. 구절 "중증 인슐린 저항성"은 일반적으로 내인성 인슐린 분비 및/또는 인슐린의 혈장 수준의 현저한 상승에도 불구하고 거의 정상이거나 상승된 혈당 수준으로 전형적으로 나타나는 임상 상태를 나타낸다. 중증 인슐린 저항성의 증거는 하루에 100 내지 200 유닛 이상의 용량의 외래 인슐린을 필요로 하는 환자들, 또는 만성적으로 상승된 순환 수준의 내인성 인슐린을 가진 환자들에게서 볼 수 있다. Moller and Flier, (1991) New England Journal of Medicine, 325:938-948. 50 내지 70 μU/mL의 공복 인슐린 수준 또는 350 μU/mL을 넘는 피크 (경구 당부하 검사 후) 인슐린 수준이 중증 인슐린 저항성으로 제시된다. $2x10^4$ μU/mL 분 미만의 인슐린 민감성 지수 값은 전형적으로 중증 인슐린 저항성의 존재 하에 발생한다. 중증 인슐린 저항성 환자들은 또한 2 mg/kg 분 아래의 글루코오스 이용률을 나타낸다. Tritos and Mantzoros, (1998) Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 83:3025-3030 참조.

[0112] GCG/GCGR 신호전달 경로 억제제

[0113] 본원에는 중증 인슐린 저항성을 특징으로 하는 질병 또는 질환 의 치료를 위해 GCG 억제제 및 GCGR 길항물질이 제공된다. 일부 구체예에서, 길항물질은 글루카곤의 억제제이다. 일부 구체예에서, 길항물질은 GCGR의 억제제이다. 일부 구체예에서, GCGR 길항물질은 MK-0893, PF-06291874, LGD-6972, 또는 LY2409021이다.

[0114] 일부 구체예에서, 길항물질은 GCG 또는 GCGR에 결합할 수 있는 항체, 또는 그것의 단편을 포함한다. 일부 구체예에서, 신호전달 경로는, 예를 들어, CRISPR 기술 또는 안티센스를 사용함으로써, GCG 또는 GCGR 발현의 간섭에 의해 억제된다.

[0115] 일부 구체예에서, GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 안티센스 분자, 항체, 소분자 억제제, 펩타이드 억제제, DARPin, 스피에겔머, 압타머, 엔지니어링된 Fn 타입-III 도메인, 또는 그것들의 유도체이다.

[0116] 항-GCGR 항체들, 항-GCG 항체들, 및 항체 단편들

[0117] 일부 구체예에서, GCGR 길항물질은, 본원에 그 전문이 참조로 포함된 미국 특허 제 8,545,847호에서 개시된 항체 또는 그것의 항체 단편이다. 그 특허에 개시된 항체들은 표 1에 제시된다.

표 1

[0118]

	SEQ ID NO:							
항체 지정	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H4H1345N	2	4	6	8	10	12	14	16
H4H1617N	18	20	22	24	26	28	30	32
H4H1765N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H1321B	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H1321P	66	52	54	56	68	60	62	64
H4H1327B	70	72	74	76	78	80	82	84
H4H1327P	86	72	74	76	88	80	82	84
H4H1328B	90	92	94	96	98	100	102	104

H4H1328P	106	92	94	96	108	100	102	104
H4H1331B	110	112	114	116	118	120	122	124
H4H1331P	126	112	114	116	128	120	122	124
H4H1339B	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H1339P	146	132	134	136	148	140	142	144

[0119] 본원에서 유용한 것으로 고려된 추가적인 GCGR 항체들 또는 항체 단편들은 미국 특허 제 5,770,445호 및 7,947,809호; 유럽 특허 출원 EP2074149A2; 유럽 특허 제 EP0658200B1호; 미국 특허 출원 공보 2009/0041784; 2009/0252727; 및 2011/0223160; 및 PCT 공보 WO2008/036341에서 개시된 것들을 포함한다. 상기 특허 및 공보들은 본원에 그 전문이 참조로 포함된다.

[0120] 일부 구체예에서, GCG 억제제는 미국 특허 출원 2016/0075778에 개시된 항체 또는 그것의 항체 단편이다. 상기 특허 출원에 개시된 항체들이 표 2에 제시된다.

표 2

[0121]

	SEQ ID NO:							
항체 지정	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H059P	150	152	154	156	158	160	162	164
H4H10223P	166	168	170	172	174	176	178	180
H4H10231P	182	184	186	188	190	192	194	196
H4H10232P	198	200	202	204	206	208	210	212
H4H10236P	214	216	218	220	222	224	226	228
H4H10237P	230	232	234	236	238	240	242	244
H4H10238P	246	248	250	252	254	256	258	260
H4H10250P	262	264	266	268	270	272	274	276
H4H10256P	278	280	282	284	286	288	290	292
H4H10270P	294	296	298	300	302	304	306	308

[0122] 본원에서 유용한 것으로 고려된 추가적인 GCG 항체들 또는 항체 단편들은 미국 특허 제 4,206,199호; 4,221,777호; 4,423,034호; 4,272,433호; 4,407,965호; 5,712,105호; 및 PCT 공보 WO2007/124463 및 WO2013/081993에 개시된 것들을 포함한다.

[0123] 항체 단편들로는 필요한 표적 특이성을 가진 임의의 단편, 예컨대 전체 항체들의 변형(예컨대 효소적 소화)에 의해 생성된 항체 단편, 또는 재조합 DNA 방법을 사용하여 새롭게 합성된 것들 (scFv, 단일 도메인 항체들, DVD (이중 가변 도메인 면역글로불린), 또는 dAbs (단일 가변 도메인 항체들)) 또는 인간 파지 또는 효모 디스플레이 라이브러리를 사용하여 확인된 것들을 포함한다 (예를 들어 McCafferty et al. (1990) Nature 348:552-554 참조). 대안적으로, 항체들은, 한정하는 것은 아니지만 하이브리도마를 제조하는 것을 포함하거나, 또는 B 세포 스크리닝 기술, 예컨대 SLAM을 사용하는 표준 면역화 및 항체 분리 방법을 사용하여 인간, 인간-마우스, 인간-래트, 및 인간-토끼 키메릭 항체들을 생성하는 마우스로부터 분리될 수 있다. 면역글로불린 결합 도메인은 또한, 한정하는 것은 아니지만, 면역글로불린의 중쇄 (V_H) 또는 경쇄 (V_L)의 가변 영역을 포함한다. 또는 사람들의 면역화 및 항원 양성 B 세포의 분리 및 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 cDNA의 클로닝 및 그것들의 세포, 예컨대 CHO에서의 공동발현에 의해.

[0124] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 항원에 특이적으로 결합하고 인식하는 면역글로불린 유전자 또는 그것의 단편들로부터의 프레임워크 영여을 포함하는 폴리펩타이드를 나타낸다. 인식된 면역글로불린 유전자는 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 엡실론, 및 뮤 불변 영역, 뿐만 아니라 수많은 면역글로불린 가변 영역 유전자들을 포함한다. 경쇄는 카파 또는 람다로서 분류된다. 중쇄는 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론으로서 분류되고, 그것들은 계속해서 면역글로불린 부류, IgG, IgM, IgA, IgD, 및 IgE를 각각 규정한다. 각각의 IgG 부류 내에는, 상이한 아이소타입들이 있다 (예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). 전형적으로, 항체의 항원-결합 영역은 결합의 특이성 및 친화성을 측정하는데 가장 결정적일 것이다.

[0125] 예시적인 면역글로불린 (항체) 구조 단위는 테트라머를 포함한다. 각 테트라머는 폴리펩타이드 사슬의 2개의 동일한 쌍으로 구성되며, 각각의 쌍은 하나의 경쇄 (약 25 kD) 및 하나의 중쇄 (약 50 내지 70 kD)를 가진다. 각

사슬의 N-말단은 주로 항원 인식에 기여하는 약 100 내지 100 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 규정한다. 용어 "가변 경쇄" (V_L) 및 가변 중쇄 (V_H)는 각각 이러한 경쇄 및 중쇄를 나타낸다.

[0126] 항체들은 온전한 면역글로불린으로서, 또는 다양한 펩티다아제로의 소화에 의해 생성된, 특성화가 잘 이루어진 많은 단편들로서 존재한다. 예를 들어, 펩신은 힌지 영역의 이황화 결합 아래에서 항체를 소화시켜서 이황화 결합에 의해 V_H -C_H1에 연합된 경쇄 자체인 Fab의 다이머인 F(ab)'$_2$를 생성한다. F(ab)'$_2$는 가벼운 조건하에서 환원되어 힌지 영역의 이황화 결합이 깨질 수 있고, 그로써 F(ab)'$_2$ 다이머는 Fab' 단량체로 전환될 수 있다. Fab' 단량체는 본질적으로 힌지 영역의 일부가 포함된 Fab이다. 다양한 항체 단편들이 온전한 항체의 소화의 관점에서 규정되는 한편, 당업자는 그러한 단편들이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법론을 사용함으로써 새롭게 합성될 수 있음을 인지할 것이다.

[0127] 본원의 방법에 따라 유용한 항체들을 제조하기 위한 방법들은 업계에 알려져 있다. 예를 들어, Kohler & Milstein (1975) Nature 256:495-497; Harlow & Lane (1988) Antibodies: a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, N.Y. 참조. 관심의 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자들은 세포로부터 클로닝될 수 있는데, 예컨대 단클론성 항체를 암호화하는 유전자들은 하이브리도마로부터 클로닝될 수 있고 재조합 단클론성 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 단클론성 항체들은 CDR 영역의 인간 스캐폴드 안으로의 표준 클로닝을 사용하여 인간화될 수 있다. 단클론성 항체들의 인간 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자 라이브러리는 또한 하이브리도마 또는 플라즈마 세포로부터 제조될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 유전자 생성물의 무작위 조합은 상이한 항원 특이성을 가진 항체들의 큰 모음(pool)을 유발한다. 단일 사슬 항체들 또는 재조합 항체들의 생성을 위한 기법 (미국 특허 제 4,946,778호; 미국 특허 제 4,816,567호)은 본원에 개시된 방법에 사용된 항체들을 사용하기 위해 조정될 수 있다. 또한, 형질전환 마우스, 또는 기타 포유류와 같은 기타 유기체들이 인간, 인간-마우스 키메릭, 인간-래트 키메릭, 인간-토끼 키메릭, 또는 인간화된 항체들을 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로, 파지 디스플레이 또는 효모 디스플레이 기술이 선택된 항원에 특이적으로 결합하는 인간 항체들 및 헤테로머릭(heteromeric) Fab 단편들을 확인하기 위해 사용될 수 있다.

[0128] 면역콘쥬게이트

[0129] 본 개시는 치료 모이어티 ("면역콘쥬게이트"), 예컨대 혈당 수준을 감소시킬 수 있거나 중증 인슐린 저항성의 또 다른 증상을 해결할 수 있는 작용제에 콘쥬게이트된 인간 항-GCGR 단클론성 항체로 중증 인슐린 저항성을 치료하는 것을 포함한다. 항-GCGR 항체에 콘쥬게이트될 수 있는 치료 모이어티의 유형은 치료되는 질병 및 이루고자 하는 원하는 치료 효과를 고려할 것이다. 예를 들어, 혈당을 낮추기 위해, 및/또는 정상 혈당 수준을 유지하기 위한 노력으로, 비구아니드 (예컨대 메트포르민(metformin)), 설포닐우레아 (예컨대 글리부리드(glyburide), 글리피지드(glipizide)), PPAR 감마 작용물질 (예컨대 피오글리타존(pioglitazone), 로시글리타존(rosiglitazone)); 알파 글루코시다제 억제제 (예컨대 아카보즈(acarbose), 보글리보스(voglibose), 진전된 당화(advanced glycation) 최종 생성물 형성의 억제제 (예컨대 아미노구아니딘), 또는 제 2 GCGR 억제제 또는 GCG 억제제와 같은 작용제가 GCGR 항체에 콘쥬게이트될 수 있다. 대안적으로, 만약 원하는 치료 효과가 케톤혈증 또는 중증 인슐린 저항성과 관련된 임의의 다른 증상 또는 질병을 치료하기 위한 것이라면, 적절한 작용제를 항-GCGR 항체에 콘쥬게이션시키는 것이 유리할 수 있다. 면역콘쥬게이트를 형성하기에 적합한 작용제의 실례들은 당업계에 알려져 있고, 예를 들어 WO 05/103081을 참조한다.

[0130] 다중-특이적 항체들

[0131] 본원에 제공된 방법들에 따라 유용한 항체들은 단일-특이적, 이중-특이적, 또는 다중-특이적일 수 있다. 다중-특이적 항체들은 하나의 표적 폴리펩타이드의 상이한 에피토프들에 대해 특이적일 수 있거나 하나 이상의 표적 폴리펩타이드에 특이적인 항원-결합 도메인을 함유할 수 있다. 예컨대 Tutt et al., (1991) J. Immunol. 147:60-69; Kufer et al., (2004) Trends Biotechnol. 22:238-244 참조. 항-GCGR 항체들은 다른 기능성 분자, 예컨대 다른 펩타이드 또는 단백질과 연결되거나 또는 동시 발현될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 그것의 단편은 제 2 결합 특이성을 가진 이중-특이적 또는 다중-특이적 항체를 생성하기 위하여 하나 이상의 다른 분자 실체, 예컨대 또 다른 항체 또는 그것의 항체 단편에 (예컨대 화학 결합, 유전자 융합, 비공유 회합 또는 그 밖의 다른 것에 의하여) 기능적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, 면역글로불린의 한쪽 팔(arm)은 인간 GCGR 또는 그것의 단편에 특이적이고, 면역글로불린의 다른쪽 팔은 제 2 치료제에 특이적이거나 치료 모이어티에 콘쥬게이션되는 이중-특이적 항체들이 고려된다. 특정 구체예에서, 면역글로불린의 한쪽 팔은 hGCGR 또는 그것의 단편의 N-말단 도메인 상의 에피토프에 대해 특이적이고, 면역글로불린의 다른쪽 팔은 hGCGR 또는 그것의 단편의 EC 루

프들 중 한 루프 상의 에피토프에 대해 특이적이다. 특정 구체예에서, 면역글로불린의 한쪽 팔은 하나의 EC 루프, 또는 그것의 단편에 대해 특이적이고, 두 번째 팔은 제 2 EC 루프, 또는 그것의 단편에 대해 특이적이다. 특정 구체예에서, 면역글로불린의 한쪽 팔은 hGCGR의 한 EC 상의 하나의 에피토프에 대해 특이적이고 다른 팔은 hGCGR의 동일한 EC 루프 상의 제 2 에피토프에 대해 특이적이다.

[0132] 본원에 기술된 방법에 따라 사용될 수 있는 예시적인 이중-특이적 항체 방식은 제 1 면역글로불린 (Ig) C_H3 도메인 및 제 2 Ig C_H3 도메인의 사용을 포함하고, 이때 제 1 및 제 2 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산만큼 서로 상이하고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중-특이적 항체와 비교하여 단백질 A에 대한 이중-특이적 항체의 결합을 감소시킨다. 한 구체예에서, 제 1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고 제 2 Ig C_H3 도메인은 단백질 A 결합을 감소시키거나 제거하는 돌연변이, 예컨대 H95R 변형 (IMGT 엑손 넘버링에 의한 것임; EU 넘버링에 의하면 H435R)을 함유한다. 제 2 C_H3은 추가로 Y96F 변형 (IMGT에 의해; EU에 의하면 Y436F)을 포함할 수 있다. 제 2 C_H3 내에서 찾을 수 있는 추가의 변형은 IgG1 항체들의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의하면 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, 및 V422I); IgG2 항체들의 경우에 N44S, K52N, 및 V821 (IMGT; EU에 의하면 N384S, K392N, 및 V422I); 및 IgG4 항체들의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의하면 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, 및 V422I)를 포함한다. 상기 기술된 이중-특이적 항체 방식에 대한 변형은 본 개시의 범주 내에 포함된다.

[0133] 항체 스크리닝 및 선택

[0134] 본원에 제공된 방법에 따라 유용한, 바람직한 항체들의 스크리닝 및 선택은 업계에 알려져 있는 다양한 방법들에 의해 수행될 수 있다. 표적 항원에 특이적인 단클론성 항체들의 존재에 대한 초기 스크리닝은 예를 들어 ELISA-기방 방법의 사용을 통해 수행될 수 있다. 이차 스크린은 바람직하게는 항체-약물 콘쥬게이트의 제조에 사용하기 위한 원하는 단클론성 항체를 확인 및 선택하기 위해 수행된다. 이차 스크리닝은 당업계에 알려져 있는 임의의 적합한 방법으로 수행될 수 있다. "바이오센서 변형-보조 프로파일링(Biosensor Modification-Assisted Profiling, "BiaMAP")으로 불리는 한 가지 바람직한 방법은, 미국 특허 출원 공개 공보 2004/0101920에서 기술되고, 그 전문이 참조로 본원에 구체적으로 포함된다. BiaMAP는 원하는 특징들을 가진 단클론성 항체들을 생성하는 하이브리도마 클론들의 신속한 확인을 허용한다. 보다 구체적으로, 단클론성 항체들은 항체:항원 상호작용의 평가를 기반으로 별개의 에피토프-관련 그룹들로 분류된다. 리간드 또는 수용체 중 어느 하나를 차단할 수 있는 항체들은 세포 기반 검정, 예컨대 NFκB 유래 프로모터 또는 cAMP 반응 유래 프로모터의 제어 하에 루시페라제 유전자를 사용하는 루시페라제 검정에 의해 확인될 수 있다. 글루카곤에 의한 GCGR의 자극은 NFκB/cAMP/CREB를 통한 신호로 이어지고 그로써 세포에서 루시페라제 수준을 증가시킨다. 차단 항체들은 루시페라제 활성의 글루카곤 유도를 차단한 항체들로서 확인된다.

[0135] 치료 집단

[0136] 본원에 제공된 치료 방법은 중증 인슐린 저항성 또는 중증 인슐린 저항성과 관련된 질병 또는 질환에 걸린 개체들을 치료하는 데 유용하다. 예시적인 질병 또는 질환으로는 도노휴 증후군, 랍슨-멘덴할 증후군, A형 인슐린 저항성, B형 인슐린 저항성, HAIR-AN (고안드로겐혈증, 인슐린 저항성, 및 흑색 가시세포증) 증후군, 가짜말단비대증, 알스트롬 증후군, 근긴장성 이영양증, 베르너 증후군, 지방이영양증, 간경변, 단일인자 병적 비만, 고전구인슐린혈증, 카르복시펩티다제 E 결핍증, 결핍성 아르기닌 대사, 또는 바르데-비들 증후군, 및 중증 인슐린 저항성을 유발하는 것으로 보고된 유전자 변종의 존재와 관련된 질병 또는 질환을 들 수 있다. 일부 구체예에서, 인슐린 분해 프로테아제 활성이 환자 혈청에서 검출된다. 일부 구체예에서, 중화 항-인슐린 항체들이 환자 혈청에서 검출된다. 중증 인슐린 저항성은 지방이영양증으로 이어지는 지방세포의 자가면역 파괴의 맥락에서 발생한다.

[0137] 치료적 투여 및 제제

[0138] 본원에 제공된 방법에 따라 유용한 것은 글루카곤/GCGR 길항물질, 예를 들면 항-GCGR 항체를 포함하는 치료 조성물이다. 본원에 기술된 방법에 따르는 치료 조성물의 투여는, 한정하는 것은 아니지만, 정맥내, 피하, 근육내, 척수강내, 뇌내, 심실내, 비강내, 또는 경구를 포함한 적합한 경로를 통해, 적합한 담체, 부형제 및 개선된 수송, 전달, 저항력, 등을 제공하기 위해 제제에 포함되는 다른 작용제들과 함께 투여될 것이다. 아주 많은 적절한 제제가 모든 약사들에게 알려져 있는 처방집에서 찾아볼 수 있다: Remington's Pharmaceutical

Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa. 이러한 제제들은, 예를 들면, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질 (양이온성 또는 음이온성) 함유 소포체 (예컨대 LIPOFECTIN™), DNA 콘쥬게이트, 무수 흡수 페이트스, 수중유 및 유중수 에멀션, 에멀션 카르보왁스 (다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반-고체 겔, 및 카르보왁스를 함유한 반-고체 혼합물을 포함한다. 또한 Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311 참조.

[0139] 항체의 용량은 투여되는 대상체의 연령 및 크기, 표적 질환, 질병, 투여 경로, 등에 따라 다를 수 있다. 환자에서, 항체가 혈당 수준을 저하시키고 및/또는 다양한 질병 및 질환, 예컨대 형 인슐린 저항성 증후군, RMS, 또는 DS에서 중증 인슐린 저항성과 관련된 케톤혈증 (예를 들어 베타-하이드록시부티레이트 수준에 의해 측정됨)을 감소시키기 위해 사용될 때, 항체는 정상적으로 약 0.01 내지 약 30 mg/kg 체중, 보다 바람직하게는 약 0.02 내지 약 7, 약 0.03 내지 약 5, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg/kg 체중의 용량으로 투여되는 것이 유익하다. 질병의 중증도 및 치료에 대한 반응에 따라, 치료 빈도 및 기간이 조정될 수 있다. 특정 구체예에서, 항체 또는 그것의 항원-결합 단편은 적어도 약 0.1 mg 내지 약 800 mg, 약 1 내지 약 500 mg, 약 5 내지 약 300 mg, 또는 약 10 내지 약 200 mg, 내지 약 100 mg, 또는 내지 약 50 mg의 초기 용량으로서 투여될 수 있다.

[0140] 특정 구체예에서, 초기 용량 후에 초기 용량과 대략 동일하거나 또는 그것보다 적을 수 있는 양으로 항체 또는 그것의 항원-결합 단편의 제 2 또는 복수의 후속 용량의 투여가 이어질 수 있고, 후속 용량들은 적어도 1일 내지 3일; 적어도 1주; 적어도 2주; 적어도 3주; 적어도 4주; 적어도 5주; 적어도 6주; 적어도 7주; 적어도 8주; 적어도 9주; 적어도 10주; 적어도 12주; 또는 적어도 14주만큼 분리된다.

[0141] 다양한 전달 시스템이 알려져 있고 항체를 포함한 제약학적 조성물을 투여하기 위해 사용될 수 있는데, 예컨대 리포좀에의 캡슐화, 미세입자, 미세캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개된 식세포작용이 있다 (예컨대 Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432 참조). 도입 방법으로는, 한정하는 것은 아니지만, 데포 제제, 에어로졸, 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 척수강내, 심실내, 및 구강 경로가 있다. 조성물은 임의의 편리한 경로에 의하여, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막 라이닝 (예컨대 구강 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고 다른 생물학적 활성제들과 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신성이거나 국소적일 수 있다.

[0142] 제약학적 조성물은 또한 소포체, 특히 리포좀으로 전달될 수 있다 (예를 들어 Langer (1990) Science 249:1527-1533 참조).

[0143] 특정 상황에서, 제약학적 조성물은 방출 제어 시스템으로 전달될 수 있다. 한 구체예에서, 펌프가 사용될 수 있다. 다른 구체예에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 방출 제어 시스템은 조성물의 표적과 근접하여 배치될 수 있고, 그로써 전신성 용량의 부분만이 필요해진다.

[0144] 주사용 조제물은 정맥내, 피하, 피내 및 근육내 주사, 점적 주입 등을 위한 투여 형태를 포함할 수 있다. 이러한 주사용 조제물은 공공연하게 알려져 있는 방법들에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사용 조제물은 예컨대 상기 기술된 항체 또는 그것의 염을 주사를 위해 종래 사용된 멸균된 수성 매질 또는 유성 매질에 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 매질로서, 예를 들어 생리 식염수, 글루코오스 및 기타 보조제를 함유한 등장성 용액, 등이 있고, 이것들은 알코올 (예컨대 에탄올), 폴리알코올 (예컨대 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제 [예컨대 폴리소르베이트 80, HCO-50 (수소화된 캐스터유의 폴리옥시에틸렌 (50 mol) 부가물)], 등과 같은 적절한 가용화제와 함께 사용될 수 있다. 유성 매질로서, 예컨대 참깨 기름, 대두유, 등이 사용되고, 이것들은 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올, 등과 같은 가용화제와 함께 사용될 수 있다. 그렇게 제조된 주사는 바람직하게는 적절한 앰플에 채워진다.

[0145] 본원에 유용한 제약학적 조성물은 피하로 또는 정맥내로 표준 바늘 및 주사기를 사용하여 전달될 수 있다. 게다가, 피하 전달과 관련하여, 펜 전달 장치가 본원에 기술된 방법에 유용한 제약학적 조성물을 전달하는데 쉽게 적용될 수 있다. 그러한 펜 전달 장치는 재사용이 가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용이 가능한 펜 전달 장치는 제약학적 조성물을 함유하는 교체 가능한 카트리지를 일반적으로 사용한다. 일단 카트리지 내의 모든 제약학적 조성물이 투여되고 나면 카트리지는 비게 되고, 빈 카트리지는 쉽게 버려지거나 제약학적 조성물을 함유한 새로운 카트리지와 교체될 수 있다. 펜 전달 장치는 그런 후 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에서는 교체 가능한 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치는 장치 내의 저장소에 보유된 제약학적 조성물로 사전 충전된다. 일단 저장소의 제약학적 조성물이 비워지면, 전체 장치는 폐기된다.

[0146] 수많은 재사용 가능한 펜 및 자기주사기 전달 장치가 본원에 기술된 방법에 따라 유용한 제약학적 조성물의 피

하 전달에 적용될 수 있다. 그 예로는, 특히 한정하는 것은 아니지만, 몇 가지 예를 들자면 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, Inn.), NOVOPEN™ I, II 및 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, N.J.), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 및 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)이 있다. 본원에 기술된 방법에 따라 유용한 제약학적 조성물의 피하 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 실례로는, 특별히 한정하는 것은 아니지만, 몇 가지 예를 들자면 SOLOSTAR™ 펜 (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ 자기주사기 (Amgen, Thousand Oaks, Calif.), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜 (Abbott Labs, Abbott Park, Ill.)이 있다.

[0147] 유리하게도, 상기 기술된 경구 또는 비경구 사용을 위한 제약학적 조성물은 활성 성분들의 용량을 맞추기 위해 조정된 단위 용량의 투여 형태로 제조된다. 단위 용량의 그러한 투여 형태는, 예를 들면 정제, 환, 캡슐, 주사액 (앰플), 좌제, 등이다. 함유된 상기 항체의 양은 일반적으로 단위 용량으로, 특히 주사액 형태로, 약 5 내지 약 750 mg/투여 형태이고; 상기 항체는 다른 투여 형태의 경우 약 5 내지 약 100 mg으로 및 약 10 내지 약 250 mg으로 함유된다.

[0148] 조합 치료법

[0149] 많은 구체예에서, 본원에 유용한 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 하나 이상의 추가 화합물 또는 치료법과 함께 투여될 수 있다. 조합 치료법은 동시적이거나 순차적일 수 있다.

[0150] 일부 구체예에서, GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 다음으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 투여된다: 인슐린, 비구아니드, hIGF1, 렙틴, 피오글리타존, 빌다글립틴, 아카보즈, 알파-글리코시다제 억제제, L-아르기닌, 다이펩티딜-펩티다제-4 억제제, 인슐린 분비 촉진제, 아밀린 수용체 작용물질, 인슐린 감작제, SGLT2 억제제, SGLT1 억제제, GLP-1 유사체, GLP-1 수용체 활성화제, 제 2 GCG 억제제, 및 제 2 GCGR 길항물질. 일부 구체예에서, GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 다음으로부터 선택된 적어도 하나의 추가 치료제와 함께 투여된다: 바나데이트 또는 바나듐 염, 페니토인(phenytoin), 벤자피브레이트(benzafibrate). 일부 구체예에서, GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질은 ω-3 지방산 풍부 어유(fish oil)와 같은 식이 보충물과 함께 투여된다.

[0151] 일부 구체예에서, 인슐린 감작제는 티아졸리딘다이온, 예컨대 트로글리타존이다. 일부 구체예에서, 인슐린 감작제는 로시글리타존이다.

[0152] 일부 구체예에서, 인슐린 분비 촉진제는 설포닐우레아, ATP-민감성 K 채널 길항물질, 또는 메글리티니드이다.

[0153] 추가적인 치료적 활성 성분(들)은 GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질의 투여 전, 투여와 동시에, 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 본 개시의 목적에 대해, 그러한 투여 처방은 제 2 치료적 활성 성분"과 함께" GCG 억제제 또는 GCGR 길항물질의 투여인 것으로 여겨진다.

[0154] 투여 처방

[0155] 본원에 기술된 특정 구체예들에 따르면, 글루카곤/GCGR 길항물질의 다중 용량이 규정된 기간에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 그 방법은 대상체에게 다중 용량의 글루카곤/GCGR 길항물질을 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용되는 바, "순차적으로 투여하는 단계"는 길항물질의 각 용량이 상이한 시점에, 예컨대 예정된 간격 (예컨대 시간, 일, 주 또는 개월)만큼 분리된 상이한 날에 대상체에게 투여되는 것을 의미한다. 본원에 기술된 방법은 환자에게 단일 초기 용량의 글루카곤/GCGR 길항물질과, 이어서 1회 이상의 이차 용량의 글루카곤/GCGR 길항물질, 그리고 선택적으로 이어서 1회 이상의 삼차 용량의 글루카곤/GCGR 길항물질을 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0156] 용어 "초기 용량", "이차 용량", 및 "삼차 용량"은 본원에서 유용한 글루카곤/GCGR 길항물질의 일시적인 투여 순서를 나타낸다. 그러므로, "초기 용량"은 치료 처방을 시작할 때 투여되는 용량 (또한 "기준선 용량"으로서도 언급됨)이고; "이차 용량"은 초기 용량 후 투여된 용량이며; "삼차 용량"은 이차 용량 후 투여된 용량이다.

초기, 이차, 및 삼차 용량은 모두 동일한 양의 글루카곤/GCGR 길항물질을 함유할 수 있지만, 일반적으로 투여 빈도와 관련하여 서로 상이할 수 있다. 그러나, 특정 구체예에서, 초기, 이차 및/또는 삼차 용량에 함유된 글루카곤/GCGR 길항물질의 양은 치료 기간 중에 서로 달라진다 (예컨대 적절하게 상향 또는 하향 조정된다). 특정 구체예에서, 둘 이상 (예컨대 2, 3, 4, 또는 5회) 용량이 치료 처방을 시작할 때 "로딩 용량"으로서 투여된 후 후속 용량들이 더 적은 빈도 기준으로 투여된다 (예컨대 "유지 용량").

[0157] 제약학적 조성물

[0158] 본원에 개시된 방법들은 중증 인슐린 저항성을 치료하는데 유용한 활성제, 예컨대 글루카곤/GCGR 길항물질의 적어도 치료적 유효량, 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물의 사용을 고려한다. 용어 "제약학적으로 허용되는"은 미국 연방 정부 또는 주정부의 규제 기관에 의해 승인된 또는 미국 약전 또는 동물, 보다 구체적으로는 인간에서의 사용에 대해, 다른 일반적으로 인식된 약전에서 열거된 것을 의미한다. 용어 "담체"는 치료제와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 비히클을 나타낸다. 그러한 제약학적 담체는 멸균된 액체, 예컨대 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 오일, 예컨대 땅콩 기름, 대두유, 미네랄 오일, 참깨 기름 등을 포함하여, 물 및 오일일 수 있다. 적합한 제약학적 부형제로는 전분, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카겔, 스테아르산 나트륨, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 있다. 조성물은, 필요하다면, 또한 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀션, 정제, 환, 캡슐, 분말, 지속성 방출 제제 등의 형태를 가질 수 있다. 조성물은 좌제로서, 전통적인 결합제 및 트라이글리세리드와 같은 담체와 함께 제제화될 수 있다. 경구용 제제는 제약 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 스테아르산 마그네슘, 사카린 나트륨, 셀룰로오스, 탄산 마그네슘, 등과 같은 표준 담체를 포함할 수 있다. 적합한 제약학적 담체의 실례는 "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin에서 기술된다.

[0159] 한 구체예에서, 조성물은 인간에게 정맥내 투여하기 위해 조정된 제약학적 조성물로서 기본적인 과정에 따라 제제화된다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제 및 주사 부위에서 통증을 덜어 주기 위한 리도카인과 같은 국소 마취제를 포함할 수 있다. 조성물이 주입에 의해 투여되어야 하는 경우에, 멸균된 제약학적 등급의 물 또는 염수를 함유한 주입 병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우에, 주사용 멸균수 또는 염수의 앰플이 제공되어서 성분들이 투여 전에 혼합될 수 있다.

[0160] 본원에 기술된 방법에 따라 유용한 활성제들은 중성 또는 염 형태로서 제제화될 수 있다. 제약학적으로 허용되는 염으로는 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 등으로부터 유래된 것들과 같이 유리 아미노기로 형성된 것들, 및 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화 철, 아이소프로필아민, 트라이에틸아민, 2-에틸아미노에탄올, 히스티딘, 프로카인, 등으로부터 유래된 것들과 같이 유리 카르복실기로 형성된 것들이 있다.

[0161] 중증 인슐린 저항성의 치료에 효과적일 활성제의 양은 본 설명을 기반으로 한 표준 임상 기법들에 의해 결정될 수 있다. 게다가, 최적의 투여량 범위를 확인하는 것을 보조하기 위하여 시험관내 검정이 선택적으로 사용될 수 있다. 제제에 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질병의 중대성에 따라 좌우될 것이고, 의사의 판단 및 각 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 그러나, 정맥내 투여의 경우 적합한 투여량 범위는 일반적으로 체중 킬로그램당 약 20 마이크로그램 내지 2그램의 활성 화합물이다. 비강내 투여에 적합한 투여량 범위는 일반적으로 약 0.01 pg/kg 체중 내지 1 mg/kg 체중이다. 유효량은 시험관내 또는 동물 모델 테스트 시스템으로부터 유래된 용량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

[0162] 전신성 투여의 경우, 치료적 유효량은 시험관내 검정으로부터 초기에 산정될 수 있다. 예를 들어, 용량은 세포 배양에서 측정되는 바 IC_{50}을 포함하는 순환 농도 범위를 이루기 위해 동물 모델에서 공식화될 수 있다. 그러한 정보는 인간에서 유용한 용량을 보다 정확하게 측정하기 위해 사용될 수 있다. 초기 투여량은 또한 생체내 데이터로부터, 예컨대 동물 모델로부터, 당업계에 잘 알려져 있는 기법들을 사용하여 산정될 수 있다. 당업자는 동물 데이터를 기반으로 인간에 대한 투여를 쉽게 최적화할 수 있을 것이다.

[0163] 투여량 및 간격은 치료 효과를 유지하기에 충분한 화합물의 혈장 수준을 제공하기 위해 개별적으로 조정될 수 있다. 국소 투여 또는 선택적 흡수의 경우에, 화합물의 유효한 국소 농도는 혈장 농도와 관련이 없을 수 있다. 당업자는 불필요한 실험 없이 치료적으로 유효한 국소 투여량을 최적화할 수 있을 것이다.

[0164] 투여되는 화합물의 양은, 물론, 대상체의 체중, 질병의 중증도, 투여 방식, 및 처방하는 의사의 판단을 기반으로, 치료되는 대상체에 따라 좌우될 것이다. 증상들이 검출 가능하거나 심지어 검출할 수 없을 때에도 치료법은 간헐적으로 반복될 수 있다. 치료법은 단독으로 또는 다른 약물과 함께 제공될 수 있다.

[0165] 키트

[0166] 또한 본원에는 포장 물질 및 그 포장 물질 내에 함유된 제약학적 작용제를 포함하는 제조 물품이 제공되는데, 여기서 제약학적 작용제는 본원에 개시된 방법에 따라 유용한 적어도 하나의 GCG/GCGR 길항물질을 포함하고, 포장 물질은 그 GCG/GCGR 길항물질이 중증 인슐린 저항성을 특징으로 하는 질병 또는 질환을 치료하는 데 사용될 수 있음을 나타내는 라벨 또는 포장 삽입물을 포함한다.

[0167] 발명이 많은 구체예들을 참조로 구체적으로 제시되고 기술된 한편, 당업자들에게는 본원에 개시된 다양한 구체예들에 대해 발명의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 형태와 세부 사항의 변화가 이루어질 수 있고 본원에 개시된 다양한 구체예들은 청구범위의 범주에 대한 한계로서 작용하는 것으로 의도되지 않는 것이 인지될 것이다.

[0168] **실시예**

[0169] 다음의 실시예들은 당업자들이 본원에 개시된 방법들을 실행하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 알 수 있도록 제공된다. 사용된 숫자 (예컨대 양, 온도, 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력이 기울여졌지만, 일부 실험적 오류 및 편차들이 확인되어야 한다. 다르게 표시되지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압이거나 거의 대기압이다.

[0170] 실시예 1: 매우 심한 인슐린 저항성의 마우스 모델에서 고혈당증을 방지하는 데 있어서의 GCGR 길항물질의 평가

[0171] 마우스에서 삼투 미니펌프(osmotic minipump)에 의한, 인슐린 수용체 길항물질인 S961의 투여는 중증 인슐린 저항성 및 고혈당증을 유발한다 (Gusarova V et al., (2014) Cell, 159:691-696; Yi P et al., (2013) Cell, 153:747-758; Schaffer L., (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun., 376:380-383). 중증 인슐린 저항성의 이 모델을 사용하여 고혈당증을 방지하는 데 있어 항-GCGR 항체의 효과, 뿐만 아니라 중증 인슐린 저항성으로부터 유발되는 혈당 수준 및 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준 (케톤혈증의 척도임)에 대한 효과를 측정하였다.

[0172] 물질:

[0173] · hIgG4 아이소타입 대조군

[0174] · H4H1327P, 항-hGCGR hIgG4

[0175] · S961, 인슐린 수용체 길항물질 (Celtek Peptides에 의해 공개된 서열 (Schaffer L., (2008) Biochem. Biophys. Res. Commun., 376:380-383)을 사용하여 관례적으로 합성됨)

[0176] 동물 및 주입:

[0177] 29마리의 마우스를 6 내지 8마리씩의 마우스의 4그룹으로 나누었다. 제 1 그룹을 10 mg/kg의 hIgG4 아이소타입 대조군으로 제 0, 6, 및 14일에 피하 주입하고 제 7일부터 PBS를 삼투 미니펌프 (Alzet 2002)에 의해 피하로 주입하였다. 제 2 그룹을 10 mg/kg의 H4H1327P로 제 0, 6, 및 14일에 피하 주입하고 제 7일부터 PBS를 삼투 미니펌프 (Alzet 2002)에 의해 피하로 주입하였다. 제 3 그룹을 10 mg/kg의 hIgG4 아이소타입 대조군으로 제 0, 6, 및 14일에 피하 주입하고 제 7일부터 S961을 20 nmol/주로 삼투 미니펌프 (Alzet 2002)에 의해 피하로 주입하였다. 제 4 그룹을 10 mg/kg의 H4H1327P로 제 0, 6, 및 14일에 피하 주입하고 제 7일부터 S961을 20 nmol/주로 삼투 미니펌프 (Alzet 2002)에 의해 피하로 주입하였다. 마우스들을 제 0, 3, 6, 10, 14, 17, 및 21일에 혈당 측정을 위해 출혈시켰다. 각 시점에서의 혈당 수준의 평균 ± SEM을 각 그룹에 대해 계산하고 표 3에 나타낸다. 혈장을 기준선 및 제 6, 14 및 21일에 수집하여 인슐린 및 베타-하이드록시부티레이트 수준을 측정하였다. 각 시점에서의 혈장 베타-하이드록시부티레이트 및 인슐린 수준의 평균 ± SEM을 각 그룹에 대해 계산하고 표 4 및 5에 나타낸다.

표 3

[0178] 혈당 수준

	시간 (경과일)	아이소타입 대조군 + PBS	H4H1327P + PBS	아이소타입 대조군 + S961	H4H1327P + S961

혈당 (mg/dL)	0	196 ± 6	191 ± 4	186 ± 5	196 ± 3
	3	195 ± 7	119 ± 3	191 ± 6	124 ± 6
	6	194 ± 9	126 ± 4	192 ± 5	129 ± 12
	10	186 ± 4	135 ± 2	437 ± 40	185 ± 7
	14	197 ± 5	128 ± 4	508 ± 53	272 ± 53
	17	211± 6	144 ± 3	467 ± 41	219 ± 22
	21	206 ± 5	141 ± 5	499 ± 18	209 ± 6

표 4

[0179] 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준

	시간 (경과일)	아이소타입 대조군 + PBS	H4H1327P + PBS	아이소타입 대조군 + S961	H4H1327P + S961
베타-하이드록시부티레이트 (mg/dL)	0	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.02
	6	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.01
	14	0.22 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.26 ± 0.03
	21	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.25 ± 0.03

표 5

[0180] 혈장 인슐린 수준

	시간 (경과일)	아이소타입 대조군 + PBS	H4H1327P + PBS	아이소타입 대조군 + S961	H4H1327P + S961
인슐린 (ng/mL)	0	0.80 ± 0.14	1.90 ± 0.69	1.15 ± 0.68	1.62 ± 0.67
	6	0.24 ± 0.04	0.24 ± 0.06	0.21 ± 0.10	0.24 ± 0.04
	14	0.37 ± 0.09	0.36 ± 0.05	22.83 ± 4.32	18.51 ± 2.30
	21	0.40 ± 0.13	0.46 ± 0.15	23.97 ± 4.36	25.11 ± 5.15

[0181] 결과:

[0182] 통계학적 분석을 프리즘 소프트웨어 (버전 6)로 수행하였다. 대조군 그룹 (그룹 1)에 대한 유의미성을 평가하기 위하여, 본페로니 다중 비교 테스트를 포함한 이원 변량 분석을 사용하였다. a: $p<0.05$, b: $p<0.01$, c: $p<0.001$, d: $p<0.0001$.

[0183] H4H1327P-치료된 및 PBS-주입된 동물들 (그룹 2)은 H4H1327P 투여 후에 (3일과 21일 사이) 아이소타입 대조군-투여된 및 PBS-주입된 동물 (그룹 1)에 비교하여 혈당의 감소를 나타냈고, 그것은 H4H1327P의 글루코오스 저하 효능을 확인시켜주었다. 아이소타입 대조군-투여된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 3)은 S961의 주입 후 (10일과 21일 사이)에 아이소타입 대조군-투여된 및 PBS-주입된 동물 (그룹 1)에 비교하여 혈당의 증가를 나타냈고, 그것은 S961의 고혈당증 효과를 확인시켜주었다. H4H1327P-치료된 및 961-주입된 동물들 (그룹 4)에서, 혈당 수준은 S961 주입 후 10일과 21일 사이에 그룹 1 마우스들의 그것과 비슷하였다. 도 1A 참조.

[0184] 혈장 인슐린 수준은 아이소타입 대조군-투여된 및 PBS-주입된 동물들 (그룹 1)에 비교하여 제 14 및 21일에 아이소타입 대조군-투여된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 3)에 비교하여 상승되었고, 그것은 연구 기간 중에 인슐린 수용체를 억제하는 S961의 작용을 확인시켜주었다. 인슐린 수준은 아이소타입 대조군-투여된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 3)과 비교하여 H4H1327P-치료된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 4)에서 똑같이 증가하였다. 도 1B 참조.

[0185] 이전 연구 (Okamoto et al., (2015) Endocrinology, 156(8): 2781-2794)와 일관되게, H4H1327P는 S961 투여와 독립적이었던 효과인, 증가된 혈장 글루카곤 수준을 증명하였다 (도 1C 참조).

[0186] 혈장 베타-하이드록시부티레이트의 수준은 아이소타입 대조군-투여된 및 PBS-주입된 동물들 (그룹 1)에 비교하여 제 14 및 21일에 아이소타입 대조군-투여된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 3)에서 상승된 반면, H4H1327P-치료된 및 S961-주입된 동물들 (그룹 4)에서는 변화하지 않았다. 도 1D 참조. 게다가, 치료 그룹들 사이에 체중의

차이는 관찰되지 않았다 (도 1E 참조).

[0187] 이 데이터들은 H4H1327P가 인슐린 수용체 길항물질-유도 고혈당증 및 케톤혈증을 방지하고 중증의 고인슐린혈증의 존재하에서조차 혈당을 저하시키는 것을 나타낸다.

[0188] 실시예 2: 매우 심한 인슐린 저항성의 마우스 모델에서 고혈당증을 반전시키는 데 있어서의 GCGR 길항물질의 평가

[0189] 중증 인슐린 저항성에 의해 유도된 수립된 고혈당증을 반전시키는 데 있어 항-GCGR 항체의 효과를 실시예 1에서 언급한 동일한 동물 모델 및 동일한 물질을 사용하되, 인슐린 수용체 길항물질을 항-GCGR 항체의 주사 전 4일에 투여한 것을 제외하고 동일하게 측정하였다. 혈당 및 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준에 미치는 효과를 또한 측정하였다.

[0190] 동물 및 주입:

[0191] 32마리의 마우스를 8마리씩의 마우스의 4그룹으로 나누었다. 제 1 그룹을 제 0일부터 PBS를 삼투 미니펌프(Alzet 2002)에 의해 피하로 주입하고 10 mg/kg의 hIgG4 아이소타입 대조군으로 제 4, 11 및 18일에 피하로 주입하였다. 제 2 그룹을 제 0일부터 PBS를 피하로 주입하고 10 mg/kg의 H4H1327P로 제 4, 11, 및 18일에 피하로 주입하였다. 제 3 그룹을 제 0일부터 S961을 20 nmol/주로 피하로 주입하고 10 mg/kg의 hIgG4 아이소타입 대조군으로 제 4, 11, 및 18일에 피하 주입하였다. 제 4 그룹을 제 0일부터 S961을 20 nmol/주로 피하로 주입하고 10 mg/kg의 H4H1327P로 제 4, 11, 및 18일에 피하 주입하였다. 마우스들을 제 0, 4, 7, 11, 14, 18, 및 21일에 혈당 측정을 위해 출혈시켰다. 각 시점에서의 혈당 수준의 평균 ± SEM을 각 그룹에 대해 계산하고 표 6에 나타낸다. 혈장을 기준선 및 제 4, 11, 및 21일에 수집하여 인슐린 및 베타-하이드록시부티레이트 수준을 측정하였다. 각 시점에서의 혈장 베타-하이드록시부티레이트 및 인슐린 수준의 평균 ± SEM을 각 그룹에 대해 계산하고 표 7 및 8에 나타낸다.

표 6

[0192] 혈당 수준 (mg/dL)

시간 (경과일)	PBS + 아이소타입 대조군	PBS + H4H1327P	S961 + 아이소타입 대조군	S961 + H4H1327P
0	186 ± 4	189 ± 4	192 ± 4	183 ± 4
4	196 ± 3	197 ± 3	491 ± 29	490 ± 21
7	216 ± 5	142 ± 6	523 ± 34	203 ± 6
11	206 ± 6	137 ± 4	533 ± 14	201 ± 6
14	210 ± 7	145 ± 5	595 ± 6	211 ± 9
18	202 ± 7	140 ± 4	550 ± 16	203 ± 5
21	168 ± 6	123 ± 4	526 ± 12	172 ± 5

표 7

[0193] 혈장 베타-하이드록시부티레이트 수준 (mmol/L)

시간 (경과일)	PBS + 아이소타입 대조군	PBS + H4H1327P	S961 + 아이소타입 대조군	S961 + H4H1327P
0	0.20 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.18 ± 0.02
4	0.27 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.37 ± 0.04
11	0.26 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.39 ± 0.03	0.26 ± 0.02
21	0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.45 ± 0.06	0.26 ± 0.02

표 8

[0194] 혈장 인슐린 수준 (ng/mL)

시간 (경과일)	PBS + 아이소타입 대조군	PBS + H4H1327P	S961 + 아이소타입 대조군	S961 + H4H1327P
0	1.05 ± 0.31	0.77 ± 0.25	0.52 ± 0.08	0.42 ± 0.09

4	0.62 ± 0.32	0.50 ± 0.11	19.23 ± 3.18	21.68 ± 2.02
11	0.39 ± 0.09	0.35 ± 0.05	25.97 ± 3.48	64.25 ± 18.17
21	1.67 ± 0.47	0.37 ± 0.04	51.43 ± 15.03	64.78 ± 14.91

[0195] 결과:

[0196] 통계학적 분석을 프리즘 소프트웨어 (버전 6)로 수행하였다. 대조군 그룹 (그룹 1)에 대한 유의미성을 평가하기 위하여, 본페로니 다중 비교 테스트를 포함한 이원 변량 분석을 사용하였다. a: $p<0.05$, b: $p<0.01$, c: $p<0.001$, d: $p<0.0001$.

[0197] S961-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 3)은 S961 주입 후 (4일과 21일 사이) PBS-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 1)과 비교하여 혈당의 증가를 보였고, 그것은 S961의 고혈당 효과를 확인시켜주었다. S961-주입된 및 H4H1327P-치료된 동물들 (그룹 4)은 H4H1327P 투여 후에 PBS-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 및 동물들 (그룹 1)의 혈당 수준과 거의 동일한 혈당 수준을 보였다. PBS-주입된 및 H4H1327P-치료된 동물들 (그룹 2)은 H4H1327P 투여 후에 (4일과 21일 사이) 아이소타입 대조군-투여된 및 PBS-주입된 동물들 (그룹 1)과 비교하여 감소된 혈당 수준을 유지하였고, 그것은 H4H1327P의 글루코오스 저하 효능을 확인시켜 주었다. 도 2A 참조.

[0198] 혈장 인슐린 수준은 PBS-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 1)과 비교하여 제 4, 11 및 21일에 S961-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 3)에서 상승되었고, 이것은 연구 기간 중에 인슐린 수용체를 억제하는 S961의 작용을 확인시켜 주었다. 도 2B 참조. 고인슐린혈증 (표 8 및 도 2B) 및 고글루카곤혈증 (도 2C 참조)은 수용체 두 길항물질을 모두 받은 마우스에서 뚜렷하였다.

[0199] 혈장 베타-하이드록시부티레이트의 수준은 PBS-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 1)에 비교하여 제 11 및 21일에 S961-주입된 및 아이소타입 대조군-투여된 동물들 (그룹 3)에서 상승한 반면, 그룹 1 동물들과 관련하여 이 동일한 시점에서 S961-주입된 및 H4H1327P-치료된 동물들 (그룹 4)에서는 변화가 없었다. 도 2D 참조.

[0200] 이전의 발견 (Okamoto et al., 2015)과 일관되게, H4H1327P는 S961이 그런 것처럼, 그러나 항체가 그런 것보다는 더 적은 정도로 순환하는 아미노산 수준을 증가시켰다 (도 2E 참조). 인슐린 및 글루카곤 수용체 둘 다의 억제는 혈장 아미노산 수준의 추가의 증가를 유발하였따 (도 2E 참조). 체중의 변화는 관찰되지 않았다 (도 2F 참조).

[0201] 이 데이터들은 H4H1327P가 중증의 고인슐린혈증의 존재하에서도 인슐린 수용체 길항물질-유도 고혈당증 및 케톤혈증을 반전시키고 혈당을 저하시킨 것을 나타낸다.

[0202] 실시예 3: 인슐린 수용체 길항물질-유도 간 Pepck 발현을 반전시키는 데 있어서의 GCGR 길항물질의 평가

[0203] 실시예 1로부터의 4개의 그룹의 각각에 따라 치료된 마우스들로부터 얻어진 간 샘플을 극저온 RIPA 완충액 (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 1 mol의 EDTA, 50 mM NaF, 10 mM β-글리세로포스페이트, 5 mM 피로인산 나트륨 2염기 및 1% NP-40)으로 프로테아제 및 포스파타제 억제제 칵테일 (Thermo-Fisher), 1 mM DTT 및 2 mM Na_3VO_4의 존재하에 용해시켰다. 총 샘플 용해물을 6x SDS 로딩 완충액 (Alfa-Aesar)과 혼합하고 5분 동안 끓였다. 단백질 샘플 (10 내지 100 μg)을 로딩하고 4 내지 20% 구배 SDS-PAGE 겔 (Bio-Rad) 상에서 분리하고 폴리비닐리덴 다이플루오라이드 막으로 옮겼다. 막을 1시간 동안 0.1% Tween20 (Bio-Rad)이 보충된 1x TBS 중의 5% 소혈청 알부민으로 차단하고 포스포에놀피루브산 카르복시키나아제 (PEPCK)에 대한 항체 (1:250; Abcam)와 함께 인큐베이션하였다. 결합된 항체들을 서양고추냉이 과산화효소-콘쥬게이트된 항-토끼 또는 항-마우스 이차 항체들 (1:10,000; Jackson ImmunoResearch) 및 향상된 화학발광 시약 (Thermo-Fisher)을 사용하여 검출하였다. 밴드 세기를 Image J 소프트웨어로 정량하였다.

[0204] 웨스턴 블롯 분석은 속도 제한 당신생 효소 포스포에놀피루브산 카르복시키나아제 (Pepck)가 H4H1327P로 치료된 마우스의 간에서 70% 감소되었음을 나타냈다 (도 3A 및 B 참조). 이와 대조적으로, Pepck 수준은 S961이 주입된 마우스의 간에서 2.3배 증가하였고, 이 효과는 H4H1327P에 의한 기준선보다 30% 아래로 반전된 것이었다. 그러므로, 글루카곤 및 인슐린 신호전달의 상대적 수준은 앞서 증명된 것과 같이, Pepck 발현을 조절한다 (Lynedjian et al., (1995); Ruckt δschel et al., (2000); Chakravarty et al., (2005)). 이 데이터들은 H4H1327P로의 GCGR 차단이 간의 글루코오스 생산을 억제함으로써 마우스에서 중증 인슐린 저항성-유도된 고혈당

증을 방지하는 것을 보여준다.

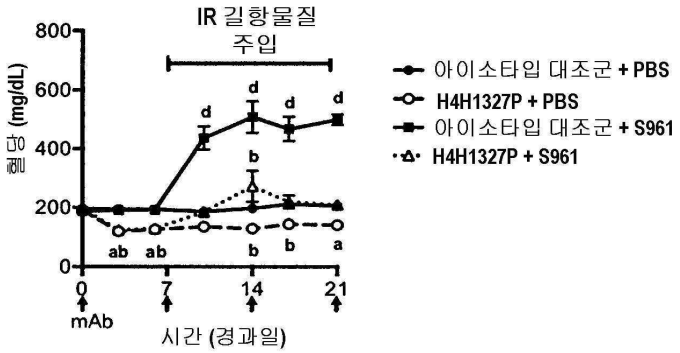
[0205] 실시예 4: α- 및 β-세포량에서 GCGR 및 인슐린 수용체 길항작용의 평가

[0206] 실시예 2로부터의 4개의 그룹의 각각에 따라 치료된 마우스들로부터 얻어진 췌장을 10% 중성 완충 포르말린 용액에 48시간 동안 고정시켜서 파라핀에 삽입시키고, 슬라이드 위에서 구획화하였다. 췌장 조직 및 세포를 침투할 수 있게 만들고 마우스 *Gcg* 및 *Ins2*에 대한 mRNA 프로브들의 조합으로 제조자 (Advanced Cell Diagnostics)의 지시에 따라 하이브리드를 제조하였다. 발색 키트를 사용하여 mRNA 신호를 증폭시켰다 (Advanced Cell Diagnostics). 글루카곤 및 인슐린 양성 세포의 면적을 Halo 디지털 영상화 분석 소프트웨어 (Indica Labs)를 사용하여 측정하였다. 전체 췌장에 대한 글루카곤 및 인슐린 양성 면적의 퍼센트를 계산하였다. α- 및 β-세포량을 각 동물의 상응하는 췌장 중량에 대한 그것들에 대한 α- 및 β-세포 면적을 곱함으로써 계산하였다. 섬세포 수를 인슐린 Halo 디지털 영상화 분석 소프트웨어를 사용하여 구획 상의 양성 섬세포의 수를 계수함으로써 측정하고 구획의 전체 췌장 면적에 의해 표준화하였다.

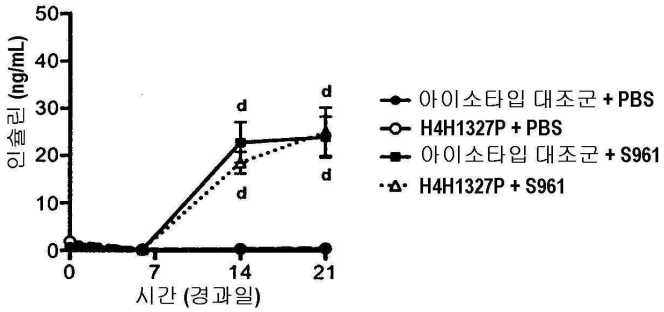
[0207] H4H1327P는 췌장 중량을 19% 증가시켰는데, 이 효과는 H4H1327P 및 S961이 둘 다 존재할 때 더 컸다 (433%) (도 4A 참조). *Gcg* 및 *Ins2*에 대한 프로브들을 사용한 RNA 제자리 하이브리드 형성 (RNA ISH)을 췌장 구획의 형태적 분석에 사용하였다. H4H1327P는 α-세포량을 5.7배 증가시켰고 (도 4B 참조), S961 투여는 β-세포량을 3배 증가시켰다 (도 4C 참조). H4H1327P 단독으로는 β-세포량에 영향을 미치지 않았지만, 예상외로, β-세포량은 S961 단독과 비교할 때 S961과 H4H1327P의 동시 존재하에 배가되었고 대조군 마우스들보다 5.8배 증가되었다 (도 4C 참조). β-세포량의 추가 팽창은 정상 혈당 수준의 고정시 일어난 것을 주지하는 것이 중요하다 (표 3). α-세포량은 S9761 처리 및 H4H1327P의 동시 존재시에 약간 (1.6배) 증가하였다 (H4H1327P 단독보다는 1.4배) (도 4B 참조). S961은 총 췌장 면적 당 섬세포 수를 49% 증가시킨 반면, S961과 H4H1327P의 조합 치료는 면적당 섬세포 수를 82% 증가시켰다 (도 4D 참조). 요약하면, α- 및 β-세포량의 보상성 증가는 글루카곤 및 인슐린 신호전달이 억제되었을 때 생성되었다. 신규한 발견은 β-세포량이 인슐린 저항성 마우스에서 글루카곤 신호전달이 차단되었을 때 배가되었고 이런 효과는 정상 혈당 수준에서 일어났다는 것이다.

도면

도면1ab

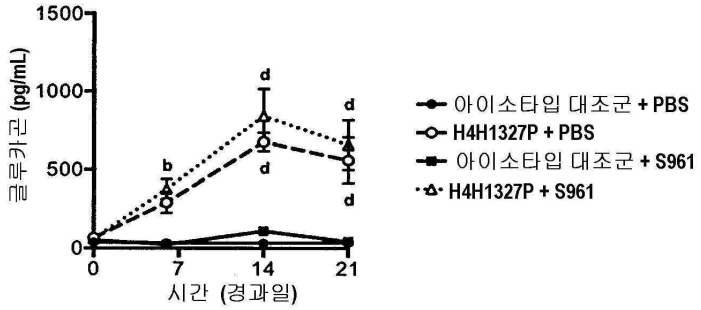


도 1A

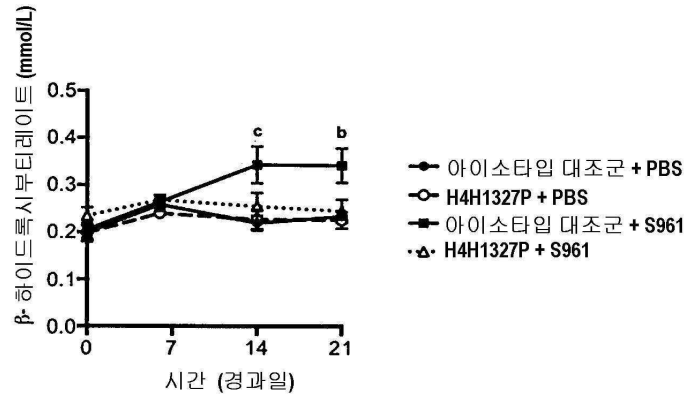


도 1B

도면1cd

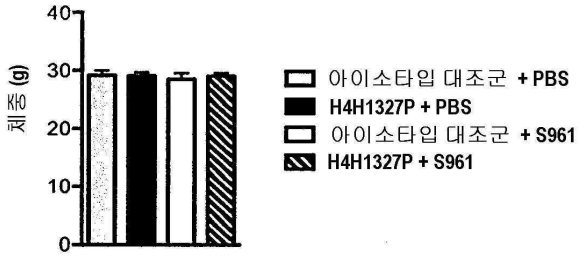


도 1C



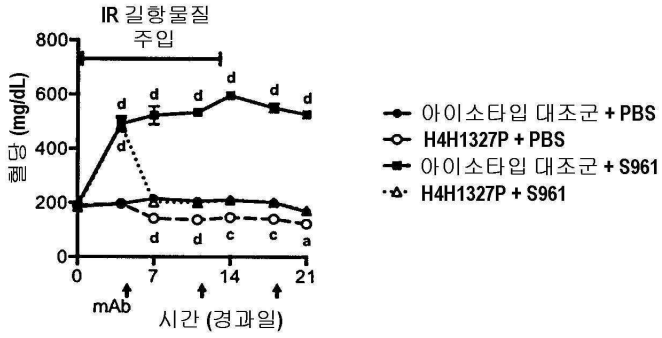
도 1D

도면1e

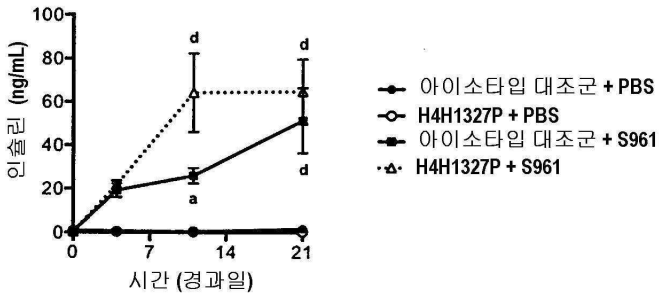


도 1E

도면2ab

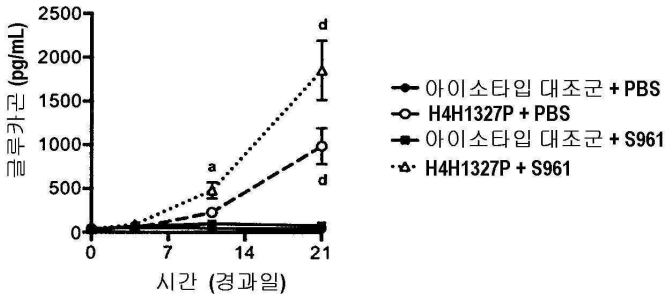


도 2A

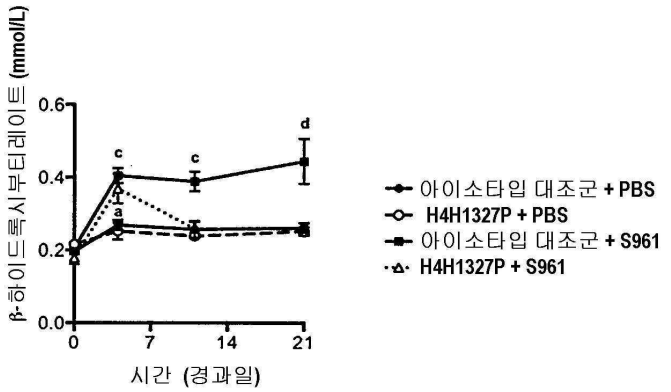


도 2B

도면2cd

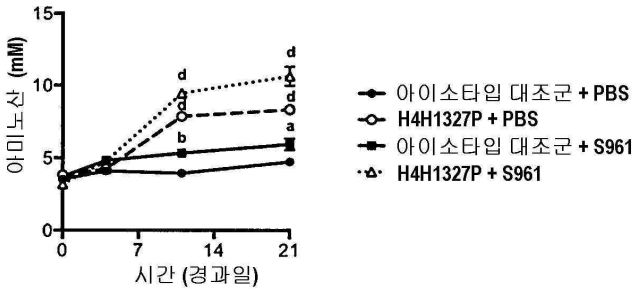


도 2C

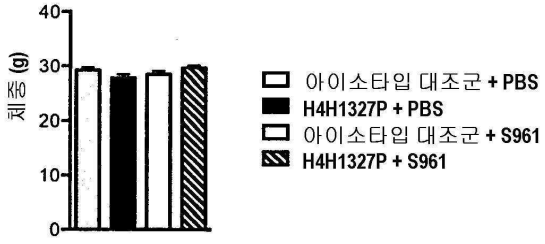


도 2D

도면2ef

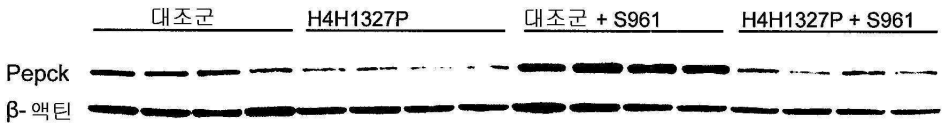


도 2E

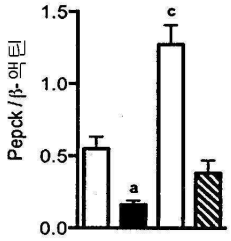


도 2F

도면3

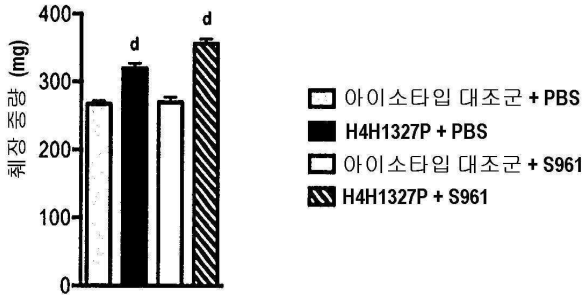


도 3A

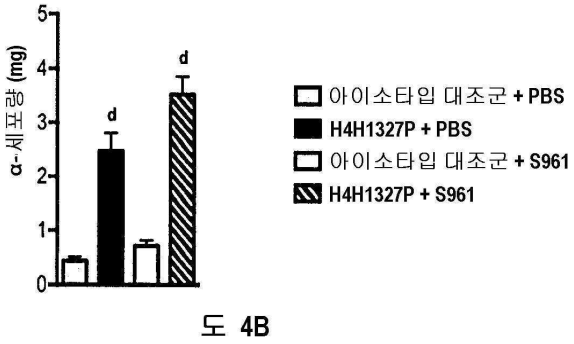


도 3B

도면4ab

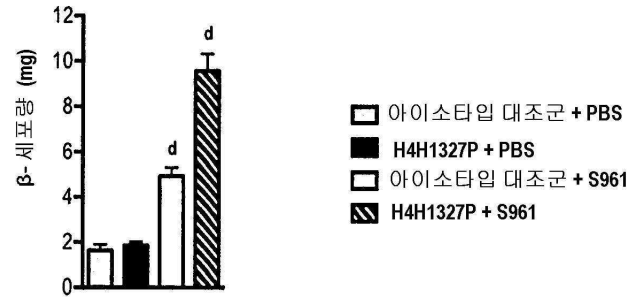


도 4A

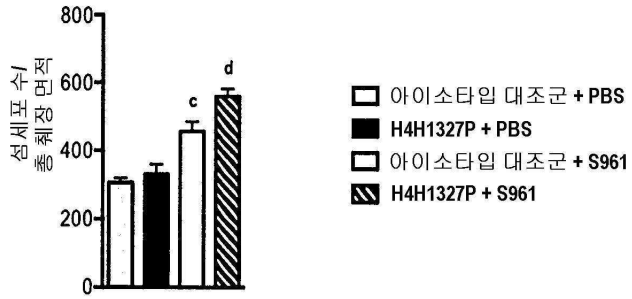


도 4B

도면4cd



도 4C



도 4D

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

Gromada, Jesper

Okamoto, Haruka

Jaspers, Stephen

Harp, Joyce

<120> Methods of Treating Severe Insulin Resistance by Interfering with Glucagon Receptor Signaling

<130> 10282WO01

<140> TBD

<141> 2017-08-25

<150> 62/381,263

<151> 2016-08-30

<150> 62/411,032

<151> 2016-10-21

<160> 308

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

caggtccagt tggtacagtc tggggctgac gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggaca tatcctcact gatttatcca tgcactgggt gcgacagcct 120

cctggaaaag gacttgagtg gatggcaggt tttgatcctg aagaaggtaa aataatctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctggggac acggccgttt attactgtgc aacaagcgat 300

attttgactg ggtattatag agactactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360

ctcaccgtct cctca 375

<210> 2

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly His Ile Leu Thr Asp Leu

20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Ala Gly Phe Asp Pro Glu Glu Gly Lys Ile Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Ser Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

ggacatatcc tcactgattt atcc 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

Gly His Ile Leu Thr Asp Leu Ser

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

tttgatcctg aagaaggtaa aata 24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

Phe Asp Pro Glu Glu Gly Lys Ile

1 5

<210> 7

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

gcaacaagcg atattttgac tgggtattat agagactact acggtttgga cgtc 54

<210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

Ala Thr Ser Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu

1 5 10 15

Asp Val

<210> 9

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

gatattgtga tgactcagtc tccactcttc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaaag gatacaacta tttggattgg 120

tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgaaga tgttggggtt tattactgca tgcaaactct acaaactcct 300

cggacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Phe Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Lys Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 11

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

cagagcctcc tgcatagtaa ggatacaac tat 33

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 12

Gln Ser Leu Leu His Ser Lys Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 13

ttgggttct 9

<210> 14

<211> 3

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 14

Leu Gly Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

atgcaaactc tacaaactcc tcggacg 27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Arg Thr

1 5

<210> 17

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

caggtccagt tggtacagtc tggggctgac gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggaca tatcctcact gatttatcca tgcactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagaaggtga aataatctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctggggac acggccgttt attactgtgc aacaagcgat 300

attttgactg gttattatag agactactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360

ctcaccgtct cctca 375

<210> 18

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly His Ile Leu Thr Asp Leu

20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Ile Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Thr Ser Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 19

ggacatatcc tcactgattt atcc 24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 20

Gly His Ile Leu Thr Asp Leu Ser

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 21

tttgatcctg aagaaggtga aata 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 22

Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Ile

1 5

<210> 23

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

gcaacaagcg atattttgac tggttattat agagactact acggtttgga cgtc 54

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

Ala Thr Ser Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Arg Asp Tyr Tyr Gly Leu

1 5 10 15

Asp Val

<210> 25

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 25

gatattgtga tgactcagtc tccactcttc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaaag gatacaacta tttggattgg 120

tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 180

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgaaga tgttggggtt tattactgca tgcaaactct acaaactcct 300

cggacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 26

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Phe Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Lys Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Thr
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 27

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 27

cagagcctcc tgcatagtaa ggatacaac tat 33

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 28

Gln Ser Leu Leu His Ser Lys Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 29

ttgggttct 9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 30

Leu Gly Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 31

atgcaaactc tacaaactcc tcggacg 27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 32

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Arg Thr

1 5

<210> 33

<211> 372

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 33

gaggagcaac tggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggagggtc cctaagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactctcagt agttatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagag gtggtagtct gatacactac 180

acagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ttcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgt gagagaccca 300

gcagctcgtt atcattatta ttatcacggt atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 34

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 34

Glu Glu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Arg Gly Gly Ser Leu Ile His Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Pro Ala Ala Arg Tyr His Tyr Tyr Tyr His Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 35

ggattcactc tcagtagtta tgaa 24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 36

Gly Phe Thr Leu Ser Ser Tyr Glu

1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 37

attagtagag gtggtagtct gata 24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 38

Ile Ser Arg Gly Gly Ser Leu Ile

1 5

<210> 39

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 39

gtgagagacc cagcagctcg ttatcattat tattatcacg gtatggacgt c 51

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 40

Val Arg Asp Pro Ala Ala Arg Tyr His Tyr Tyr Tyr His Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 41

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 41

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg cacaataatg gatataacta tttggattgg 120

tatctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc tagtcgggcc 180

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttat actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgaaga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300

tggacgttcg gccgagggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 42

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 42

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Asn

20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Trp Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 43

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 43

cagagcctcc tgcacaataa tggatataac tat 33

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 44

Gln Ser Leu Leu His Asn Asn Gly Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 45

ttgggttct 9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 46

Leu Gly Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 47

atgcaagctc tacaaactcc gtggacg 27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 48

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 49

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 49

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggacgtga taaatactat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actccaagaa cacgctttat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagatg 300

gtgtattacg atattttgac tggttatcat aactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 50

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Arg Asp Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 51

ggattcacct tcagtagtta tgac 24

<

210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp

1 5

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 53

atatcatctg atggacgtga taaa 24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 54

Ile Ser Ser Asp Gly Arg Asp Lys

1 5

<210> 55

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 55

gcgaaagaga tggtgtatta cgatattttg actggttatc ataactacta cggtatggac 60

gtc 63

<210> 56

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 56

Ala Lys Glu Met Val Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His Asn Tyr
1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Val
20

<210> 57

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 57

gacatcgtga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggcattaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatccatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatactt accctctcac tttcggcgga 300

gggaccaaag tggagatcaa acga 324

<210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 58

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

His Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 59

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 59

cagggcatta acaattat 18

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 60

Gln Gly Ile Asn Asn Tyr

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 61

actgcatcc 9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400

> 62

Thr Ala Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 63

caacagtata atacttaccc tctcact 27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 64

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 65

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 65

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatctg atggacgtga taaatactat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actccaagaa cacgctttat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagatg 300

gtgtattacg atattttgac tggttatcat aactactacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc c 381

<210> 66

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 66

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Arg Asp Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Glu Met Val Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr His Asn Tyr
100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

<210> 67

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 67

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggcattaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatccatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatactt accctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 68

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

His Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 69

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 69

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagt aactatttga tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg gctggccaac atacaggaag atggaattga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagccc 300

tcccattacg atattttgac tggttatgac tactattacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 70

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 70

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ala Asn Ile Gln Glu Asp Gly Ile Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Pro Ser His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Tyr Tyr
100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 71

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 71

ggattcacct ttagtaacta tttg 24

<210> 72

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 72

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Leu

1 5

<210> 73

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 73

atacaggaag atggaattga gaaa 24

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 74

Ile Gln Glu Asp Gly Ile Glu Lys

1 5

<210> 75

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 75

gcgagagagc cctcccatta cgatattttg actggttatg actactatta cggtatggac 60

gtc 63

<210> 76

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 76

Ala Arg Glu Pro Ser His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Tyr Tyr
1 5 10 15

Tyr Gly Met Asp Val
20

<210> 77

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 77

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcattctca cagtcagcag cctgcagcct 240

gaagactttg caacttatta ctgtctacag tataatagta acccattcac tttcggccct 300

gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 78

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Asn Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 79

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 79

cagggcatta gaaatgat 18

<210> 80

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 80

Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 81

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 81

gctgcatcc 9

<210> 82

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 82

Ala Ala Ser

1

<210> 83

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 83

ctacagtata atagtaaccc attcact 27

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 84

Leu Gln Tyr Asn Ser Asn Pro Phe Thr

1 5

<210> 85

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 85

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagt aactatttga tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg gctggccaac atacaggaag atggaattga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagccc 300

tcccattacg atattttgac tggttatgac tactattacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc c 381

<210> 86

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Ala Asn Ile Gln Glu Asp Gly Ile Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Pro Ser His Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Asp Tyr Tyr

100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser

115 120 125

<210> 87

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 87

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcattctca cagtcagcag cctgcagcct 240

gaagactttg caacttatta ctgtctacag tataatagta acccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 88

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ile Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Ser Asn Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 89

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 89

gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggagcc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cctctggttt caccttcagt aactacgaca tgcactgggt ccgccaaact 120

acaggaaaag gtctggagtg gatctcagct attgatactg ctggtgacac atactatcca 180

ggctccgtga agggccgatt caccgtctcc agagaaaatg ccaagaactc cttttatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag ggaggggaag 300

tattacgata ttttgactgg tgactaccac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 90

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Gly Lys Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asp Tyr His Tyr Tyr
100 105 110

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 91

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 91

ggtttcacct tcagtaacta cgac 24

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 92

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

1 5

<210> 93

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 93

attgatactg ctggtgacac a 21

<210> 94

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 94

Ile Asp Thr Ala Gly Asp Thr

1 5

<210

> 95

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 95

gcaagggagg ggaagtatta cgatattttg actggtgact accactacta cggtatggac 60

gtc 63

<210> 96

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 96

Ala Arg Glu Gly Lys Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asp Tyr His Tyr
1 5 10 15
Tyr Gly Met Asp Val
20

<210> 97
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 97
gccatccgga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgact gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 98
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 98
Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 99

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 99

cagggcatta gaaatgat 18

<210> 100

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 100

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 101

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 101

gctacatcc 9

<210> 102

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 102

Ala Thr Ser

1

<210> 103

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 103

ctacagcata atagttaccc gctcact 27

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 104

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 105

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 105

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagcc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cctctggttt caccttcagt aactacgaca tgcactgggt ccgccaaact 120

acaggaaaag gtctggagtg gatctcagct attgatactg ctggtgacac atactatcca 180

ggctccgtga agggccgatt caccgtctcc agagaaaatg ccaagaactc cttttatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag ggaggggaag 300

tattacgata ttttgactgg tgactaccac tactacggta tggacgtctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctcc 378

<210> 106

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 106

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

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

<210> 107

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 107

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgact gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 108

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 108

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 109

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 109

caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctgggtt cacctttagt aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtttg atgaaattga taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ccgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggctgtgt attactgtgc gcgagaagat 300

tacgatattt tgactggtta ctattacgct atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 110

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 110

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Phe Asp Glu Ile Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Pro Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 111

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 111

gggttcacct ttagtaactt tggc 24

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 112

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly

1 5

<210> 113

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 113

atatggtttg atgaaattga taaa 24

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 114

Ile Trp Phe Asp Glu Ile Asp Lys

1 5

<210> 115

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 115

gcgcgagaag attacgatat tttgactggt tactattacg ctatggacgt c 51

<210> 116

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 116

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 117

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 117

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct aatctatgct gcatcccgtt tgcaaagtgg ggtcccatcg 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg gaacttatta ctgtctacag cataatagtc accccacctt cggccaaggg 300

accaaggtgg agatcaaacg a 321

<210> 118

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 118

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser His Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 119

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 119

cagggcatta gaaatgat 18

<210> 120

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 120

Gln Gly Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 121

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 121

gctgcatcc 9

<210> 122

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 122

Ala Ala Ser

1

<210> 123

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 123

ctacagcata atagtcaccc cacc 24

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 124

Leu Gln His Asn Ser His Pro Thr

1 5

<210> 125

<211> 369

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 125

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctgggtt cacctttagt aactttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtttg atgaaattga taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ccgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggctgtgt attactgtgc gcgagaagat 300

tacgatattt tgactggtta ctattacgct atggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcc 369

<210> 126

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 126

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Phe Asp Glu Ile Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser

115 120

<210> 127

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 127

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct aatctatgct gcatcccgtt tgcaaagtgg ggtcccatcg 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg gaacttatta ctgtctacag cataatagtc accccacctt cggccaaggg 300

accaaggtgg agatcaaa 318

<210> 128

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 128

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 129

<211> 381

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 129

gaggtgcagc tggtggagtc gggggggaggc atggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctccagt aactacgaca tgcactgggt ccgccaagct 120

acaggaaaag gtctggagtg ggtctcaagt attgatactg ctggggacac ttactatcca 180

gactccgtga agggccgctt tatcatctcc agagaaaatg ccaaaaactc cctgtatctt 240

caaatgaata gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtacaag ggagccccga 300

aattacgaaa ttttgactgg tcactaccac taccacggta tggacatctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 130

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Asn Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Arg Glu Pro Arg Asn Tyr Glu Ile Leu Thr Gly His Tyr His Tyr His
100 105 110

Gly Met Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 131

ggattcacct ccagtaacta cgac 24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Synthetic

<400> 132

Gly Phe Thr Ser Ser Asn Tyr Asp

1 5

<210> 133

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 133

attgatactg ctggggacac t 21

<210> 134

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 134

Ile Asp Thr Ala Gly Asp Thr

1 5

<210> 135

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic

<400> 135

acaagggagc cccgaaatta cgaaattttg actggtcact accactacca cggtatggac 60

atc 63

<210> 136

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 136

Thr Arg Glu Pro Arg Asn Tyr Glu Ile Leu Thr Gly His Tyr His Tyr

1 5 10 15

His Gly Met Asp Ile

20

<210> 137

<211> 324

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 137

gacatccaga tgacccagtc gccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatact gcattcagtt tacagagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtaaatc tggcacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg cgacttatta ctgtctgcag gattacacta atcctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 138

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 138

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Thr Ala Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Thr Asn Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 139

caggccatta gaaatgat 18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 140

Gln Ala Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 141

actgcattc 9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 142

Thr Ala Phe

1

<210> 143

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 143

ctgcaggatt acactaatcc tcggacg 27

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 144

Leu Gln Asp Tyr Thr Asn Pro Arg Thr

1 5

<210> 145

<211> 378

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 145

gaggtgcagc tggtggagtc ggggggaggc atggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctccagt aactacgaca tgcactgggt ccgccaagct 120

acaggaaaag gtctggagtg ggtctcaagt attgatactg ctggggacac ttactatcca 180

gactccgtga agggccgctt tatcatctcc agagaaaatg ccaaaaactc cctgtatctt 240

caaatgaata gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtacaag ggagccccga 300

aattacgaaa ttttgactgg tcactaccac taccacggta tggacatctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctcc 378

<210> 146

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 146

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

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

<210> 147
<211> 321
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 147
gccatccaga tgacccagtc gccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatact gcattcagtt tacagagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtaaatc tggcacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg cgacttatta ctgtctgcag gattacacta atcctcggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 148
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 148

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

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

<210> 149
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic

<400> 149
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cgccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtgacattt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaagtga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagaagca 300
gtattagctg ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357
<210> 150
<211> 119
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 150

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

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

<210> 151
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 151
ggattcgcct tcagtaacta tggc 24
<210> 152
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 152
Gly Phe Ala Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5
<210> 153
<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 153

atatcatatg atggaagtaa taaa 24

<210> 154

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 154

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 155

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 155

gcgaaagaag cagtattagc tgccctcttt gactac 36

<210> 156

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 156

Ala Lys Glu Ala Val Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 157

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 157

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaatcagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcaacagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtact 300

cctacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 158

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 158

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Gln Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 159

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 159

cagagtgttt tatacagctc caacaatcag aactac 36

<210> 160

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 160

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Gln Asn Tyr

1 5 10

<210> 161

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 161

tgggcatct 9

<210> 162

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 162

Trp Ala Ser

1

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 163

cagcaatatt atagtactcc tacg 24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 164

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Thr

1 5

<210> 165

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 165

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacgttcaat acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcaaatg ataagagtaa tacattctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctggaaatga acagcctgac agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcactgt ctcctca 357

<210> 166

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 166

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Glu Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 167
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 167
ggattcacgt tcaataccta tggc 24
<210> 168
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 168
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Gly
1 5
<210> 169
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 169
atatcaaatg ataagagtaa taca 24

<210> 170
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 170

Ile Ser Asn Asp Lys Ser Asn Thr

1 5

<210> 171

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 171

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 172

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 172

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 173

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 173

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ttacttagct 120

tggtaccaac agaaaccaag acagcctctt aaactactca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatt ttatagtgtt 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 174

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 174

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln
35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Phe Tyr Ser Val Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 175

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 175

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aattac 36

<210> 176

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 176

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 177

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 177

tgggcatct 9

<210> 178

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 178

Trp Ala Ser

1

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 179

cagcaatttt atagtgttcc cact 24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 180

Gln Gln Phe Tyr Ser Val Pro Thr

1 5

<210> 181

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 181

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacgtttagt acctttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggctttt atatcaaatg ataagaataa taaattctat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaggga cacgctatat 240

ctgcaaatga acagcctgac acctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 182

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 182

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Asn Asp Lys Asn Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 183

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 183

ggattcacgt ttagtacctt tggc 24

<210> 184

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 184

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe Gly

1 5

<210> 185

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 185

atatcaaatg ataagaataa taaa 24

<210> 186

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 186

Ile Ser Asn Asp Lys Asn Asn Lys

1 5

<210> 187

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 187

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 188

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 189

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 189

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataaaaa ttacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctctt aaacttctca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatt ttatactgtt 300

cccacttttg gcctggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 190

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 190

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Phe Tyr Thr Val Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 191

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 191

cagagtgttt tatacagctc caacaataaa aattac 36

<210> 192

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 192

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 193

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 193

tgggcatct 9

<210> 194

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 194

Trp Ala Ser

1

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 195

cagcaatttt atactgttcc cact 24

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 196

Gln Gln Phe Tyr Thr Val Pro Thr

1 5

<210> 197

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 197

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cctctggatt caccttcagg aactatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

cctggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt acatcatctg atggacttaa taaattctat 180

tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtct 240

ctgcaaatta ccggcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 198
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 198

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

<210> 199
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 199

ggattcacct tcaggaacta tgac 24

<210> 200
<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 200

Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Asp

1 5

<210> 201

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 201

acatcatctg atggacttaa taaa 24

<210> 202

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 202

Thr Ser Ser Asp Gly Leu Asn Lys

1 5

<210> 203

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 203

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 204

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 204

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 205
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 205
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttggct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctct tttactgggc atctacccgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaaca ttatactact 300
cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 206
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 206
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Phe Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

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

His Tyr Thr Thr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 207

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 207

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 208

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 208

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 209

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 209

tgggcatct 9

<210> 210

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 210

Trp Ala Ser

1

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 211

cagcaacatt atactactcc cact 24

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 212

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Thr

1 5

<210> 213

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 213

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccagact 120

ccgggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcatatg atggaaataa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 214

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 214

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 215

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 215

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 216

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 216

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 217

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 217

atatcatatg atggaaataa taaa 24

<210> 218

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 218

Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys

1 5

<210> 219

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 219

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 220

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 221

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 221

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaacctgg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca ctttattact gtcaacaata ttataatact 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 222

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 222

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Asn Thr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 223

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 223

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 224

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 224

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 225

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 225

tgggcatct 9

<210> 226

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 226

Trp Ala Ser

1

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 227

caacaatatt ataatactcc cact 24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 228

Gln Gln Tyr Tyr Asn Thr Pro Thr

1 5

<210> 229

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 229

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcatatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctccaaatga acagcctgac agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 230

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 230

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 231

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 231

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 232

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 232

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 233

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 233

atatcatatg atggaagtaa taaa 24

<210> 234

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 234

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 235

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 235

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 236

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 236

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 237

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 237

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagttcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccaag acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cattctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatt ttatagtatt 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 238

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 238

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln
35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Phe Tyr Ser Ile Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 239

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 239

cagagtgttt tatacagttc caacaataag aactac 36

<210> 240

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 240

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 241

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 241

tgggcatct 9

<210> 242

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 242

Trp Ala Ser

1

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 243

cagcaatttt atagtattcc cact 24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 244

Gln Gln Phe Tyr Ser Ile Pro Thr

1 5

<210> 245

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 245

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcaaatg ataaaagtaa taaatattat 180

gcagactcct tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgac agctgaagac acggctgttt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctattggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 246

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 246

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Asn Asp Lys Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 247

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 247

ggattcacct ttagtagcta tggc 24

<210> 248

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 248

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 249

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 249

atatcaaatg ataaaagtaa taaa 24

<210> 250

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 250

Ile Ser Asn Asp Lys Ser Asn Lys

1 5

<210> 251

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 251

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactat 36

<210> 252

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 252

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 253

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 253

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccaag acagcctcct aagctactca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaatt ttatagtgtt 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 254

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 254

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

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

100 105 110

<210> 255

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 255

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 256

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 256

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 257

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 257

tgggcatct 9

<210> 258

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 258

Trp Ala Ser

1

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 259

caacaatttt atagtgttcc cact 24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 260

Gln Gln Phe Tyr Ser Val Pro Thr

1 5

<210> 261

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 261

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcatttg atggaagtaa taaatactat 180

acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctccaaatga acagcctgac agctgaggac acggctattt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcactgt ctcctca 357

<210> 262
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 262

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

<210> 263
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 263

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 264
<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 264

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 265

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 265

atatcatttg atggaagtaa taaa 24

<210> 266

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 266

Ile Ser Phe Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 267

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 267

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 268

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 268

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 269
<211> 336
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 269
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccaag acagcctcct aacctgctca tttactgggc atctattcgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca ttttattact gtcagcaatt ttatagtatt 300
cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 270
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 270
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln
35 40 45
Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val

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

Phe Tyr Ser Ile Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 271

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 271

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 272

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 272

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 273

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 273

tgggcatct 9

<210> 274

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 274

Trp Ala Ser

1

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 275

cagcaatttt atagtattcc cact 24

<210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 276

Gln Gln Phe Tyr Ser Ile Pro Thr

1 5

<210> 277

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 277

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagg acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcaaagg atggaagtga taaatactat 180

gtagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgac agctgaggac acggctgttt attattgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctactggggc cagggaaccc tggtcactgt ctcctca 357

<210> 278

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 278

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Lys Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 279

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 279

ggattcacct ttaggaccta tggc 24

<210> 280

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 280

Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Gly

1 5

<210> 281

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 281

atatcaaagg atggaagtga taaa 24

<210> 282

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 282

Ile Ser Lys Asp Gly Ser Asp Lys

1 5

<210> 283

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 283

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactac 36

<210> 284

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 284

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 285

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 285

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccaag acagcctcct aaactcctca tttactgggc atctaatcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaatt ttatagtgtt 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 286

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 286

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

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

100 105 110

<210> 287

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 287

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 288

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 288

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 289

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 289

tgggcatct 9

<210> 290

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 290

Trp Ala Ser

1

<210> 291

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 291

cagcaatttt atagtgttcc cact 24

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 292

Gln Gln Phe Tyr Ser Val Pro Thr

1 5

<210> 293

<211> 357

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 293

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagtcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcaaatg ataaaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgac agctgaggac acggctgttt attactgtgc gaaagagtcc 300

attttagcag ccctctttga ctcctggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 294

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 294

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Asn Asp Lys Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 295

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 295

ggattcacct ttagtagcta tggc 24

<210> 296

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 296

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 297

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 297

atatcaaatg ataaaagtaa taaa 24

<210> 298

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 298

Ile Ser Asn Asp Lys Ser Asn Lys

1 5

<210> 299

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 299

gcgaaagagt ccattttagc agccctcttt gactcc 36

<210> 300

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 300

Ala Lys Glu Ser Ile Leu Ala Ala Leu Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 301

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 301

gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccaag acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctattcgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg gggcagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctgc agatgtggca gtttattact gtcagcaatt ttatagtgtt 300

cccacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 302

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 302

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Ala Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

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

100 105 110

<210> 303

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 303

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 304

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 304

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 305

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 305

tgggcatct 9

<210> 306

<

211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 306

Trp Ala Ser

1

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 307

cagcaatttt atagtgttcc cact 24

<210> 308

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 308

Gln Gln Phe Tyr Ser Val Pro Thr

1 5