

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0094584

(43) 공개일자 2021년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/00 (2006.01) A61K 38/18 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01) C07K 14/495 (2006.01)

C07K 14/765 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/00 (2013.01)

A61K 38/18 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7018694

(22) 출원일자(국제) 2019년11월19일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2021년06월17일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2019/059945

(87) 국제공개번호 WO 2020/104948

국제공개일자 2020년05월28일

(30) 우선권주장

62/769,675 2018년11월20일 미국(US)

(71) 출원인

얀센 파마슈티카 엔.브이.

벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30

(72) 발명자

김코 홀리

미국 펜실베이니아 19477 맥킨 로드 스프링 하우스 1400

헤르만 로버트

스위스 저그 씨에이치-6300 구벨스트라세 34 코바겐 아게

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인한성

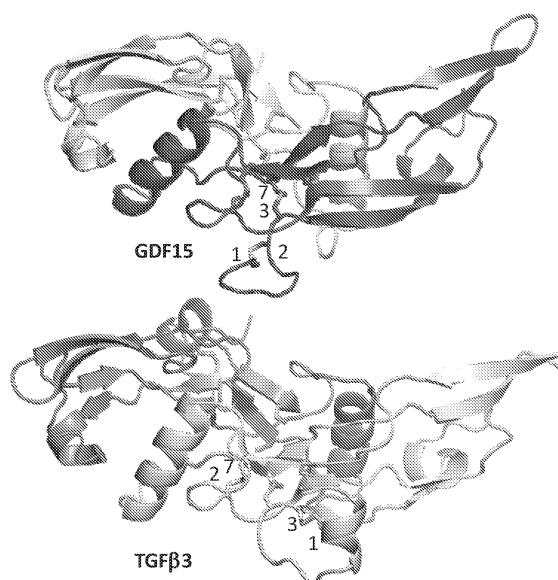
전체 청구항 수 : 총 50 항

(54) 발명의 명칭 GDF15 유사체 및 체중을 감소시키고/시키거나 음식 섭취량을 감소시키는 데 사용하기 위한 방법

(57) 요약

본 발명은 GDF15 효능제(agonist)로서 기능하는 융합 단백질에 관한 것으로, 상기 융합 단백질은 반감기 연장 단백질, 링커(linker), 및 GDF15 단백질을 함유한다. 이들 GDF15 효능제는 비만 치료, 체중 감소, 음식 섭취량의 감소, 또는 식욕 감소에 유용할 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 3/04 (2018.01)
C07K 14/495 (2013.01)
C07K 14/765 (2013.01)
C07K 2319/21 (2013.01)
C07K 2319/31 (2013.01)

(72) 발명자

팜브리니 엘리사

미국 펜실베이니아주 19477 맥킨 로드 스프링 하우스
1400

스토자노빅-수슬릭, 베드라나

미국 펜실베이니아주 19477 맥킨 로드 스프링 하우스
1400

로텐버그 폴

미국 뉴욕주 07940 메디슨 도그우드 드라이브 11

정 송마오

미국 펜실베이니아주 19477 맥킨 로드 스프링 하우스
1400

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서,

서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 9

제5항에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 10

제5항에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 11

제5항에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 12

제5항에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.

청구항 15

대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서,

서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.

청구항 19

제15항에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 25

제19항에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 26

제19항에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 27

제15항에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 28

제15항에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.

청구항 29

대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서,

서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 32

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 33

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 34

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 35

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 36

제29항에 있어서, 상기 조성물은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 37

제29항에 있어서, 상기 조성물은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 38

제29항에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 39

제29항에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.

청구항 40

대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서,

서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 조성물은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 44

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 45

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 46

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 47

제41항에 있어서, 상기 조성물은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 48

제41항에 있어서, 상기 조성물은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 49

제41항에 있어서, 상기 용합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.

청구항 50

제41항에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 GDF15 용합 단백질에 관한 것이다. 상세하게는, 본 발명은 반감기 연장 단백질, 링커(linker) 및 GDF15 단백질을 포함하는 용합 단백질, 용합 단백질을 인코딩하는 핵산 및 발현 벡터, 이의 재조합 세포, 및 용합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 용합 단백질을 사용하여 체중을 감소시키고/시키거나 음식 섭취량을 감소시키는 방법이 제공된다.

배경 기술

[0002] TGFβ 패밀리의 구성원인 GDF15는 25 kDa 동종이량체로서 혈장 중에서 순환되는 분비 단백질이다. GDF15의 혈장 수준은 대부분의 개인에서 150 내지 1150 pg/ml의 범위이다(문헌[Tsai et al., *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2012, 3: 239-243]). GDF15의 높은 혈장 수준은 암에서, 그리고 신부전 및 심부전에서 식욕 부진 및 악액질로 인한 체중 손실과 관련되어 있다. 임상 시험에서, GDF15 수준은 비만 상태의 비당뇨병 대상체에서 인슐린 저항성의 독립적인 예측인자였다(문헌[Kempf et al., *Eur. J. Endo.* 2012, 167: 671-678]). 쌍둥이들에서의 연구는 쌍둥이 쌍들 내에서의 GDF15 수준의 차이가 그러한 쌍 내에서의 BMI의 차이와 상관되어 있음을 보여주었는데, 이는 GDF15가 에너지 항상성의 장기 조절인자(long-term regulator)로서의 역할을 함을 시사한다(문헌[Tsai et al., *PLoS One*. 2015, 10(7):e0133362]).

[0003] 다수의 보고는 GDF15 단백질에 의한 치료 시에 마우스 모델에서의 글루코스 내성 및 인슐린 감수성의 개선을 입증해 왔다. GDF15를 과발현하는 유전자도입 마우스의 2개의 독립적인 계통은 감소된 체중 및 체지방량뿐만 아니라 개선된 글루코스 내성을 갖는다(문헌[Johnen et al., *Nat. Med.* 2007, 13:1333-1340]; 문헌[Macia et al., *PLoS One*. 2012, 7:e34868]; 문헌[Chrysovergis et al., *Int. J. Obesity*. 2014, 38: 1555-1564]).

전신 에너지 소비 및 산화적 대사의 증가가 GDF15 유전자도입 마우스에서 보고되었다(문헌[Chrysovergis et al., 2014], 상기 참조). 이들에는, 갈색 지방 조직에 있어서의 발열성(thermogenic) 유전자 발현의 증가 및 백색 지방 조직에 있어서의 지방분해 유전자 발현의 증가가 동반되었다. GDF15 유전자가 결여되어 있는 마우스는 증가된 체중 및 체지방량을 갖는다(문헌Tsai et al., *PLoS One*, 2013, 8(2):e55174]). GDF15의 Fc-융합체는, 비만 상태의 사이노물거스 원숭이 모델에서, 6주의 기간에 걸쳐 매주 투여될 때, 체중을 감소시키고 글루코스 내성뿐만 아니라 인슐린 감수성을 개선하는 것으로 밝혀졌다(국제 특허 출원 공개 WO 2013/113008호).

[0004] 체중에 미치는 GDF15의 영향은 음식 섭취량의 감소 및 가능하게는 증가된 에너지 소비를 통해 매개되는 것으로 여겨진다. GDF15는 체중-의존적 및 가능하게는 비의존적 기전을 통해 혈당 조절을 개선할 수 있다.

[0005] 종합하면, 이들 관찰은 GDF15 수준의 증가가 대사 질병에 대한 요법으로서 유익할 수 있음을 시사한다. 대사 질병, 장애, 또는 질환을 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있는 GDF15-기반 조성물에 대한 필요성이 당업계에 존재한다.

[0006] 현재의 비만 치료는 식이적 및 행동적 개입, 약물요법, 및 비만대사 수술(bariatric surgery)을 포함한다. 식이 및 증가된 신체 활동을 포함한 라이프스타일 개입은 임의의 체중 감량 노력에 대한 기초를 형성하고, 단기간(3 내지 6개월)의 체중 감량을 달성하는 데 효과적일 수 있다. 그러나, 대부분의 경우에 라이프스타일 개입으로 달성된 체중 감량은 장기적으로 지속되지 않으며, 개체의 5 내지 10%만이 시간 경과에 따라 상당한 체중 감소를 지속할 수 있다(문헌[Fisher BL and Schauer P., *Am J Surg*, 2002; 184:9S-16S, Rueda-Claussen CF et al., *Annu. Rev. Nutr.* 2015; 35:475-516]). 약물요법은 라이프스타일 변화가 상당한 체중 감량을 달성하는 데 효과적이지 않을 때 2차 요법으로서 권장된다. 미국 및 유럽에서 만성 체중 관리를 위한 것으로 승인된 투약물은 올리스타트(위장 리파제 억제제), 날트렉손/부프로피온(오피오이드 길항제(antagonist)와 도파민 및 노르에피네프린-재흡수-억제제의 병용물), 및 리라글루타이드(글루카곤-유사 펩티드-1 수용체 효능제(agonist))를 포함하며; 미국에서는 로르카세린(선택적 5-HT_{2C} 수용체 효능제) 및 펜테르민/토피라메이트(교감신경흥분성 아민과 항간질병의 병용물)가 또한 이용가능하다. 게다가, 펜테르민뿐만 아니라 일부 다른 식욕감퇴제(다이에틸프로피온, 벤즈페타민, 및 펜디메트라진을 포함함)는 미국에서 단기적 사용(최대 12주)을 위한 것으로 등록되어 있다. 행동적 개입과 조합하여, 이들 약리학적 작용제(pharmacologic agent)는 변동이 심한 효능을 가져서, 추가의 체중 감량 범위가 초기 체중의 2% 내지 10%의 범위에 이른다. 더욱이, 약리학적 작용제의 사용은 위장 효과(즉, 구역, 구토, 복부팽창, 설사), 신경정신의학적 효과(즉, 인지 손상, 수면 장애), 및 심박수의 상승(특정 작용제에 따름)을 포함한 부작용에 의해 제한될 수 있다. 이용가능한 약리학적 접근법의 이들 고유의 제한(제한된 효능, 안전성 프로파일, 및 30 내지 65% 범위의 무반응자의 비율)으로 인해, 비만에 대한 더 효과적이고, 내약성이 우수하고, 안전하면서 또한 심혈관 질병, 제2형 진성 당뇨병, 및 고혈압과 같은 비만-관련 동반이환을 개선할 수 있는 약리학적 요법에 대한 명백하게 충족되지 않은 의학적 요구가 여전히 존재한다. 비만대사 수술(위 밴딩(gastric banding), 위소매 절제술(sleeve gastrectomy), 및 루와이 위 우회술(Roux-en-Y gastric bypass))이 내과적 요법보다 더 크고 더 지속성 있는 체중 감량으로 이어질 수 있으며 - 10년 후 대략 15% 내지 30% 감량의 범위임 -, 현저한 건강 개선을 가져오고 중도 비만을 갖는 환자에 대한 사망률을 감소시킬 수 있지만, 수술기(perio-operative) 합병증(예를 들어, 정맥 혈전색전증) 및 수술후 합병증(예를 들어, 구역, 덤핑 증후군(dumping syndrome), 지용성 비타민 흡수불량)이 발생할 수 있다. 게다가, 대부분의 의료 체계에서의 비용 및 수술 능력 둘 모두의 제한을 고려해 볼 때, 비만대사 수술은 극소수의 적절한 환자에게만 적용될 수 있다(문헌[Rueda-Claussen CF et al., *Annu. Rev. Nutr.* 2015; 35:475-516]). 따라서, 더 효과적이고 내약성이 우수하면서 또한 고혈압, 이상지질혈증 및 제2형 진성 당뇨병과 같은 비만-관련 동반이환에 긍정적인 영향을 줄 수 있는 만성 체중 관리 요법에 대한 필요성이 있다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 음식 섭취량의 감소 및 체중 감량의 달성을 위한 신규한 작용 기전을 나타내는 GDF15 효능제, FP2를 제공함으로써 이러한 필요성을 만족시킨다. 비임상 약리학 및 안전성 연구에서, FP2는 임상 개발로의 이행을 위한 후보로서 자격을 갖추는 데 있어서 유리한 약리학적 효과 및 유망한 안전성 특성을 발휘하는 것으로 밝혀졌다.

[0008] 일 태양에서, 본 발명은 대상체에서 체중을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 약 0.8 mg 내지 약 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 약 80 kg 이상이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는 과체중이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는

BMI가 약 25 kg/m^2 이상이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.8 mg, 약 2.5 mg, 약 7.5 mg, 약 15 mg, 약 30 mg, 약 60 mg, 및 약 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg 내지 약 1.08 mg/kg의 용량 범위로 투여된다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg, 약 0.03 mg/kg, 약 0.09 mg/kg, 약 0.18 mg/kg, 약 0.36 mg/kg, 약 0.72 mg/kg, 및 약 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다.

[0009] 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여된다.

[0010] 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 상기 대상체에게 주 1회 투여된다.

[0011] 일 태양에서, 본 발명은 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 약 0.8 mg 내지 약 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는 과체중이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위이다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.8 mg, 약 2.5 mg, 약 7.5 mg, 약 15 mg, 약 30 mg, 약 60 mg, 및 약 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg 내지 약 1.08 mg/kg의 용량 범위로 투여된다. 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg, 약 0.03 mg/kg, 약 0.09 mg/kg, 약 0.18 mg/kg, 약 0.36 mg/kg, 약 0.72 mg/kg, 및 약 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다.

[0012] 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여된다.

[0013] 본 발명의 일 태양에서, 상기 융합 단백질은 상기 대상체에게 주 1회 투여된다.

[0014] 본 발명의 다른 태양, 특징 및 이점은 본 발명 및 그의 바람직한 실시 형태의 상세한 설명을 포함한 하기의 개시내용 및 첨부된 청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 전술한 요약뿐만 아니라 본 발명의 하기의 상세한 설명도 첨부 도면과 함께 읽을 때 더 잘 이해될 것이다. 본 발명은 도면에 나타난 정확한 실시 형태로 제한되지 않음이 이해되어야 한다.

도면에서:

도 1a 및 도 1b는 GDF15의 결정 구조를 나타내는데, 여기서는 제1 및 제2 시스테인 잔기(C1-C2)의 이황화물 쌍 형성이 단백질의 N 말단에서 루프를 형성하고 있다.

도 2는 C57BL/6 마우스에서의 먹이 섭취량에 대한 본 발명의 실시 형태에 따른 융합 단백질, 예를 들어 융합 단백질 FP1(서열 번호 60) 및 6xHis-FP1(서열 번호 26, 6xHis 태그가 N-말단에 부착됨)의 피하 투여의 효과를 나타내는데, 투여 후 24시간째의 누적 먹이 섭취량이 도시되어 있다. 막대 내에 표시된 값은 비히클(PBS)군 대비 % 감소 $\pm$ SEM이며; 모든 군에 대해 군당 동물 마리수 N=8이며, 예외적으로 FP1 16 nmol/kg 군에서는 N=9이다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클; p 값은 일원 분산분석(One-way ANOVA) 및 터키(Tukey) 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 3은 스프라그-돌리 래트(Sprague-Dawley rat)에서의 먹이 섭취량에 대한 FP1 및 6xHis-FP1(서열 번호 26, 6xHis 태그가 N-말단에 부착됨)의 피하 투여의 효과를 나타내는데, 투여 후 48시간째의 누적 먹이 섭취량이 도시되어 있다. 막대 내에 표시된 값은 비히클(PBS)군 대비 % 감소 $\pm$ SEM이며; 군당 동물 마리수 N=8이다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클; p 값은 일원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 4는 FP1에 의한 처리 동안의 식이 유도 비만(DIO) 마우스의 체중 변화를 나타낸다. 화살표는 초기 투여(일수 0) 후 피하 투여의 시간(일)을 나타내며; 군당 동물 마리수 N=8이다. * - $p < 0.05$, FP1 1 nmol/kg 군 vs. 비히클; # - $p < 0.05$, FP1 10 nmol/kg 군 vs. 비히클; p 값은 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 5a 및 도 5b는 FP1을 매 3일마다(q3d) 투여한지 14일 후의 경구 글루코스 내성 시험(OGTT) 동안의 DIO 마우스에서의 혈당 수준을 나타내는데, 혈당 수준은 곡선 아래 면적으로 표현되어 있다. 군당 동물 마리수 N=8. *

- $p < 0.05$, FP1 1 nmol/kg 군 vs. 비히클; p 값은 일원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 6은 FP1에 의한 처리 동안의 DIO 마우스에서의 식후 혈당 수준을 나타낸다. 군당 동물 마리수 $N=8$. * - $p < 0.05$, vs. 비히클; p 값은 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 7은 FP1의 14일 처리 후의 DIO 마우스에서의 인슐린 저항성의 4시간 공복 항상성 모델 평가(HOMA-IR)를 나타낸다. 군당 동물 마리수 $N=8$. * - $p < 0.05$, vs. 비히클; p 값은 일원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 8은 FP1으로 매 3일마다(q3d) 처리하는 동안의 *ob/ob* 마우스에서의 체중 변화를 나타낸다. 화살표는 초기 투여(일수 0) 후 피하 투여의 시간(일)을 나타내며; 군당 동물 마리수 $N=9$ 이다. * - $p < 0.05$, FP1 10 nmol/kg 군 vs. 비히클; # - $p < 0.05$, FP1 1 nmol/kg 군 vs. 비히클; p 값은 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 9는 FP1에 의한 처리 동안의 *ob/ob* 마우스에서의 혈당 수준을 나타낸다. 화살표는 초기 투여(일수 0) 후 피하 투여의 시간(일)을 나타내며; 군당 동물 마리수 $N=9$ 이다. * - $p < 0.05$, FP1 10 nmol/kg 군 vs. 비히클; # - $p < 0.05$, FP1 1 nmol/kg 군 vs. 비히클; p 값은 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 10은 C57BI/6 마우스에서의 2 mg/kg 정맥내(IV) 및 피하(SC) 투여 후의 FP1의 혈청 약물 농도-시간 프로파일의 평균($\pm$ 표준 편차, SD)을 나타낸다.

도 11은 스프라그-돌리 래트에서의 2 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP1의 혈청 약물 농도-시간 프로파일의 평균($\pm$ SD)을 나타낸다.

도 12는 면역검정에 의해 결정된 바와 같은, 사이노몰거스 원숭이에서의 1 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP1의 혈청 약물 농도-시간 프로파일의 평균($\pm$ SD)을 나타낸다.

도 13은 면역친화성(IA) 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노몰거스 원숭이에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 온전한 이량체로서의 FP1의 혈청 농도(ng/mL)를 나타낸다.

도 14는 면역친화성 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노몰거스 원숭이에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 온전한 이량체로서의 FP1의 혈청 농도(ng/mL)를 나타낸다.

도 15는 면역검정에 의해 결정된 바와 같은, 2명의 인간 대상체(Sub)로부터 획득된 혈장 중에서의 0, 4, 24, 및 48시간의 생체외(*ex vivo*) 인큐베이션 후의, 출발 농도의 %로 나타낸 FP1의 농도를 나타낸다.

도 16은 온전한 질량 면역친화성 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 2명의 인간 대상체(Sub)로부터 획득된 혈장 중에서의 0, 4, 24, 및 48시간의 생체외 인큐베이션 후의 온전한 이량체로서의, 시간 0의 %로 나타낸 FP1의 평균 농도를 나타낸다.

도 17은 GDF15의 다양한 N-말단 결실 변이체의 투여 전과 후의 마른 C57BL6N 수컷 마우스에서의 단시간의 먹이 섭취량을 나타낸다. (서열 번호 92, 111, 및 112는 야생형 융합체와 대비하여 결실이 없다(서열 번호 26, 6xHis 태그가 N-말단에 부착됨)). 군당 동물 마리수 $N=8$; * - $p < 0.05$, vs. 비히클; p 값은 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 18은 C57BL/6 마우스에서의 먹이 섭취량에 대한 FP2의 단회 용량의 효과를 나타내며; 구체적으로는, 투여 후 24시간째의 누적 먹이 섭취량이 나타나 있다. 막대 내에 표시된 값은 PBS 군 대비 % 감소(평균 $\pm$ SEM)이며; 모든 군에 대해 군당 동물 마리수 $N=8$ 이며, 예외적으로 6xHis-FP1에서는 $N=6$ 이다. ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$, **** - $p < 0.0001$; p 값은 이원 분산분석(Two-way ANOVA) 및 던넛(Dunnett) 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 19는 FP2의 단회 용량의 투여 후 24시간째에 스프라그-돌리 래트에서 측정된 누적 먹이 섭취량을 나타낸다. 막대 내에 표시된 값은 PBS 군 대비 % 감소(평균 $\pm$ SEM)이며; 군당 동물 마리수 $N=8$ 이다. ** - $p < 0.01$; p 값은 이원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하여 계산하였다.

도 20은 DIO 마우스에서의 FP2 q3d에 의한 처리 동안의 % 체중 변화를 나타낸다. 화살표는 FP2의 피하 주사의 시간을 나타내며; 군당 동물 마리수 $N=6$ 이며; * - $p < 0.05$, vs. 비히클, 이원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정

을 사용한다.

도 21a 및 도 21b는 DIO 마우스에서의 FP2의 14일의 q3d 투여 후의 OGTT 시험 동안의 혈당 농도 수준에 대한 곡선 아래 면적(AUC)을 나타낸다. * - $p < 0.05$, 일원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 을 사용한다.

도 22a는 DIO 마우스에서의 FP2의 8일의 q3d 투여 후의 OGTT 동안의 혈장 인슐린 수준을 나타낸다. * - $p < 0.05$, 비히클 vs. FP2(0.3 nmol/kg); FP2(10 nmol/kg); 및 로시글리타존. # - $p < 0.05$, vs. 로시글리타존 (10 mg/kg), 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용한다.

도 22b는 DIO 마우스에서의 FP2의 8일의 q3d 투여 후의 OGTT 동안의 혈장 인슐린 수준에 대한 AUC를 나타낸다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클; # - $p < 0.05$, vs. 로시글리타존.

도 23은 DIO 마우스에서의 FP2의 8일의 q3d 투여 후의 식후 혈당 수준을 나타낸다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클, 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 이다.

도 24는 DIO 마우스에서 FP2 q3d로 14일 처리한 후, 일수 14에서 5시간 절식한 후의 공복 HOMA-IR을 나타낸다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클, 일원 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 이다.

도 25는 C57B1/6 마우스에서의 2 mg/kg 정맥내(IV) 및 2 mg/kg 피하(SC) 투여 후의 FP2의 혈청 농도를 나타낸다. 값은 평균 $\pm$ SD(시점당 샘플수 $n=5$)를 나타낸다.

도 26은 스프라그 돌리 래트에서의 2 mg/kg 정맥내(IV) 및 2 mg/kg 피하(SC) 투여 후의 FP2의 혈청 농도를 나타낸다. 시점당 샘플수 $N=5$.

도 27은 면역검정에 의해 분석된 사이노몰거스 원숭이에서의 FP2의 혈장 농도를 나타낸다. 값은 $n=3$ 의 평균 $\pm$ SD를 나타내며, 예외적으로 일수 22(528 hr)에서의 IV의 경우 $n=2$ 이다. IV - 정맥내, SC - 피하.

도 28은 LCMS에 의해 분석된 사이노몰거스 원숭이에서의 온전한 이량체로서의 FP2의 혈장 농도를 나타낸다. 값은 $n=3$ 의 평균 $\pm$ SEM을 나타내며, 예외적으로 168시간에서의 피하(SC)의 경우 $n=2$, 120시간 및 432시간에서의 SC의 경우 $n=1$, 그리고 168시간 및 432시간에서의 IV - 정맥내의 경우 $n=1$ 이다.

도 29는 면역검정에 의해 측정된 인간 혈장 중에서의 48시간에 걸친 FP2의 생체외 안전성(정규화된 % 회수율)을 나타낸다.

도 30은 온전한 LC/MS에 의해 측정된 인간 혈장 중에서의 48시간에 걸친 FP2의 생체외 안전성(정규화된 % 회수율)을 나타낸다.

도 31은 사이노몰거스 원숭이에서의 FP1의 단회 투여의 전과 후의 일일 먹이 섭취량(g)을 나타낸다. * - $p < 0.05$, 10 mg/kg의 FP1 vs. 비히클.

도 32는 사이노몰거스 원숭이에서의 FP1의 단회 투여의 전과 후의 % 체중 변화를 나타낸다. * - $p < 0.05$, 10 mg/kg의 FP1 vs. 비히클; # - $p < 0.05$, 3 mg/kg vs. 비히클, 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 이다.

도 33은 사이노몰거스 원숭이에서의 FP2의 단회 투여의 전과 후의 일일 먹이 섭취량(g)을 나타낸다. * - $p < 0.05$, vs. 비히클, 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 이다.

도 34는 사이노몰거스 원숭이에서의 FP2의 단회 투여의 전과 후의 % 체중 변화를 나타낸다. * - $p < 0.05$, 10 nmol/kg의 FP2 vs. 비히클, # - $p < 0.05$, 3 nmol/kg의 FP2 vs. 비히클, & - $p < 0.05$, 1 nmol/kg의 FP2 vs. 비히클, 이원 RM 분산분석 및 터키 다중 비교 검정을 사용하고, 군당 동물 마리수 $n=8$ 이다.

도 35는 FP2의 주 1회 피하 투여의 12주 장기간 동안 자발적 비만 사이노몰거스 원숭이에서의 음식 섭취량을 나타낸 것으로, 이는 투여 전 1주 동안 평균 일일 음식 섭취량으로서 계산된 기저선으로부터의 % 감소로서 정규화되어 있다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM을 나타내고 있으며, 아울러 그래프 아래에는 동물 마리수 N 이 나타나 있으며; 에러 바는 $N=2$ 에 대한 $\pm$ 범위였다.

도 36은 FP2의 주 1회 피하 투여의 12주 장기간 동안의 자발적 비만 사이노몰거스 원숭이에서의 체중(기저선으로부터의 % 변화)을 나타낸다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM을 나타내고 있으며, 아울러 그래프 아래에는 동물 마리수 N 이 나타나 있으며; 에러 바는 $N=2$ 에 대한 $\pm$ 범위였다.

도 37은 FP2의 주 1회 피하 투여의 12주 장기간 동안의 자발적 비만 사이노물거스 원숭이에서의 면역검정에 의해 측정된 FP2의 혈청 농도(nM)를 나타낸다. 데이터는 평균 $\pm$ SEM을 나타내고 있으며, 아울러 그래프 아래에는 검출가능한 노출을 갖는 동물 마리수 N이 나타나 있으며; 에러 바는 N=2에 대한 $\pm$ 범위였다.

도 38은 본 연구의 개략적 개관을 나타낸다. DG - 용량군.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 다양한 간행물, 논문, 및 특허가 배경기술에 그리고 본 명세서 전체에 걸쳐 인용되어 있거나 기재되어 있으며; 이들 참고문헌 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 명세서에 포함된 문헌, 행동, 재료, 디바이스, 물품 등에 대한 논의는 본 발명에 대한 상황을 제공하는 것을 목적으로 한다. 그러한 논의는 이들 대상 중 임의의 것 또는 모든 것이 개시되거나 청구된 임의의 발명에 대하여 종래 기술의 일부를 형성하는 것을 인정하는 것은 아니다.
- [0017] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 그렇지 않으면, 본 명세서에 사용되는 소정의 용어는 본 명세서에 제시된 바와 같은 의미를 갖는다. 본 명세서에 인용된 모든 특허, 공개된 특허 출원 및 간행물은 마치 본 명세서에 완전히 기재되어 있는 것처럼 참고로 포함된다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태(부정관사 및 정관사)는, 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수의 지시 대상을 포함한다는 것에 유의해야 한다.
- [0018] 본 발명은 융합 단백질에 관한 것으로, 상기 융합 단백질은 (a) 반감기-연장 단백질, (b) 링커, 및 (c) GDF15 단백질을 포함하며, 융합 단백질은 N-말단에서 C-말단으로 (a)-(b)-(c)의 순서대로 배열되어 있다.
- [0019] 반감기-연장 단백질, 링커, 및 GDF15 단백질을 포함하는, 본 발명의 일 실시 형태에 따른 융합 단백질은 GDF15 단백질의 증가된 반감기를 가져오고, 본 발명의 융합 단백질은 대사 질병, 장애 또는 질환을 치료 및 예방하기 위한 치료제로서의 그들의 적합성을 입증하는 대사 효과를 나타낸다는 것을 알아내었다. 그러한 효과는 융합 단백질이 투여된 동물의 체중의 감소, 글루코스 내성의 증가, 및 인슐린 감수성의 개선을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0020] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "융합 단백질"은 2개 이상의 부분이 함께 공유 결합된 단백질을 지칭하며, 이들 부분 각각은 상이한 단백질로부터 유래된다.
- [0021] 본 발명의 실시 형태에 따른 융합 단백질은 임의의 GDF15 단백질을 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "GDF15 단백질"은 임의의 천연-발생 야생형 성장 분화 인자 15 단백질 또는 이의 기능적 변이체를 지칭한다. GDF15 단백질은 임의의 포유동물, 예컨대 인간 또는 다른 적합한 포유동물, 예컨대 마우스, 토끼, 래트, 돼지, 개, 또는 영장류로부터의 것일 수 있다. 특정 실시 형태에서, GDF15 단백질은 인간 GDF15 단백질 또는 이의 기능적 변이체이다. 바람직한 실시 형태에서, GDF15 단백질은 성숙 GDF15 단백질 또는 이의 기능적 변이체이다.
- [0022] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "성숙 GDF15 단백질"은 RXXR 푸린-유사 절단 부위에서의 세포내 절단 후에 전장(full-length) 단백질로부터 방출되는 GDF15의 프리-프로-단백질(pre-pro-protein)의 일부분을 지칭한다. 성숙 GDF15 단백질은 이황화물 결합에 의해 연결된 동종이량체로서 분비된다. 본 발명의 일 실시 형태에서, 성숙 GDF15 단백질, 약칭 GDF15(197-308) (서열 번호 6)는 전장 인간 GDF15 단백질의 아미노산 197-308을 함유한다.
- [0023] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "기능적 변이체"는 모 단백질과 실질적이거나 유의한 서열 동일성을 갖는 모 단백질의 변이체를 지칭하며, 모 단백질의 생물학적 활성들 중 적어도 하나를 보유한다. 모 단백질의 기능적 변이체는 본 발명을 고려하여 당업계에 알려진 수단에 의해 제조될 수 있다. 기능적 변이체는 모 단백질의 아미노산 서열에 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다. 변형은, 예를 들어 폴리펩티드의 열적 안정성을 개선하고, 기질 특이성을 변경시키고, pH 최적 조건을 변화시키는 등에 의해, 폴리펩티드의 물리화학적 특성을 변화시킬 수 있다. 변형은 또한, 그것이 모 단백질의 모든 생물학적 활성을 파괴 또는 소실시키지는 않는 한, 모 단백질의 생물학적 활성을 변경시킬 수 있다. 변형은 또한 하나 이상의 아미노산의 결실 또는 삽입일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 다른 실시 형태에 따르면, 모 단백질의 기능적 변이체는 모 단백질에 대한 하나 이상의 아미노산의 결실 및/또는 삽입을 포함한다. 예를 들어, 성숙 GDF15 단백질의 기능적 변이체는 성숙 GDF15 단백질에 대한 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28,

29, 30개 또는 그 이상의 아미노산의 결실 및/또는 삽입, 바람직하게는 성숙 GDF15 단백질의 N-말단에서의 1 내지 30개의 아미노산의 결실을 포함할 수 있다.

[0025] 본 발명의 실시 형태에 따르면, 본 발명의 융합 단백질은 성숙 GDF15, 예컨대 GDF15(197-308) (서열 번호 6)의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열; 또는 N-말단에서 절단된 성숙 GDF15, 예컨대 GDF15(200 내지 308) (서열 번호 7), GDF15(201 내지 308) (서열 번호 8), GDF15(202 내지 308) (서열 번호 9), GDF15(203 내지 308) (서열 번호 10), 또는 GDF15(211 내지 308) (서열 번호 11)의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 GDF15 단백질을 포함한다. GDF15 단백질은, 그것이 GDF15 단백질의 생물학적 활성들, 예컨대 음식 섭취량, 혈당 수준, 인슐린 저항성, 및 체중 등에 대한 그의 효과들 중 적어도 하나를 유지하는 한, 서열 번호 6, 7, 8, 9, 10 또는 11에 대한 치환, 삽입 및 결실 중 적어도 하나를 가질 수 있다.

[0026] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 융합 단백질은 서열 번호 6, 7, 8, 9, 10 또는 11의 아미노산 서열을 포함하지만 이로 한정되지 않는, 서열 번호 11의 아미노산 서열을 갖는 GDF15 단백질을 포함한다.

[0027] 임의의 적합한 반감기 연장 단백질이 본 발명의 실시 형태에 따른 융합 단백질에 사용될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "반감기 연장 단백질"은 융합된 단백질의 반감기를 연장시키는 것으로 알려진 임의의 단백질 또는 이의 단편일 수 있다. 그러한 반감기 연장 단백질의 예에는 인간 혈청 알부민(HSA), 면역글로불린(Ig)의 불변 단편 도메인(Fc), 또는 트랜스페린(Tf)이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 본 발명의 실시 형태에서, 반감기 연장 단백질은 HSA 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다. 본 발명의 특정 실시 형태에서, 반감기 연장 단백질은 서열 번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명의 바람직한 실시 형태에서, 반감기 연장 단백질은 HSA의 위치 34에서의 시스테인 잔기가 세린 또는 알라닌으로 대체된 HSA 또는 이의 기능적 변이체를 포함한다.

[0028] 특정 실시 형태에서, 본 발명의 융합 단백질은 서열 번호 1-3으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 갖는 반감기 연장 단백질을 포함한다.

[0029] 임의의 적합한 링커가 본 발명의 실시 형태에 따른 융합 단백질에 사용될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "링커"는 펩티드 링커를 포함하는 연결 모이어티(linking moiety)를 지칭한다. 바람직하게는, 링커는 올바른 접합의 확보를 도우며, 입체 장애를 최소화하며, 융합 단백질 내의 각각의 기능적 성분의 구조를 유지하게 방해하지 않는다. 본 발명의 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커는 2 내지 120개의 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 펩티드 링커는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119 또는 120개의 아미노산을 포함한다.

[0030] 본 발명의 실시 형태에서, 링커는 융합 단백질 성분들의 가요성을 증가시킨다. 본 발명의 특정 실시 형태에서, 링커는 GS-(GGGG)n 또는 AS-(GGGG)n-GT를 포함하지만 이로 한정되지 않는, 서열 (GGGG)n을 포함하는 가요성 링커일 수 있으며, 여기서 n은 2 내지 20, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15이다.

[0031] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 링커는 구조화된다. 본 발명의 특정 실시 형태에서, 링커는 AS-(AP)n-GT 또는 AS-(EAAAK)n-GT를 포함하지만 이로 한정되지 않는, 서열 (AP)n 또는 (EAAAK)n을 포함하는 구조화된 링커일 수 있으며, 여기서 n은 2 내지 20, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15이다. 본 발명의 다른 실시 형태에서, 링커는 서열 (GGGGA)_n, (PGGG)_n, (AGGG)_n 또는 GGS-(EGKSSGSGSESKST)_n-GGS를 포함하며, 여기서 n은 2 내지 20이다.

[0032] 본 발명의 실시 형태에서, 융합 단백질은 서열 번호 5, 25 내지 30, 36 및 37, 40, 48, 55 및 56, 59 및 60 또는 64 내지 75와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명의 특정 실시 형태에서, 융합 단백질은 서열 번호 5, 25 내지 30, 36 및 37, 40, 48, 55 및 56, 59 및 60, 및 64 내지 75로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명의 더 특정한 실시 형태에서, 융합 단백질은 서열 번호 5, 25 내지 30, 40, 55 및 56, 55 및 56, 59 및 60, 및 70으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명의 추가의 더 특정한 실시 형태에서, 융합 단백질은 서열 번호 92, 서열 번호 60 또는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함한다. 융합 단백질은 또한 단백질의 아미노- 또는 카르복실-말단에 작은 연장부(들), 예컨대 정체를 촉진시키는 태그, 예컨대 폴리-히스티딘 태그, 항원 에피토프 또는 결합 도메인을

포함할 수 있다.

- [0033] 본 명세서에 개시된 융합 단백질은 음식 섭취량, 경구 글루코스 내성 시험, 혈당 수준의 측정, 인슐린 저항성 분석, 체중 변화, 약동학적 분석, 독성동태학적(toxicokinetic) 분석, 전장 융합 단백질의 수준 및 안정성의 면역검정 및 질량 스펙트럼 분석, 및 인간 혈장 생체의 안정성 분석에 대한 효과를 포함하지만 이로 한정되지 않는 GDF15 생물학적 활성에 대해 특성화 또는 평가될 수 있다.
- [0034] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질을 인코딩하는 단리된 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 실시 형태에서, 단리된 핵산 분자는 서열 번호 5, 25 내지 30, 36 및 37, 40, 48, 55 및 56, 59 및 60, 64 내지 75 또는 92와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 인코딩한다. 특정 실시 형태에서, 단리된 핵산 분자는 서열 번호 5, 25 내지 31, 36 및 37, 40, 48, 55 및 56, 59 및 60, 64 내지 75, 및 92로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 인코딩한다. 더 특정한 실시 형태에서, 단리된 핵산 분자는 서열 번호 5, 25 내지 30, 40, 55 및 56, 59 및 60, 70, 및 92로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질을 인코딩한다. 더 특정한 실시 형태에서, 단리된 핵산 분자는 서열 번호 76 내지 91, 95, 및 110의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0035] 본 발명의 다른 실시 형태에 따르면, 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자는 발현 벡터 내에 존재할 수 있다. 발현 벡터는 재조합 단백질 발현을 위한 벡터 및 대상체의 조직 내에서의 발현을 위하여 대상체 내로의 핵산의 전달을 위한 벡터, 예컨대 바이러스 벡터를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 본 발명과 함께 사용하기에 적합한 바이러스 벡터의 예에는 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련성 바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 벡터는 또한 비-바이러스 벡터일 수 있다. 비-바이러스 벡터의 예에는 플라스미드, 세균 인공 염색체, 효모 인공 염색체, 박테리오파지 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 벡터는 발현 벡터의 통상적인 기능을 확립하기 위한 임의의 요소, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 요소, 종결자, 인핸서, 선택 마커, 또는 복제 기점을 포함할 수 있다.
- [0036] 본 발명의 다른 실시 형태에 따르면, 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자는 본 발명을 고려하여 당업계에 알려진 방법을 사용하여 원하는 숙주 세포, 예컨대 인간 배아 신장(HEK) 또는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포로부터의 개선된 재조합 발현을 위하여 최적화된 코돈일 수 있다.
- [0037] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 숙주 세포는 재조합 단백질 발현을 위한 숙주 세포 및 대상체의 조직 내에서의 발현을 위하여 대상체 내로의 핵산의 전달을 위한 숙주 세포를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 본 발명과 함께 사용하기에 적합한 숙주 세포의 예에는 HEK 또는 CHO 세포가 포함되지만 이로 한정되지 않는다.
- [0038] 다른 일반적인 태양에서, 본 발명은 본 발명의 융합 단백질을 얻는 방법에 관한 것이다. 일반적인 태양에서, 상기 방법은 (1) 융합 단백질이 생성되는 조건 하에서 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 (2) 숙주 세포에 의해 생성된 융합 단백질을 회수하는 단계를 포함한다. 융합 단백질은 당업계에 알려진 방법을 사용하여 추가로 정제될 수 있다.
- [0039] 일부 실시 형태에서, 융합 단백질은 숙주 세포 내에서 발현되고, 친화성 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 환외여과, 및 투석을 포함하지만 이로 한정되지 않는 하나 이상의 표준 정제 기법들의 조합을 사용하여 그로부터 정제된다. 바람직하게는, 융합 단백질은 어떠한 프로테아제도 존재하지 않도록 정제된다.
- [0040] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 단백질 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0041] 본 발명은 본 발명의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다. 본 발명의 융합 단백질을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 조성물은 융합 단백질의 발현을 위한 세포 내로의 핵산 분자의 도입을 위한 전달 비히클을 포함할 수 있다. 핵산 전달 비히클의 예에는 리포솜, 생체적합성 중합체 - 천연 중합체 및 합성 중합체를 포함함 -, 지질단백질, 폴리펩티드, 다당류, 지질 다당류, 인공 바이러스 외피, 금속 입자, 및 세균, 바이러스, 예컨대 배콜로바이러스, 아데노바이러스 및 레트로바이러스, 박테리오파지, 코스미드, 플라스미드, 진균 벡터, 및 다양한 진핵생물 숙주에서의 발현에 대해 기재된 당업계에 전형적으로 사용되는 다른 재조합 비히클이 포함된다.
- [0042] 본 발명은 또한 본 발명의 약제학적 조성물을 포함하는 키트에 관한 것이다. 키트는, 본 발명의 건조된 융합 단백질을 갖는 제1 용기와 대상체에게 투여하기 전에 건조된 융합 단백질과 혼합되는 수용액을 갖는 제2 용기를 포함하거나, 또는 본 발명의 액체 약제학적 조성물이 담긴 단일 용기를 포함할 수 있다. 키트는 본 발명의 약

제학적 조성물의 단위-용량 투여 단위 또는 다회 용량 투여 단위를 포함할 수 있다. 키트는 또한 하나 이상의 사전충전된 주사기(예를 들어, 액체 주사기 및 리오시린지(lyosyringe)를 포함할 수 있다. 키트는 또한 이의 사용에 대한 사용설명서를 포함할 수 있다. 사용설명서는 키트 내에 제공되는 물질들의 용도 및 성질을 설명할 수 있으며, 치료되는 정확한 대사 장애에 맞추어질 수 있다.

[0043] 본 발명은 또한 대사 질병, 장애 또는 질환, 예컨대 제2형 당뇨병, 상승된 글루코스 수준, 상승된 인슐린 수준, 비만, 이상지질혈증, 당뇨병성 신경병증, 심근 허혈성 손상, 울혈성 심부전, 또는 류마티스성 관절염을 치료 또는 예방하기 위한 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 실시 형태에 따르면, 대사 질병, 장애 또는 질환을 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 대사 질병, 장애 또는 질환을 치료 또는 예방하는 방법은 본 발명의 약제학적 조성물의 치료적 또는 예방적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 명세서에 기재된 임의의 약제학적 조성물이 본 발명의 방법에서 사용될 수 있으며, 이에 본 발명의 용합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물 또는 용합 단백질을 인코딩하는 핵산을 포함하는 약제학적 조성물이 포함된다.

[0044] 대상체에서 체중을 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 서열 번호 92를 포함하는 용합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 용합 단백질은 약 0.8 mg 내지 약 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상이다.

[0045] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 대상체는 과체중이다. 본 발명의 소정 실시 형태에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상이며, 소정 실시 형태에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위이다.

[0046] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 용합 단백질은 약 0.8 mg, 약 2.5 mg, 약 7.5 mg, 약 15 mg, 약 30 mg, 약 60 mg, 및 약 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 소정 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.8 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 2.5 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 7.5 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 15 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 30 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 60 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 90 mg의 용량으로 투여된다.

[0047] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 용합 단백질은 약 0.01 mg/kg 내지 약 1.08 mg/kg의 용량 범위로 투여된다. 소정의 그러한 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.01 mg/kg, 약 0.03 mg/kg, 약 0.09 mg/kg, 약 0.18 mg/kg, 약 0.36 mg/kg, 약 0.72 mg/kg, 및 약 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 소정 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.01 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.03 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.09 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.18 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.36 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.72 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 1.08 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0048] 본 발명의 소정 실시 형태에 따르면, 상기 용합 단백질은 피하 주사를 통해 투여된다.

[0049] 본 발명의 소정 실시 형태에 따르면, 상기 용합 단백질은 상기 대상체에게 주 1회 투여된다.

[0050] 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 서열 번호 92를 포함하는 용합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 조성물은 약 0.8 mg 내지 약 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상이다.

[0051] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 대상체는 과체중이다. 본 발명의 소정 실시 형태에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상이며, 소정 실시 형태에서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위이다.

[0052] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 용합 단백질은 약 0.8 mg, 약 2.5 mg, 약 7.5 mg, 약 15 mg, 약 30 mg, 약 60 mg, 및 약 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 소정 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 0.8 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 2.5 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용합 단백질은 약 7.5 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 용

합 단백질은 약 15 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 30 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 60 mg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 90 mg의 용량으로 투여된다.

[0053] 소정 실시 형태에 따르면, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg 내지 약 1.08 mg/kg의 용량 범위로 투여된다. 소정의 그러한 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg, 약 0.03 mg/kg, 약 0.09 mg/kg, 약 0.18 mg/kg, 약 0.36 mg/kg, 약 0.72 mg/kg, 및 약 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다. 소정 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.01 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.03 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.09 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.18 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.36 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 0.72 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시 형태에서, 상기 융합 단백질은 약 1.08 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0054] 본 발명의 소정 실시 형태에 따르면, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여된다.

[0055] 본 발명의 소정 실시 형태에 따르면, 상기 융합 단백질은 상기 대상체에게 주 1회 투여된다.

[0056] 수치 범위, 컷오프(cutoff) 또는 특정 값과 관련하여 사용될 때 용어 "약"은 언급된 값이 열거된 값의 최대 10% 까지 달라질 수 있음을 나타내는 데 사용된다. 따라서, 용어 "약"은 지정된 값으로부터 $\pm 10\%$ 이하의 변동, $\pm 5\%$ 이하의 변동, $\pm 1\%$ 이하의 변동, $\pm 0.5\%$ 이하의 변동, $\pm 5\%$ 이하의 변동, 또는 $\pm 0.1\%$ 이하의 변동을 포함하는 데 사용된다.

[0057] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "대상체"는 본 발명의 일 실시 형태에 따른 방법에 의해 치료될 것이거나 치료된 적이 있는 임의의 동물, 특히 포유동물, 가장 특히는 인간을 의미한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "포유동물"은 임의의 포유동물을 포함한다. 포유동물의 예에는 소, 말, 양, 돼지, 고양이, 개, 마우스, 래트, 토끼, 기니 피그, 비인간 영장류(NHP), 예컨대 원숭이 또는 유인원, 인간 등, 더 특히는 인간이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0058] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "과체중"은 과도한 체중을 지칭한다. 대상체가 참조 건강한 개체와 대비하여 과체중인지의 여부를 결정하는 데 다양한 파라미터가 사용되며, 이에에는 대상체의 연령, 신장, 성별 및 건강 상태가 포함된다. 예를 들어, 대상체는 대상체의 체질량 지수(BMI)의 평가에 의해 과체중 또는 비만으로 간주될 수 있으며, 이때 BMI는 대상체의 체중(단위: kg)을 대상체의 신장(단위: m)의 제곱으로 나눔으로써 계산된다. BMI가 18.5 내지 24.9 kg/m²의 범위인 성인은 정상 체중을 갖는 것으로 간주되며; BMI가 25 내지 29.9 kg/m²인 성인은 과체중(비만 전단계(pre-obese))으로 간주될 수 있으며; BMI가 30 kg/m² 이상인 성인은 비만으로 간주될 수 있다. 향상된 식욕은 빈번하게 과도한 체중에 기여한다.

[0059] "대사 질병, 장애 또는 질환"은 비정상 대사와 관련된 임의의 장애를 지칭한다. 본 발명의 방법에 따라 치료될 수 있는 대사 질병, 장애 또는 질환의 예에는 제2형 당뇨병, 상승된 글루코스 수준, 상승된 인슐린 수준, 비만, 과체중, 이상지질혈증, 당뇨병성 신경병증, 심근 허혈성 손상, 울혈성 심부전, 또는 류마티스성 관절염이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0060] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료하는", 및 "치료"는 대상체에서 원하는 치료적 또는 임상적 결과를 달성하기 위하여 대상체에게 조성물을 투여하는 것을 지칭한다. 일 실시 형태에서, 용어 "치료하다", "치료하는", 및 "치료"는 대사 장애, 예컨대 제2형 당뇨병, 상승된 글루코스 수준, 상승된 인슐린 수준, 비만, 이상지질혈증, 당뇨병성 신경병증, 심근 허혈성 손상, 울혈성 심부전, 또는 류마티스성 관절염의 진행 또는 발생을 감소, 경감 또는 감속시키기 위하여 본 발명의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 지칭한다.

[0061] 본 발명의 실시 형태에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명을 고려하여 당업자에게 알려진 임의의 방법에 의해, 예컨대 근육내, 피하, 경구, 정맥내, 피부, 점막내(예를 들어, 장), 비강내 또는 복막내 투여 경로에 의해 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 정맥내 주사 또는 피하 주사에 의해 대상체에게 투여된다.

[0062] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "주 1회" 투여는 1일 이내에 수행된다. 바람직하게는, "주 1회" 투여는 단일 단계로, 예컨대 단회 주사로 수행된다.

- [0063] 소정 실시 형태에서, 본 발명은 대상체에서 체중을 감소시키는 방법에 사용하기 위한, 서열 번호 92를 포함하는 서열을 갖는 GDF15 융합 단백질의 임상적으로 입증된 안전하고 임상적으로 입증된 유효한 용량을 제공하며, 상기 임상적으로 입증된 안전하고 임상적으로 입증된 유효한 용량은 체중이 80 kg 이상인 대상체에게 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되는 단회 피하(SC) 주사이다.
- [0064] 소정 실시 형태에서, 본 발명은 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법에 사용하기 위한, 서열 번호 92를 포함하는 서열을 갖는 GDF15 융합 단백질의 임상적으로 입증된 안전하고 임상적으로 입증된 유효한 용량을 제공하며, 상기 임상적으로 입증된 안전하고 임상적으로 입증된 유효한 용량은 체중이 80 kg 이상인 대상체에게 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되는 단회 피하(SC) 주사이다.
- [0065] 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명에 따르면, 용어 "임상적으로 입증된 안전한"은, 그것이 서열 번호 92를 포함하는 서열을 갖는 GDF15 융합 단백질의 용량 또는 상기 GDF15 융합 단백질에 의한 치료에 관련될 때, 유해 사건의 비교적 낮거나 감소된 빈도 및/또는 낮거나 감소된 중증도에 의한 유리한 위험:효과 비를 지칭하며, 이러한 유해 사건에는 유해 바이탈 사인(심박수, 수축기 및 확장기 혈압, 체온), 유해 표준 임상 실험실 검사(혈액학적 검사, 임상 화학적 검사, 소변검사, 지질 검사, 응고 검사), 알레르기 반응/과민증, 유해 국부 주사 부위 반응, 또는 유해 EKG가 포함된다.
- [0066] 본 명세서에 정의된 바와 같은 본 발명에 따르면, 용어 "임상적으로 입증된 유효한" 또는 "임상적으로 입증된 효능"은, 이들이 서열 번호 92를 포함하는 서열을 갖는 GDF15 융합 단백질의 용량, 이의 투여 계획, 또는 이것에 의한 치료와 같은 용어에 관련될 때, 감소된 음식 섭취량, 감소된 식욕 등급, 감소된 음식 기호성(palatability) - 설문문 사용함으로써 평가됨 -, 또는 감소된 체중을 지칭한다.
- [0067] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 체중의 감소는 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 11%, 적어도 12%, 적어도 13%, 적어도 14%, 적어도 15%, 적어도 16%, 적어도 17%, 적어도 18%, 적어도 19%, 적어도 20%, 또는 이들 사이의 임의의 수의 감소이다.
- [0068] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 음식 섭취량의 감소는 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 11%, 적어도 12%, 적어도 13%, 적어도 14%, 적어도 15%, 적어도 16%, 적어도 17%, 적어도 18%, 적어도 19%, 적어도 20%, 적어도 21%, 적어도 22%, 적어도 23%, 적어도 24%, 적어도 25%, 적어도 26%, 적어도 27%, 적어도 28%, 적어도 29%, 적어도 30%, 또는 이들 사이의 임의의 수의 감소이다. 음식 섭취량은 각각의 음식 품목의 소비된 그램, 및 그의 영양소 함량에 기초하여 추정되는 소비된 칼로리를 측정함으로써 측정될 수 있다.
- [0069] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 달리 언급되지 않는 한, (독립적으로 사용되거나 용어 "안전한" 및/또는 "유효한"을 수식하는 데 사용되는) 용어 "임상적으로 입증된"은 임상 시험에 의해 입증된 것임을 의미할 것인데, 여기서 임상 시험은 미국 식품 의약국(U.S. Food and Drug Administration), EMEA 또는 상응하는 국가 규제 기관의 표준을 충족시켰다. 예를 들어, 임상 연구는 약물의 효과를 임상적으로 입증하는 데 사용되는 충분한 크기, 무작위배정, 이중-맹검 연구일 수 있다. 일부 실시 형태에서, "임상적으로 입증된"은 I상 임상 시험에 대한 미국 식품 의약국, EMEA 또는 상응하는 국가 규제 기관의 표준을 충족시킨 임상 시험에 의해 입증되었음을 나타낸다.
- [0070] **실시 형태**
- [0071] 1. 대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 억제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.
- [0072] 2. 실시 형태 1에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.
- [0073] 3. 실시 형태 2에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.
- [0074] 4. 실시 형태 3에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.
- [0075] 5. 실시 형태 1에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0076] 6. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

- [0077] 7. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0078] 8. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0079] 9. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0080] 10. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0081] 11. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0082] 12. 실시 형태 5에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0083] 13. 실시 형태 1에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0084] 14. 대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0085] 15. 실시 형태 14에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0086] 16. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0087] 17. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0088] 18. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0089] 19. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0090] 20. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0091] 21. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0092] 22. 실시 형태 15에 있어서, 융합 단백질은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0093] 23. 실시 형태 14에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0094] 24. 실시 형태 14에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.
- [0095] 25. 실시 형태 1에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.
- [0096] 1A. 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.
- [0097] 2A. 실시 형태 1A에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.
- [0098] 3A. 실시 형태 2A에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.
- [0099] 4A. 실시 형태 3A에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.
- [0100] 5A. 실시 형태 1A에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0101] 6A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0102] 7A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0103] 8A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0104] 9A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0105] 10A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0106] 11A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0107] 12A. 실시 형태 5A에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

- [0108] 13A. 실시 형태 1A에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0109] 14A. 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 억제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0110] 15A. 실시 형태 14A에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0111] 16A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0112] 17A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0113] 18A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0114] 19A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0115] 20A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0116] 21A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0117] 22A. 실시 형태 15A에 있어서, 융합 단백질은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0118] 23A. 실시 형태 15A에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0119] 24A. 실시 형태 14A에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.
- [0120] 25A. 실시 형태 1A에 있어서, 상기 조성물은 상기 대상체에게 주 1회 투여되는, 방법.
- [0121] 1B. 대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 억제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 주 1회 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.
- [0122] 2B. 실시 형태 1B에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.
- [0123] 3B. 실시 형태 2B에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.
- [0124] 4B. 실시 형태 3B에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.
- [0125] 5B. 실시 형태 1B에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0126] 6B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0127] 7B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0128] 8B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0129] 9B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0130] 10B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0131] 11B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0132] 12B. 실시 형태 5B에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0133] 13B. 실시 형태 1B에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0134] 14B. 대상체에서 체중을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 억제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 주 1회 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0135] 15B. 실시 형태 14B에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0136] 16B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

- [0137] 17B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0138] 18B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0139] 19B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0140] 20B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0141] 21B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0142] 22B. 실시 형태 15B에 있어서, 융합 단백질은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0143] 23B. 실시 형태 22B에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0144] 1C. 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 상기 대상체에게 주 1회 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.8 mg 내지 90 mg 범위의 용량으로 투여되고, 상기 대상체의 체중은 80 kg 이상인, 방법.
- [0145] 2C. 실시 형태 1C에 있어서, 상기 대상체는 과체중인, 방법.
- [0146] 3C. 실시 형태 2C에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 이상인, 방법.
- [0147] 4C. 실시 형태 3C에 있어서, 상기 대상체는 BMI가 25 kg/m^2 내지 29.9 kg/m^2 의 범위인, 방법.
- [0148] 5C. 실시 형태 1C에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.8 mg, 2.5 mg, 7.5 mg, 15 mg, 30 mg, 60 mg, 및 90 mg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0149] 6C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 0.8 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0150] 7C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 2.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0151] 8C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 7.5 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0152] 9C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 15 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0153] 10C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 30 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0154] 11C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 60 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0155] 12C. 실시 형태 5C에 있어서, 융합 단백질은 90 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0156] 13C. 실시 형태 1C에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.
- [0157] 14C. 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키는 방법으로서, 서열 번호 92를 포함하는 융합 단백질 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 대상체에게 주 1회 투여하는 단계를 포함하며, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg 내지 1.08 mg/kg 범위의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0158] 15C. 실시 형태 14C에 있어서, 상기 융합 단백질은 0.01 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.18 mg/kg, 0.36 mg/kg, 0.72 mg/kg, 및 1.08 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.
- [0159] 16C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.01 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0160] 17C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.03 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0161] 18C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.09 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0162] 19C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.18 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0163] 20C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.36 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0164] 21C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 0.72 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0165] 22C. 실시 형태 15C에 있어서, 융합 단백질은 1.08 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0166] 23C. 실시 형태 22C에 있어서, 상기 융합 단백질은 피하 주사를 통해 투여되는, 방법.

- [0167] **실시예**
- [0168] 본 발명의 하기 실시예는 본 발명의 성질을 추가로 예시하기 위한 것이다. 당업자라면, 전술한 설명 및 하기의 예시적인 실시예를 이용하여 본 발명을 만들어 이용하고 청구된 방법을 실시할 수 있는 것으로 여겨진다. 하기 실시예는 본 발명을 제한하지 않으며, 본 발명의 범주는 첨부된 청구범위에 의해 결정됨이 이해되어야 한다.
- [0169] **실시예 1: GDF15를 포함하는 융합 분자의 설계 - GDF15 절단의 효과**
- [0170] 다른 TGF β 패밀리의 구성원과 마찬가지로, GDF15는 프리-프로-단백질로서 합성되며, 프리-프로-단백질은 소포체 내에서 이량체를 형성하고, 푸린 절단을 거쳐서 분비 성숙 GDF15(아미노산 197 내지 308)를 생성한다. 분비 성숙 GDF15 동종이량체는 약 25k 달톤이며, 각각의 단량체는 최대 4개의 분자내 이황화물 결합을 형성하는 잠재력을 가지며, 단일 분자간 이황화물이 동종이량체 성분들을 연결한다.
- [0171] GDF15의 결정 구조를 본 발명에서 결정하였으며, 이는 도 1a 및 도 1b에 도시되어 있다. 결정 구조는, 성숙 GDF15의 C-말단은 이량체 계면 내에 매립되어 있으며, 한편 N-말단은 노출되어 있음을 나타낸다. 이러한 노출된 말단은 GDF15의 N-말단에 대한 융합 단백질, 예컨대 반감기 연장 단백질의 연결을 가능하게 한다.
- [0172] 결정 구조는 또한 GDF15 시스테인 잔기들의 신규한 이황화물 쌍형성 패턴을 도시한다. TGF β 1은 C1-C3 및 C2-C7 쌍형성(즉, 그의 제1 시스테인 잔기와 제3 시스테인 잔기 사이뿐만 아니라 그의 제2 시스테인 잔기와 제7 시스테인 잔기 사이의 쌍형성)을 갖지만, GDF15는 C1-C2 및 C3-C7 쌍형성을 갖는다(도 1a 및 도 1b 참조). 이러한 특유의 이황화물 쌍형성은 C1-C2 쌍형성에 의해 루프가 형성되게 하며, 이러한 루프는 단백질의 N-말단에 위치되고, 다른 이황화물 결합을 함유하는 시스테인 노트(knot)로부터 떨어져 있다. 이러한 구조로부터, GDF15의 N-말단이 이량체 형성 또는 전체 단백질 접힘에 중요하지 않을 수 있으며, GDF15 및 그의 N-말단 융합 분자는, C1-C2 루프 내의 잔기인 C1 및 C2, 또는 심지어는 잔기 C-말단에서 C2까지를 결실시키는 N-말단 결실을 참아낼 수 있을 것으로 예측된다.
- [0173] **실시예 2: GDF15를 포함하는 융합 분자의 설계 - 링커의 효과**
- [0174] HSA 분자와 GDF15 분자 사이의 상이한 링커들을 평가하였다. 서열 (GGGGS) $_n$ 을 함유하는 가요성 링커, 및 서열 (AP) $_n$ 또는 (EAAAK) $_n$ 을 함유하는 구조화된 링커 둘 모두(여기서, n 은 2 내지 20임)를 평가하였다.
- [0175] 상이한 링커들을 포함하는 융합 단백질을 그들의 생물물리학적 특성, 마른 마우스에서의 먹이 섭취량의 효능에 미치는 그들의 효과, 그들의 마우스 약동학적 특성(PK) 값, 및 인간 혈액 중에서의 그들의 생체외 안정성에 대하여 비교하였다. 시험된 링커 변이체들의 결과가 표 1에 제시되어 있다. (EAAAK) $_8$ 링커를 함유하는, 서열 번호 31을 포함하는 분자는 HPLC에 의해 응집을 보여주었다. 표 1에서의 나머지 7개의 링커 변이체는 어떠한 응집도 보여주지 않았다.
- [0176] [표 1]

링커 변이체 분석의 요약

서열 번호*	링커	응집	우수한 마우스 PK (WT)	인간 혈액 중에서의 생체의 안정성
25	AS(GGGGS) ₂ GT	없음	있음	있음
5	GS(GGGGS) ₄	없음	있음	있음
26	AS(GGGGS) ₈ GT	없음	있음	있음
27	AS(AP) ₅ GT	없음	있음	있음
28	AS(AP) ₁₀ GT	없음	있음	있음
29	AS(AP) ₂₀ GT	없음	있음	있음
30	AS(EAAAK) ₄ GT	없음	있음	있음
31	AS(EAAAK) ₈ GT	있음	시험되지 않음	시험되지 않음

* - 정제 목적을 위하여 6xHis 태그를 N-말단에 부착하였다.

마우스에서의 생체내 (*in vivo*) 연구에 의해 그리고 인간 전혈 및 혈장 샘플에서의 생체의 안정성 연구에 의해 이들 변이체에 대해 링커 안정성을 또한 평가하였다. 2가지 형태의 검출을 사용하여 이들 연구로부터의 결과를 분석하였다. 항-GDF15 포착 및 항-HSA 검출 항체 쌍을 사용한 면역검정을 사용하여, 링커의 양쪽에 있는 두 분자 모두의 존재를 측정함으로써 링커가 얼마나 온전한지를 평가하였다. 더 넓은 시점의 전체-분자 완전성(whole-molecule integrity)을 HSA 및 GDF15 둘 모두로부터의 상이한 대리(surrogate) 펩티드 서열들을 사용하여 액체 크로마토 그래피-질량 분석(LC-MS) 분석에 의해 분석하였다. 면역검정은 모든 링커 변이체에 대해 안정한 PK 프로파일을 보여주었으며, 48시간에 걸쳐 관찰된 임의의 링커 변이체에 대해서는 스파이킹된(spiked) 혈장 샘플 농도의 무손실을 보여주었다. LC-MS 결과는 면역검정과 일치하였는데, 이는 HSA 및 GDF15 분자의 상이한 부분들로부터의 대리 펩티드들이 온전함을 보여주었다. 대리 펩티드들을 사용하여 LC-MS에 의해 분석된 링커 변이체의 PK 프로파일은 상이한 링커 변이체들에 대해 유사한 경향을 보여주었는데, 여기서 이들은 모두 일수 7에서 검출가능한 수준을 가졌다. 서열 번호 31을 제외한 표 1에서의 모든 변이체는 바람직한 생물물리학적 특성 및 PK 값을 가졌다.

다른 마우스에서 먹이 섭취 연구를 수행함으로써, 링커 변이체들을 그들의 생체내 활성에 대해 평가하였다. 표 2는 감소하는 먹이 섭취량에 있어서의 융합 단백질의 효능에 대한 링커 변이체들의 영향을 제시한다. 효능에 대한 링커의 명백한 영향이 있었다. 가요성 (GGGS)_n 링커에 대하여, 2에서 4로, 이어서 8로의 링커 길이의 증가는 융합 단백질 효능을 대폭 증가시켰다. 더 강성한 (AP)_n 링커의 경우, 그러한 경향은 덜 명백하였는데, 이는 융합 단백질 내의 GDF15 분자의 자유도가 그의 효능에 있어서 중요한 역할을 함을 시사한다.

[0179] [표 2]

마른 마우스에서의 HSA-GDF15 융합 단백질의 생체내 효능에 대한 링커의 효과

서열 번호*	링커	% 먹이 섭취량 감소 (평균)
25	AS(GGGGS) ₂ GT	28.8
5	GS(GGGGS) ₄	40.5
26	AS(GGGGS) ₈ GT	60.7
27	AS(AP) ₈ GT	48.2
28	AS(AP) ₁₀ GT	66.2
29	AS(AP) ₂₀ GT	55.1
30	AS(EAAAK) ₄ GT	51.9

* - 정제 목적을 위하여 6xHis 태그를 N-말단에 부착하였다.

[0180]

[0181] 실시예 3: GDF15를 포함하는 융합 분자의 설계 - HSA 돌연변이의 효과

[0182] 반감기 연장 단백질인 인간 혈청 알부민이 링커를 통해 GDF15의 N-말단에 융합된 재조합 단백질을 설계하였다. 이러한 설계는 GDF15 이량체화 계면이 교란되지 않은 상태로 유지되는 것을 가능하게 하고, 천연 사슬간 이황화물 결합의 형성을 가능하게 하여, HSA 융합이 각각의 GDF15 아암(arm)으로부터 연장된 GDF15 동종이량체를 생성하게 될 것이다. 이러한 접근법의 경우, 단지 하나의 유전자만이 HSA-GDF15 동종이량체를 생성하는 데 필요하다.

[0183] 천연 인간 혈청 알부민 단백질은 35개의 시스테인(Cys, C) 잔기를 함유하며 이들 잔기가 17개의 이황화물 결합을 형성하는데, 이때 Cys-34 잔기는 분자 내의 유일한 유리 시스테인이다. 이러한 유리 Cys-34는 다수의 반응성 산소종(ROS) 및 반응성 질소종(RNS)을 포획함으로써, 자유 라디칼 스캐빈저로서 기능하는 것으로 밝혀져 있다. 따라서, 이러한 유리 Cys를 돌연변이시켜 산화로 인한 불균일성의 위험을 최소화하였다.

[0184] HSA의 위치 34의 유리 시스테인을 세린 또는 알라닌으로 돌연변이시키고, HSA(C34S) 또는 HSA(C34A) 돌연변이를 갖는 GDF15 융합 분자를 분석하였다. 3-단계 정제 방법을 사용하여 두 분자 모두를 정제하였다: (i) 이온-교환 크로마토그래피, (ii) 소수성 상호작용 크로마토그래피, 및 (iii) 크기-배제 크로마토그래피. 이들이 최초로 생성되었을 때, HPLC 분석은 두 분자 모두가 순수하고 무응집임을 보여주었다(표 3).

[0185] 그러나, 생성 후 2주째에, HSA(C34A) 돌연변이(서열 번호 48을 포함함)를 함유하는 융합 단백질은 HPLC에 의해 응집을 보여준 반면, HSA(C34S) 돌연변이(서열 번호 40)를 함유하는 융합 단백질은 4주 후에 무응집 상태로 남아 있었다.

[0186] [표 3]

융합 단백질 응집에 대한 HSA C34의 돌연변이의 영향

서열 번호	HSA 돌연변이	정제 시점에서의 응집 (%)	정제 후 2주째의 응집 (%)
40	C34S	0	0
48	C34A	0	33.29

[0187]

실시예 4: GDF15에

대한 프로테아제 절단 경향

[0188] GDF15의 아미노산 위치 198에서의 아르기닌 잔기(R198)가 HSA-GDF15 융합 분자 내에서 프로테아제 분해에 취약

하다는 것이 본 발명자들에 의해 관찰되었다. 그러한 분해는 불균일한 집단을 초래하고, 치료적 조성물에 바람직하지 않다. 이러한 절단은 프로테아제 억제제 각테일에 의해 방지될 수 있다. 프로테아제의 제거를 위한 정제 방법을 조사하였다. 표 4는, HPLC에 의해 측정된 바와 같은, HSA-GDF15 융합 단백질의 정제에 대해 시험된 2가지 유형의 HSA 친화성 컬럼을 열거한다. 정제 시점에서, 두 방법 모두에 의해 정제된 HSA-GDF15 융합 단백질은 100% 순수하고 온전하였다. 저농도(2 내지 5 mg/ml)에서는, 두 방법 모두에 의해 정제된 단백질이 4주의 전체 시험 기간 동안 온전하게 유지되었다. 그러나, 고농도(40 내지 50 mg/ml)에서는, 단지 항체-기반 HSA 수지(CaptureSelect)만이 전체 4주의 시험 기간 동안 온전하게 유지되는 프로테아제-무함유 단백질을 생성하였다. HSA-리간드-기반 수지(Albupure)는, 초기에는 온전하였지만 고농도로 저장될 때 시간 경과에 따라 분해를 보여준 단백질을 생성하였다. 프로테아제 억제제 각테일(PI) 및 EDTA를 첨가함으로써, Albupure 수지를 사용하여 정제된 고농도 HSA-GDF15 융합 단백질 배치(batch)의 분해를 완전히 방지시켰다. 따라서, 정제 방법은 안정한 치료적 조성물의 생성에 있어서 중요한 역할을 한다. 상응하는 분해는 생체내 또는 생체외에서 관찰되지 않았는데, 이는, 일단 치료적 조성물이 프로테아제-무함유 상태로 제조되면, 융합 단백질의 분해가 생체내에서 문제가 되지 않음을 시사한다. 따라서, 생성 동안 잠재적인 프로테아제를 효과적으로 제거할 수 있는 정제 방법, 예컨대 CaptureSelect 수지를 사용하는 것이 균일하고 온전하고 안정한 GDF15 치료제를 성공적으로 제조하는 데 있어서 핵심이다.

[표 4]

HSA-GDF15 융합 단백질의 프로테아제 절단은 샘플 정제 방법에 의해 제거될 수 있다

조건			HSA-GDF15(서열 번호 60)의 분해된 집단(%)				
농도	수지	+PI / EDTA	주수 0	주수 1	주수 2	주수 3	주수 4
저농도	Capture Select	없음	0	0	0	0	0
저농도	Albupure	없음	0	0	0	0	0
고농도	Capture Select	없음	0	0	0	0	0
고농도	Albupure	없음	0	3.04	9.47	11.57	13.89
고농도	Capture Select	있음	0	0	0	0	0
고농도	Albupure	있음	0	0	0	0	0

실시예 5: GDF15의

N-말단 결실 변이체

도 1a 및 도 1b에 도시된 GDF15 결정 구조로부터, 결실 변이체에 관여하는 GDF15의 N-말단이 이량체 형성 및 전체 단백질 접힘에 중요하지 않을 것으로 예측된다. 또한, 그러한 N-말단 결실은 어떠한 잠재적인 수용체 상호작용에도 영향을 주지 않을 것으로 예측된다. GDF15의 N 말단의 다양한 결실을 포함하는 HSA-GDF15 융합 단백질을 생체내 활성에 대해 시험하였다.

GDF15에 있는 프로테아제 절단 부위(R198)를 제거한 GDF15 N-말단 결실 변이체를 설계하였다. R198 잔기 바로 뒤에는, 잔기 N199 및 G200에 잠재적인 탈아미드화 부위가 있으며, 기질 탈아미드화 역시 치료적 조성물에 유리하지 않다. GDF15 N-말단 결실은 단백질 분해적 절단 부위 및 탈아미드화 부위 둘 모두를 동시에 제거할 수 있다. HSA를 갖는 융합 단백질 내로 도입된, 결과적인 GDF15 결실 변이체는 GDF15(201 내지 308; 서열 번호 8), GDF15(202 내지 308; 서열 번호 9), 및 GDF15(211 내지 308; 서열 번호 11)를 포함하였다. 마우스에서의 생체내 연구는 GDF15의 N-말단 결실 변이체가 먹이 섭취량을 감소시키는 데 있어서 여전히 활성임을 보여주었다(도 17). 실험 결과는 그러한 GDF15 N-말단 결실 변이체가 적절하게 발현되고, 적절한 이량체를 형성하고, 생체내에서 활성임을 확인시켜 주었다.

실시예 6: GDF15의 불활성 돌연변이체

표 5는 GDF15 생체내 활성을 없애도록 한 GDF15의 12개의 돌연변이체를 열거하고, GDF15의 기능적 에피토프를 보여준다. 이들 돌연변이체는 5개의 단일 돌연변이체, 2개의 이중 돌연변이체, 및 5개의 삼중 돌연변이체를 포함한다. 이들 돌연변이를 포함하는 HSA-GDF15 융합 단백질을 그들의 생물물리학적 특성 및 활성에 대해 특성화하였다(표 5). 12개의 돌연변이체 중에서, 하나는 발현되지 않았고 4개는 시간 경과에 따라 응집체를 형성하였는데, 이는 이들 돌연변이가 단백질 접힘 및 생물물리학적 특성을 방해함을 나타낸다. 나머지 7개의 돌연변이

체 중에서, 이들 중 4개는 GDF15의 단일 돌연변이를 함유하였으며, 이들 돌연변이체를 야생형과 대비하여 먹이 섭취량 감소에 대해 마우스에서 시험하였다. 단일 돌연변이체들 중 3개(I89R, I89W 및 W32A)는 생체내 활성을 손실하였으며, 한편 나머지 돌연변이체(Q60W)는 야생형 정도로 활성이다. 이들 결과는 I89R, I89W 또는 W32A 돌연변이가 수용체/공-수용체와 GDF15의 상호작용을 방해함을 나타내었는데, 이는 GDF15의 기능적 에피토프가 잔기 I89 및 W32 주위에 있음을 시사한다. 돌연변이의 넘버링은 융합 단백질에 존재하는 성숙 GDF15에 기초하는데, 예를 들어 "1"은 성숙 GDF15의 첫 번째 아미노산(서열 번호 6)을 지칭하고, "89"는 성숙 GDF15 단백질의 89번째 아미노산을 지칭한다.

[0195] [표 5]

GDF15 돌연변이체를 포함하는 융합 단백질의 생물물리학적 특성 및 활성의 요약

서열 번호	GDF15에서의 돌연변이	생물물리학적 특성	활성
5	야생형	잘 발현됨, 안정함	야생형 활성
64	I89R	잘 발현됨, 안정함	활성의 완전한 손실
65	I89W	잘 발현됨, 안정함	활성의 완전한 손실
66	L34A, S35A, R37A	잘 발현됨, 안정함	
67	V87A, I89A, L98A	잘 발현됨, 불안정함	
68	L34A, S35A, I89A	잘 발현됨, 안정함	
69	V87A, I89A	잘 발현됨, 안정함	
70	Q60W	잘 발현됨, 안정함	야생형 정도로 활성임
71	W32A	잘 발현됨, 안정함	활성의 완전한 손실
72	W29A	잘 발현됨, 불안정함	
73	Q60A, S64A, R67A	잘 발현됨, 불안정함	
74	W29A, Q60A, I61A	발현되지 않음	
75	W29A, W32A	잘 발현됨, 불안정함	

* - 정제 목적을 위하여 6xHis 태그를 N-말단에 부착하였다.

[0196]

[0197] 실시예 7: 발현 및 정제 방법

[0198] 발현

[0199] 20 ml 및 그 이상의 발현을 위하여, Expi293™ 발현 배지 중에서 성장된 HEK Expi293™ 세포를 사용하여 발현을 행하였다. 8% CO₂ 하에서 125 RPM으로 진탕하면서, 세포를 37℃에서 성장시켰다. Expi293™ 발현 키트를 사용하여 2.5 x 10⁶개 세포/ml로 세포를 형질감염시켰다. 형질감염된 세포 1 리터마다, 1 mg의 총 DNA를 25 ml의 Opti-MEM 중에 희석시키고, 2.6 ml의 Expi293™ 시약을 25 ml의 Opti-MEM 중에 희석시키고, 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 희석된 DNA 및 희석된 Expi293 시약을 배합하고, 실온에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, DNA 복합체를 세포에 첨가하였다. 세포를 진탕 중인 인큐베이터 내에 하룻밤 넣어두었다. 형질감염 후 당일날, 키트로부터의 5 ml의 증강제(Enhancer) 1을 키트로부터의 50 ml의 증강제 2 중에 넣어서 희석시키고, 2개의 증강제의 총 부피를 세포에 첨가하였다. 형질감염된 세포를 그들이 수집될 때까지 4일 동안 인큐베이터 내로 다시 넣어 두었다. 세포를 6,000g로 30분 동안 원심분리함으로써 농축시키고, 이어서 0.2 μm 필터를 사용하여 여과한 후, 정제 단계를 수행하였다.

[0200] 발현은 또한 CHO 세포에서도 행하였다. 플라스미드를 정제하고 특성화하였다. 형질감염 전에, HSA-GDF15의 코딩 영역을 함유하는 플라스미드 DNA의 200 μg의 하나의 분취물을 AcI I을 사용한 제한 효소 분해에 의해 선형화하였다. 이러한 제한 엔도뉴클레아제에 의한 분해는 암피실린 저항성 유전자의 제거를 보장한다. 2개의 선형화된 15 μg DNA 분취물을 BTX ECM 830 Electro Cell Manipulator(미국 매사추세츠주 홀리스턴 소재의 Harvard Apparatus)를 사용하여 2개의 1 x 10⁷ CHO 세포(지정된 형질감염 풀(pool) A 및 B) 내로 형질감염시켰다. 세포를 4 mm 갭 큐벳(gap cuvette) 내에서 15 밀리초 펄스 길이 및 5초 펄스 간격으로 250 볼트에서 3회 전기천공하였다. 형질감염된 세포를 진탕 플라스크 내의 MACH-1 + L-글루타민에 옮기고, 1일 동안 인큐베이션하였다. 형질감염 풀 A 및 형질감염 풀 B를 원심분리하고, MACH-1 + MSX 중에 재현탁하고, 진탕 플라스크에 옮겨서 6일

동안 인큐베이션하였다. 형질감염 풀 A 및 형질감염 풀 B로부터의 형질감염된 HSA-단백질 융합체-생성 세포를 풀링(pooling)하고, 전기천공 후 일수 8에 메틸셀룰로스 중에서 플레이트하였다.

[0201]

정제

[0202]

CaptureSelect 수지 및 크기 배제 크로마토그래피를 사용한 2-단계 정제를 사용하였다. 일시적으로 형질감염된 Expi293TM 세포로부터의 세포 상층액을 수지 1 ml당 10 mg 단백질의 대략적인 용량으로 사전-평형화된(PBS(pH 7.2)) HSA CaptureSelect 컬럼(ThermoFisher Scientific로부터의 CaptureSelect Human Albumin Affinity Matrix) 상에 로딩하였다. 로딩 후에, 10 컬럼 부피(CV)의 PBS(pH 7.2)로 컬럼을 세척함으로써 결합되지 않은 단백질을 제거하였다. 컬럼에 결합된 HSA-GDF15를 20 mM Tris(pH 7.0) 중 2M MgCl₂의 10 CV로 용리하였다. 피크 분획을 풀링하고, 여과하고(0.2 μ), 4°C에서 PBS(pH 7.2)에 대해 투석시켰다. 투석 후에, 단백질을 다시 여과하고(0.2 μ), 적절한 부피로 농축시킨 후, 26/60 Superdex 200 컬럼(GE Healthcare) 상에 로딩하였다. (SDS-PAGE에 의해 결정된) 고순도를 갖는 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 컬럼으로부터 용리된 단백질 분획을 풀링하였다. BioTek Synergy HTTM 분광광도계 상에서의 280 nm에서의 흡광도에 의해 단백질의 농도를 결정하였다. 정제된 단백질의 품질을 SDS-PAGE 및 분석용 크기 배제 HPLC(SE-HPLC, Dionex HPLC 시스템)에 의해 평가하였다. LAL 검정(Pyrotest[®]-T, Associates of Cape Cod)을 사용하여 내독소 수준을 측정하였다.

[0203]

Albupure 수지 및 SEC를 사용한 2-단계 정제를 또한 사용하였다. 고정화된 합성 트라이아진 리간드를 이용하여 HSA와 선택적으로 결합하는 AlbuPure 수지(ProMetic BioSciences Ltd)를 사용하여 실온에서 HSA-GDF15 융합 단백질을 정제하였다. 발현 상층액을 AlbuPure 수지에 적용하였다. 이어서, 수지를, 먼저 4 CV의 PBS(pH 7.2)로 세척한 후, 이어서 4 CV의 50 mM Tris(pH 8.0), 150 mM NaCl 완충액으로 세척하였다. 컬럼에 결합된 HSA-GDF15를 100 mM Na 옥타노에이트를 함유하는 4 CV의 PBS(pH 7.2) 완충액으로 용리하였다. 단백질-함유 분획을 30,000 kDa 분자량 컷오프 스핀 농축기(Amicon)를 사용하여 10 mL 부피로 농축시키고, 이어서 PBS(pH 7.2) 완충액 중에서 평형화된 26/60 Superdex S200pg 컬럼(GE)에 적용하였다. HSA-GDF15 동종이량체를 함유하는 SEC 분획을 SDS-PAGE를 통해 확인하고, 분석을 위하여 풀링하였다. SDS-PAGE 및 SE-HPLC에 의해 단백질 순도를 평가하였다.

[0204]

실시에 8 내지 실시에 14, 및 실시에 19는 서열 번호 60의 아미노산 서열을 갖는 본 발명의 예시적인 융합 단백질의 특성화를 포함한다. 이러한 융합 단백질은 글리신 및 세린 잔기로 이루어진 42-아미노산 링커, GS-(GGGG)₈을 통한 HSA와 성숙 인간 GDF15의 융합체의 동종이량체로서 존재하는 완전 재조합 단백질이다. 이러한 융합 단백질의 예측된 분자량은 162,696 달톤이며, HSA의 위치 34에 있는 단일 천연 유리 시스테인이 세린으로 돌연변이되었다. 이러한 특정 HSA-GDF15 융합 단백질은 간소함을 위하여 하기 실시예들에서는 간단히 "FP1"로 지칭될 것이다. AS-(GGGG)₈x8-GT 링커를 함유하는, FP1의 6xHis-태그된 변이체(6xHis-FP1, 서열 번호 26)를 하기 실시예들 중 일부에서 비교를 위하여 사용하였다.

[0205]

실시에 8: C57BL/6 마우스의 먹이 섭취량에 대한 FP1의 효과

[0206]

이 실험의 목적은 C57BL/6 마우스에서의 먹이 섭취량의 억제에 대한 FP1의 용량-반응성 효과를 입증하는 것이었다.

[0207]

수컷 C57BL/6 마우스를 BioDAQ 케이지 내에서 최소 72시간 동안 순응시켰다. 이어서, 마우스를 이전 24시간에서의 먹이 섭취량에 기초하여 8 마리씩 6개의 군으로 나누었다. 4:00 pm과 5:00 pm 사이에, 동물들의 체중을 측정하고, 비히클 또는 FP1을 포함하는 조성물을 피하 주사를 통해 투여하였다. 각각의 케이지에 대한 먹이 중량의 변화를 주사 후 48시간의 기간 동안 BioDAQ 시스템에 의해 연속해서 기록하였다. 6xHis-FP1을 본 연구에서 비교를 위하여 사용하였다.

[0208]

결과(도 2 및 표 6)를 주어진 시간 간격 동안의 누적 먹이 섭취량의 평균으로서 표현하였다. 결과는, C57BL/6 마우스에 대한 FP1의 피하 투여가 시험된 모든 용량 및 시점에서 비히클-처리된 동물과 대비하여 먹이 섭취량을 유의하게 억제하였음을 나타내었다. 6xHis-FP1은 8 nmol/kg의 용량에서 먹이 섭취량을 감소시켰다.

[0209]

[표 6]

C57BL/6 마우스에서의 먹이 섭취량에 대한 FP1의 피하 투여의 효과: 투여 후 12, 24 및 48 시간째에서의 누적 먹이 섭취량이 하기에 제시되어 있다.

누적 먹이 섭취량 (g)			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	3.7 ± 0.2	4.3 ± 0.1	8.4 ± 0.3
FP1, 1 nmol/kg	2.9 ± 0.1*	3.4 ± 0.2**	7.0 ± 0.3**
FP1, 4 nmol/kg	2.3 ± 0.2****	3.1 ± 0.1****	6.6 ± 0.3***
FP1, 8 nmol/kg	2.1 ± 0.2****	3.2 ± 0.1***	6.4 ± 0.2****
FP1, 16 nmol/kg	1.7 ± 0.2****	2.7 ± 0.2****	6.2 ± 0.3****
6xHis-FP1, 8 nmol/kg	1.8 ± 0.2****	2.6 ± 0.2****	6.0 ± 0.2****

데이터는 평균 ± SEM 으로서 표현된다.

*p≤0.05, vs. PBS; **p≤0.01, vs. PBS; ***p≤0.001, vs. PBS; ****p≤0.0001, vs. PBS

일원 분산분석-터키 다중 비교 검정; n=8/군

실시예 9: 스프라그

돌리 래트에서의 먹이 섭취량에 대한 FP1의 효과

이 실험의 목적은 스프라그 돌리 래트에서의 먹이 섭취량의 억제에 대한 FP1의 용량-반응성 효과를 입증하는 것이었다.

수컷 스프라그 돌리 래트를 BioDAQ 케이지 내에서 최소 72시간 동안 순응시켰다. 이어서, 래트를 이전 24시간에서의 먹이 섭취량에 기초하여 8 마리씩 6개의 군으로 나누었다. 4:00 pm과 5:00 pm 사이에, 동물들의 체중을 측정하고, 비히클 또는 융합 단백질을 포함하는 조성물을 피하 주사를 통해 투여하였다. 각각의 케이지에 대한 먹이 중량의 변화를 주사 후 48시간의 기간 동안 BioDAQ 시스템에 의해 연속해서 기록하였다. 6xHis-FP1을 본 연구에서 비교를 위하여 사용하였다.

결과는 도 3 및 표 7에 나타나 있다. FP1의 피하 투여는 비히클-처리된 동물과 대비하여 2.5 nmol/kg 및 10 nmol/kg의 용량에서 먹이 섭취량을 억제하였다. 억제는, 투여 후 24 및 48시간째에, 시험된 최고 용량(10 nmol/kg)에 대해서만 통계학적 유의성에 도달하였다. FP1은 8 nmol/kg의 용량에서 먹이 섭취량을 감소시켰으며, 이 효과는 24 및 48시간째에 유의하였다.

[0214] [표 7]

스프라그 돌리 래트에서의 먹이 섭취량에 대한 FP1의 피하 투여의 효과; 투여 후 12, 24 및 48시간째에서의 누적 먹이 섭취량이 하기에 제시되어 있다.

누적 먹이 섭취량 (g)			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	20.6 ± 1.3	25.3 ± 1.3	49.1 ± 2.1
FP1, 0.1 nmol/kg	23.3 ± 1.4	26.9 ± 0.8	52.8 ± 1.3
FP1, 0.5 nmol/kg	22.6 ± 1.7	25.1 ± 1.0	48.3 ± 1.8
FP1, 2.5 nmol/kg	20.0 ± 1.4	22.0 ± 1.0	44.6 ± 1.4
FP1, 10 nmol/kg	18.7 ± 0.9	19.9 ± 1.0*	39.9 ± 2.3*
6xHis-FP1, 8 nmol/kg	17.0 ± 1.5	18.8 ± 1.4**	38.4 ± 2.5**

데이터는 평균 ± SEM으로서 표현된다.

*p≤0.05, vs. PBS; **p≤0.01, vs. PBS

일원 분산분석-터키 다중 비교 검정; n=8/군

[0215]

[0216] 실시예 10: 식이-유도 비만(DIO) 마우스에서의 글루코스 항상성 및 체중에 대한 FP1의 효과

[0217] 이 실험의 목적은 DIO C57Bl/6 마우스에서의 2주의 처리 내내 먹이 섭취량, 체중, 및 글루코스 항상성에 대한 FP1의 효과를 평가하는 것이었다.

[0218] 수컷 DIO 마우스의 체중을 측정하고, FP1을 일수 0, 3, 6, 9, 및 12에서 3일마다(q3d) 2 mL/kg으로 피하 투여하였다. 비히클 및 로시글리타존 처리군에 유사한 계획(regimen)으로 PBS를 투여하였다. 대조군 로시글리타존은 자유식(ad libitum)으로 0.015%로 식이 내에 제공하였다. 마우스 및 먹이 중량을 매일 기록하였다. 혈당측정기(One Touch®Ultra®, 미국 캘리포니아주 밀피타스 소재의 Lifescan)를 사용하여 글루코스를 측정하였다. Bruker Mini-Spec LF110을 사용하여 시간-도메인 NMR(TD-NMR)에 의해 의식있는 마우스에서 체지방량 및 체지방량을 정량화하였다. 경구 글루코스 내성 시험(OGTT)을 위하여, 마우스를 4시간 동안 절식시켰다. 10 mL/kg으로 2 g/kg의 글루코스의 경구 위관영양법(oral gavage) 투여 후 0, 30, 60, 90, 및 120분째에 꼬리 자름(tail snip)을 통해 혈당을 측정하였다. 글루코스 투여 후 0, 30, 및 90분째에 인슐린을 측정하였다.

[0219] 본 연구의 종료 시점에서, CO₂ 흡입을 통해 마우스를 안락사시키고, 말단 혈액(terminal blood) 샘플을 수집하였다. 혈청을 젖은 얼음 상의 96웰 플레이트 내로 넣고, 이어서 -80℃에서 저장하였다. 간을 적출하고, 간 절편의 총 질량에 대한 지방 함량을 제조자의 사용설명서에 따라 Bruker MiniSpec mq60을 구비한 TD-NMR을 사용하여 평가하였다.

[0220] 인슐린 저항성의 공복 항상성 모델 평가(HOMA-IR)를 공복 글루코스(단위: mg/dL)와 인슐린(단위: mU/L)의 곱을 계수 405로 나눈 값에 기초하여 계산하였다.

[0221] 1 nmol/kg 및 10 nmol/kg의 FP1 q3d에 의한 DIO 마우스의 처리는 체중(표 8) 및 먹이 섭취량(표 9)을 감소시켰다. 감소는 하기에 기재된 바와 같이 단지 소정의 시점에서만 통계학적 유의성에 도달하였다.

[0222] Fp1은 DIO 마우스에서 1(일수 2 내지 14) 및 10 nmol/kg(일수 1 내지 14)의 용량에서 체중을 감소시켰다(표 8 및 도 4). 먹이 섭취량의 유의한 감소가 1 nmol/kg의 용량에서는 본 연구의 일수 1 및 2에서 그리고 10 nmol/kg의 용량에서는 일수 1, 8 및 9에서 관찰되었다(표 9).

[0223] [표 8]

DIO 마우스에서 FP1에 의한 처리 동안의 체중 변화(시작 체중의 %)

처리 일수	비하클 n/a	FP1 (nmol/kg)			로시글리타존 10 mpk/일
		0.1	1	10	
-2	0.1 ± 0.2	-0.1 ± 0.4	0.6 ± 0.4	0.2 ± 0.3	0.1 ± 0.2
-1	-0.8 ± 0.3	-0.2 ± 0.3	0.4 ± 0.3	-0.3 ± 0.4	-0.9 ± 0.2
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1	0.1 ± 0.2	-0.1 ± 0.4	-1.5 ± 0.5	-2.8 ± 0.4*	1.9 ± 0.2
2	0.0 ± 0.3	-0.8 ± 0.5	-3.2 ± 0.4*	-3.1 ± 0.5*	2.2 ± 0.5
3	-0.2 ± 0.4	-0.4 ± 0.4	-3.2 ± 0.6*	-4.0 ± 0.7*	2.6 ± 0.5
4	-0.4 ± 0.5	-0.7 ± 0.5	-3.8 ± 0.6*	-4.4 ± 0.8*	3.0 ± 0.5*
5	-0.5 ± 0.4	-1.0 ± 0.3	-4.0 ± 0.5*	-4.6 ± 0.9*	3.8 ± 0.6*
6	-0.4 ± 0.6	-0.5 ± 0.5	-3.8 ± 0.4*	-5.6 ± 0.9*	4.0 ± 0.7*
7	-0.3 ± 0.5	-0.5 ± 0.5	-4.3 ± 0.6*	-6.1 ± 0.9*	5.5 ± 0.8*
8	-0.6 ± 0.5	-0.5 ± 0.5	-4.2 ± 0.6*	-6.7 ± 1.1*	6.1 ± 0.9*
9	-0.4 ± 0.5	-0.2 ± 0.5	-4.5 ± 0.6*	-7.2 ± 1.2*	7.0 ± 1.0*
10	-0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	-4.4 ± 0.8*	-7.8 ± 1.2*	7.8 ± 1.1*
11	-0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.4	-4.4 ± 0.8*	-7.9 ± 1.4*	8.2 ± 1.2*
12	-0.8 ± 0.6	0.8 ± 0.5	-4.3 ± 1.0*	-7.9 ± 1.5*	8.5 ± 1.2*
13	-0.8 ± 0.6	0.5 ± 0.5	-3.9 ± 0.9*	-8.7 ± 1.6*	8.6 ± 1.3*
14	-1.7 ± 0.6	-0.4 ± 0.5	-4.6 ± 1.0*	-9.0 ± 1.7*	7.6 ± 1.3*
데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.					
* = p<0.05, vs. 비하클 처리군의 것.					

[0224]

[0225] [표 9]

DIO 마우스에서 FP1에 의한 처리 동안의 일일 먹이 섭취량 (gm)

처리 일수	비히클 n/a	FP1 (nmol/kg)			로시글리타존 10 mpk/일
		0.1	1	10	
-2	2.9 ± 0.1	3.0 ± 0.2	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1
0	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1	3.0 ± 0.1
1	2.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1	2.1 ± 0.2*	1.5 ± 0.1*	3.6 ± 0.1*
2	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.3 ± 0.1*	2.6 ± 0.2	3.9 ± 0.2*
3	2.8 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.4 ± 0.2	3.5 ± 0.1*
4	2.3 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.1	3.3 ± 0.1*
5	2.8 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.6 ± 0.1	3.7 ± 0.2*
6	2.8 ± 0.1	3.1 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.4 ± 0.2	3.7 ± 0.2*
7	2.7 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.4 ± 0.1	3.8 ± 0.2*
8	2.7 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.1 ± 0.1*	3.5 ± 0.2*
9	3.0 ± 0.1	3.3 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.5 ± 0.2*	4.3 ± 0.2*
10	2.6 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1	2.2 ± 0.1	3.6 ± 0.1*
11	2.9 ± 0.1	3.1 ± 0.1	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2	3.4 ± 0.1*
12	2.7 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.2	3.6 ± 0.2*
13	2.6 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.2 ± 0.2	3.2 ± 0.1*
데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.					
* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.					

[0226]

본 연구의 일수 14에서 수행된 OGTT에서, FP1은 시험된 모든 3개의 용량에서 시간 0 후의 모든 시점에서 비히클-처리된 동물과 대비하여 글루코스 수준을 유의하게 낮추었다(표 10). 이것을 총 곡선 아래 면적(AUC) 및 델타 AUC로서 추가로 정량화하였는데, 이들은 시험된 모든 3개의 용량에 대해 비히클과 대비하여 유의하게 더 낮았다(표 10 및 도 5a 및 도 5b).

[0227]

[표 10]

DIO 마우스에서 FP1의 14일의 q3d 투여 후 OGTT 동안의 혈당(mg/dL) 수준

처리	용량 (nmol/kg)	글루코스 시험투여 후 시간 (분)					총 AUC (mg/dL/120 분)	델타 AUC (mg/dL/120 분)
		0	30	60	90	120		
비히클	NA	209.6 ± 16.5	399.4 ± 46.4	338.5 ± 46.3	297.5 ± 38.0	269.3 ± 36.6	38244.4 ± 4308.2	13089.4 ± 3573.0
FP1	0.1	196.6 ± 7.6	319.0 ± 21.5*	241.6 ± 14.4*	196.0 ± 12.8*	184.0 ± 6.3*	28408.1 ± 1236.1*	4885.5 ± 955.1*
	1	164.0 ± 7.2	251.4 ± 13.0*	227.6 ± 12.6*	191.9 ± 9.4*	180.6 ± 13.1*	25295.6 ± 1026.7*	5615.6 ± 647.6*
	10	146.6 ± 5.9	195.6 ± 14.5*	197.1 ± 6.9*	172.1 ± 6.3*	174.9 ± 13.8*	21768.8 ± 603.0*	4211.4 ± 425.8*
로시글리타존	10 mpk/일	130.8 ± 6.0	199.1 ± 12.9*	204.4 ± 8.5*	184.1 ± 10.9*	169.1 ± 5.7*	22115.6 ± 671.9*	6425.6 ± 599.6
데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.								
* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.								

[0228]

[0229]

본 연구의 시작일(일수 0), 일수 7 및 일수 13에서 식후 혈당 수준을 측정하였다(표 11 및 도 6). FP1은 본 연구의 일수 13에서 1 nmol/kg 및 10 nmol/kg의 용량에서 통계학적으로 유의한 방식으로 혈당을 감소시켰다.

[0230] [표 11]

FP1의 q3d 처리에 의한 DIO 마우스의 처리 동안 식후 혈당

처리	용량 (nmol/kg)	처리 시작 후의 시간 (일수)		
		0	7	13
비히클	NA	177.6 ± 10.9	173.6 ± 10.6	225.3 ± 23.0
FP1	0.1	174.1 ± 8.5	171.8 ± 16.3	196.4 ± 8.1
	1	167.5 ± 7.8	135.1 ± 11.2	165.3 ± 10.3*
	10	165.3 ± 13.7	145.3 ± 4.9	153.8 ± 7.5*
로시글리타존	10 mpk/일	189.6 ± 17.3	122.6 ± 8.1*	154.8 ± 6.5*

데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0231]

[0232]

OGTT 동안의 혈장 인슐린 수준은 30분째에 0.1 nmol/kg의 용량의 경우 상응하는 비히클군보다 FP1에 대해 유의하게 더 높았으며, 동일한 시점에서 1 및 10 nmol/kg의 용량에서는 더 낮았다(표 12). 총 AUC에 의해 측정된 바와 같은, OGTT 동안의 인슐린 일탈(insulin excursion)은 FP1의 0.1 nmol/kg의 용량의 경우에는 비히클군보다 더 높았으며(표 12), 1 및 10 nmol/kg의 용량에서는 더 낮았다. 두 경우 모두, 단지 최저 용량에서만 통계학적 유의성에 도달하였다. 90분 시점에서, 1 및 10 nmol/kg의 FP1로 처리된 마우스는 더 낮은 인슐린 수준을 가졌지만; 이러한 효과는 통계학적 유의성을 달성하지는 못하였다. 인슐린 감수성의 척도로서 사용된 HOMA-IR은 본 연구의 일수 14일에서 측정하였다. 이 시점에서, FP1은 10 nmol/kg에서, HOMA-IR을 감소시키거나, 또는 인슐린 감수성을 개선하였다(표 13 및 도 7).

[0233]

[표 12]

DIO 마우스에서 FP1의 14 일의 q3d 투여 후 OGTT 동안의 혈장 인슐린(pg/mL) 수준

처리	용량 (nmol/kg)	글루코스 시험투여 후 시간 (분)			총 AUC (pg/mL/90 분)
		0	30	90	
비히클	NA	6096.0 ± 774.3	14660.0 ± 3031.2	5034.4 ± 405.1	902151.9 ± 143123.2
FP1	0.1	7861.0 ± 779.5	33825.8 ± 7902.0*	6494.4 ± 797.0	1834808.8 ± 381276.1*
	1	4808.1 ± 795.8	13061.8 ± 2226.3	3443.5 ± 342.5	763218.1 ± 119766.8
	10	3478.3 ± 634.6	7147.0 ± 823.8	2958.0 ± 414.0	462528.8 ± 44653.1
로시글리타존	10 mpk/일	2965.6 ± 524.2	2203.1 ± 193.5*	1180.0 ± 57.1	179025.0 ± 9970.7

데이터는 평균 ± SEM 으로서 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0234]

[0235]

[표 13]

FP1의 14 일의 q3d 처리 후의 DIO 마우스에서의 공복 HOMA-IR

처리	용량 (nmol/kg)	HOMA-IR
비히클	NA	93.5 ± 15.3
FP1	0.1	112.4 ± 14.6
	1	56.7 ± 9.7
	10	37.7 ± 8.2*
로시글리타존	10 mpk/일	27.3 ± 4.7*

데이터는 평균 ± SEM 으로서 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0236]

[0237]

일수 13까지 달성된 중량 손실의 크기는 어떠한 용량에서도 절대 체지방량 또는 % 체지방량에 있어서 측정가능한 변화를 가져오지 않았다(표 14). 10 nmol/kg의 용량에서는, 절대 체지방량에 있어서 유의한 감소가 있었다. 이러한 감소는 % 체지방량으로 표현될 때에는 관찰되지 않았다. 본 연구의 일수 15에서 종점 부검 동안 간 중량을 측정하였다(표 15). FP1은 10 nmol/kg의 용량에서 절대 간 중량 및 체중의 백분율로서의 간 중량을 감소시켰다. 1 nmol/kg의 용량에서 감소가 관찰되었지만, 이것은 어느 한 파라미터에 대해서도 통계학적 유의성에 도달하지 못하였다. 생검 시에 NMR에 의해 간 지방을 측정하였다(표 16). FP1 용합 단백질은 1 및 10 nmol/kg

의 용량에서 간 생검 중량의 백분율로 표현된 간 지방 함량을 감소시켰다. 감소는 더 높은 용량에서 유의하였다.

[0238]

[표 14]

DIO 마우스에서 FP1 q3d 에 의한 13 일의 처리 후의 신체 조성

처리	용량 (nmol/kg)	체지방량 (g)	체지방량 (g)	체지방량 (신체의 %)	체지방량 (신체의 %)
비히클	NA	11.6 ± 0.5	29.6 ± 0.4	23.4 ± 0.8	59.6 ± 0.9
FP1	0.1	12.2 ± 0.4	29.7 ± 0.4	24.1 ± 0.6	58.5 ± 0.6
	1	12.1 ± 0.3	28.0 ± 0.4	25.1 ± 0.3	58.3 ± 0.6
	10	10.6 ± 0.3	27.7 ± 0.4*	23.1 ± 0.3	60.6 ± 0.6
로시글리타존	10 mpk/일	14.9 ± 0.6*	30.0 ± 0.5	27.2 ± 0.4*	55.0 ± 0.6*

데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0239]

[0240]

[표 15]

DIO 마우스에서 FP1 q3d 에 의한 15 일의 처리 후의 간 중량

처리	용량 (nmol/kg)	간 중량 (g)	간 중량 (신체의 %)
비히클	NA	2.6 ± 0.1	5.4 ± 0.2
FP1	0.1	2.9 ± 0.2	5.8 ± 0.2
	1	2.2 ± 0.1	4.6 ± 0.2
	10	1.9 ± 0.1*	4.2 ± 0.1*
로시글리타존	10 mpk/일	2.5 ± 0.2	4.6 ± 0.2

데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0241]

[0242] [표 16]

DIO 마우스에서 FP1 q3d 에 의한 15 일의 처리 후에 측정된 간 지방 함량

처리	용량 (nmol/kg)	지방 (%)
비히클	NA	27.3 ± 2.1
FP1	0.1	26.0 ± 1.4
	1	22.5 ± 1.4
	10	17.8 ± 1.6*
로시글리타존	10 mpk/일	25.9 ± 0.8

데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.

* = p<0.05, vs. 비히클 처리군의 것.

[0243]

[0244] 실시예 11: ob/ob 마우스에서의 혈당 수준 및 체중에 대한 FP1의 효과

[0245] 본 실험의 목적은 비만, 고혈당, 렙틴-결핍 ob/ob 마우스에서의 8일의 처리에 걸쳐 체중 및 혈당 수준에 대한 FP1의 효과를 평가하는 것이었다.

[0246] 수컷 ob/ob 마우스의 체중을 측정하고, FP1을 일수 0, 3 및 6에서 3일마다(q3d) 2 mL/kg으로 피하 투여하였다. 마우스 및 먹이 중량을 매일 기록하였다. 혈당측정기를 사용하여 글루코스를 매일 측정하였다. 본 연구의 종료 시점에서, 마우스를 안락사시키고, 말단 혈액 샘플을 수집하였다.

[0247] 1 nmol/kg의 용량의 FP1은 비히클-처리된 마우스와 대비하여, 일수 2에서 시작하여 일수 8까지 ob/ob 마우스에서 체중을 유의하게 감소시켰다(시작 체중의 백분율로 표현됨). 10 nmol/kg의 용량의 FP1은 비히클-처리된 마우스와 대비하여, 일수 1에서 시작하여 일수 8까지 ob/ob 마우스에서 체중을 감소시켰다(시작 체중의 백분율로 표현됨) (표 17 및 도 8).

[0248] [표 17]

ob/ob 마우스에서 FP1 q3d에 의한 처리 동안의 체중 변화(시작 체중의 %)

처리	비히클	FP1	
일수	n/a	1 nmol/kg	10 nmol/kg
-6	-2.5 ± 0.3	-2.8 ± 0.4	-3.6 ± 0.5
-5	-2.4 ± 0.3	-3.0 ± 0.5	-3.5 ± 0.5
-4	-1.9 ± 0.2	-2.5 ± 0.4	-2.8 ± 0.3
-1	-0.3 ± 0.3	0.1 ± 0.2	-0.3 ± 0.2
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1	0.5 ± 0.2	-1.6 ± 0.2	-2.3 ± 0.5*
2	1.1 ± 0.2	-1.8 ± 0.4*	-2.0 ± 0.9*
3	1.3 ± 0.3	-2.5 ± 0.4*	-3.1 ± 1.1*
4	1.8 ± 0.3	-3.3 ± 0.5*	-4.2 ± 1.3*
5	1.8 ± 0.4	-3.5 ± 0.5*	-4.7 ± 1.5*
6	2.0 ± 0.5	-4.0 ± 0.7*	-5.7 ± 1.6*
7	2.8 ± 0.6	-4.8 ± 0.8*	-6.3 ± 1.7*
8	3.5 ± 0.8	-4.5 ± 1.0*	-6.1 ± 1.9*

데이터는 평균 ± SEM으로 표현된다. n=8/군.

* = $p < 0.05$, vs. 비히클 처리군의 것.

[0249]

[0250]

10 nmol/kg의 용량의 FP1은 비히클-처리된 마우스와 대비하여 연구 일수 1 및 2에서 그리고 일수 4에서 일수 8까지 *ob/ob* 마우스에서 식후 혈당 값을 감소시켰다. 혈당의 감소가 1 nmol/kg에서 관찰되었지만; 이러한 효과는 통계학적 유의성에 도달하지 못하였다(표 18 및 도 9).

[0251] [표 18]

FP1 q3d 에 의한 ob/ob 마우스의 처리 동안 식후 혈당

처리 일수	비허클 n/a	FP1	
		1 nmol/kg	10 nmol/kg
-6	463.6 ± 31.2	395.7 ± 52.0	463.6 ± 41.0
-5	554.9 ± 57.5	609.6 ± 53.6	552.9 ± 53.0
-4	502.9 ± 41.6	517.9 ± 71.6	490.3 ± 54.4
-1	552.1 ± 45.1	567.2 ± 51.2	586.0 ± 42.6
0	468.8 ± 57.3	479.7 ± 61.8	437.0 ± 42.7
1	537.0 ± 42.8	439.0 ± 80.4	336.2 ± 51.0*
2	511.7 ± 43.5	440.0 ± 74.3	293.7 ± 37.6*
3	447.8 ± 54.2	369.6 ± 75.9	279.4 ± 38.8
4	516.3 ± 47.0	384.6 ± 84.0	261.2 ± 43.7*
5	531.0 ± 47.1	410.9 ± 92.2	286.9 ± 55.8*
6	596.1 ± 45.1	451.1 ± 82.6	301.9 ± 49.3*
7	566.7 ± 44.3	425.3 ± 86.9	246.7 ± 43.5*
8	509.9 ± 37.6	337.8 ± 75.1	223.4 ± 34.1*
데이터는 평균 ± SEM 으로 표현된다. n=8/군.			

[0252]

[0253] 실시예 12: 다중종 약동학적 특성(Multispecies Pharmacokinetics)

[0254] 마우스 약동학적 특성

[0255] FP1을 PBS(pH 7) 중 2 mg/kg IV 및 SC의 용량으로 암컷 C57Bl/6 마우스에 투여하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈청을 처리하고, 양쪽 투여 경로 후 최대 7일까지 약물 농도를 측정하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP1의 농도를 결정하였다. 혈청 약물 농도-시간 프로파일이 표 19 및 표 20에 요약되어 있고 도 10에 예시되어 있다.

[0256] [표 19]

C57Bl/6 암컷 마우스에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 - SC 용량						표준 편차
	동물 56 결과 (nM)	동물 57 결과 (nM)	동물 58 결과 (nM)	동물 60 결과 (nM)	동물 63 결과 (nM)	평균 결과 (nM)	
4 hr	32.299	50.735	42.766	32.407	23.018	36.245	10.698
24 hr	88.822	106.418	88.648	103.841	80.346	93.615	11.093
72 hr	33.563	38.473	32.473	33.625	32.769	34.181	2.451
96 hr	20.639	24.988	21.247	19.356	20.771	21.400	2.124
일수 7	5.399	6.919	7.234	5.994	5.637	6.237	0.803

[0257]

[0258] [표 20]

C57Bl/6 암컷 마우스에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 - IV 용량						
	동물 52 결과 (nM)	동물 53 결과 (nM)	동물 65 결과 (nM)	동물 66 결과 (nM)	동물 70 결과 (nM)	평균 결과 (nM)	표준 편차
1 hr	240.410	233.318	232.484	276.913	272.727	251.172	21.857
24 hr	86.823	95.774	80.201	93.153	88.853	88.961	6.027
72 hr	33.634	37.447	33.108	41.680	34.034	35.981	3.612
96 hr	22.666	20.588	19.458	33.718	20.361	23.358	5.909
일수 7	7.401	5.606	4.896	8.556	4.205	6.133	1.803

[0259]

[0260] 약동학적 분석은 C57Bl/6 마우스에서 FP1에 대하여, SC 및 IV 투여 후 각각 1.67 및 1.57일의 최종 반감기를 보여주었다(표 21). FP1은 SC 투여 후 약 71%의 평균 생체이용률을 보여주었다.

[0261] [표 21]

암컷 C57Bl/6 마우스에서의 2 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP1의 평균(± SD) 약동학적 파라미터

경로		t _{1/2} (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	V _{ss} (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-1ast} (일*ng/ml)	AUC _{0-inf} (일*ng/ml)
SC	평균	1.67	49.48		14994	1	38315	40734
	(SD)	(0.14)	(4.791)		(1776)		(3851)	(4072)
IV	평균	1.57	35.00	69.03	40231	0.04	55263	57531
	(SD)	(0.19)	(3.13)	(5.8)	(3500)		(4853)	(5416)

주: *T_{max} (중위)

[0262]

[0263] 래트 약동학적 특성

[0264] FP1을 PBS(pH 7) 중 2 mg/kg IV 및 SC의 용량으로 암컷 스프라그 돌리 래트에 투여하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈청을 처리하고, 양쪽 투여 경로 후 최대 7일까지 약물 농도를 측정하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP1의 농도를 결정하였다. 혈청 약물 농도-시간 프로파일이 표 22 및 표 23에 요약되어 있고 도 11에 예시되어 있다.

[0265] [표 22]

암컷 스프라그 돌리 래트에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 - 군 3 (SC 용량)						
	동물 53 결과 (nM)	동물 55 결과 (nM)	동물 67 결과 (nM)	동물 68 결과 (nM)	동물 69 결과 (nM)	평균 결과 (nM)	표준 편차
4 hr	4.766	3.500	3.932	3.546	3.250	3.799	0.593
24 hr	45.118	53.192	39.196	39.823	40.804	43.627	5.826
72 hr	18.900	24.102	23.124	23.718	18.933	21.755	2.615
96 hr	12.193	14.333	14.185	14.669	11.256	13.327	1.511
일수 7	2.805	2.821	2.447	3.438	2.358	2.774	0.426

[0266]

[0267] [표 23]

암컷 스프라그 돌리 래트에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 - 군 4 (IV 용량)						표준 편차
	동물 51 결과 (nM)	동물 52 결과 (nM)	동물 57 결과 (nM)	동물 64 결과 (nM)	동물 66 결과 (nM)	평균 결과 (nM)	
1 hr	43.620*	382.676	403.255	443.080	510.105	356.547	181.560
24 hr	102.665*	142.661	139.066	124.528	126.425	127.069	15.728
72 hr	46.720	60.105	67.090	59.257	70.423	60.719	9.127
96 hr	29.409	39.897	41.225	42.258	48.074	40.173	6.779
일수 7	6.976	11.251	8.913	9.540	13.006	9.937	2.298

* 반복 분석에 의해 확인된 결과

[0268]

[0269] 약동학적 분석은 스프라그 돌리 래트에서 FP1에 대하여, SC 및 IV 투여 후 각각 1.34 및 1.51일의 최종 반감기를 보여주었다(표 24). FP1은 SC 투여 후 약 23%의 평균 생체이용률을 보여주었다.

[0270] [표 24]

스프라그 돌리 래트에서의 2 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP1의 평균($\pm$ SD) 약동학적 파라미터

경로		$t_{1/2}$ (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	Vss (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-last} (일*ng/ml)	AUC _{0-inf} (일*ng/ml)
SC	평균	1.34	100.09		6987	1	19250	20112
	(SD)	(0.04)	(3.97)		(417)		(794)	(820)
IV	평균	1.51	24.75	53.41	59000	0.04	83028	86525
	(SD)	(0.12)	(8.53)	(17.15)	(25031)		(20126)	(20881)

주:*T_{max} (중위)

[0271]

[0272] 원숭이 약동학적 특성

[0273] FP1을 PBS(pH 7) 중 1 mg/kg IV 및 SC의 용량으로 나이브(naïve) 수컷 사이노물거스 원숭이(마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*))에 투여하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈청을 처리하고, 면역검정 생물분석을 사용하여 양쪽 투여 경로 후 최대 21일까지 약물 농도를 측정하였다. 혈청 약물 농도-시간 프로파일이 표 25 및 표 26에 요약되어 있고 도 12에 예시되어 있다.

[0274] [표 25]

면역 검정에 의해 결정된 바와 같은, 사이노물거스 원숭이에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 (SC 용량)				
	동물 110 (nM)	동물 111 (nM)	동물 112 (nM)	평균 결과 (nM)	표준 편차
투여 전	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	N/A
6 hr	49.304	43.784	72.110	55.066	15.017
24 hr	93.368	71.958	96.863	87.396	13.483
48 hr	107.689	97.509	115.144	106.781	8.853
72 hr	113.601	104.190	104.449	107.414	5.360
120 hr	101.490	95.049	91.717	96.085	4.968
168 hr	82.167	75.435	81.569	79.724	3.726
240 hr	71.033	56.732	59.266	62.344	7.631
336 hr	44.380	42.758	42.571	43.236	0.995
432 hr	30.911	29.445	32.839	31.065	1.702
528 hr	21.277	20.404	26.427	22.703	3.255

[0275]

[0276] [표 26]

면역 검정에 의해 결정된 바와 같은, 사이노물거스 원숭이에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 혈청 농도(nM)

시점	FP1 (IV 용량)				
	동물 104 (nM)	동물 105 (nM)	동물 106 (nM)	평균 결과 (nM)	표준 편차
투여 전	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ	N/A
1 hr	212.661	235.168	189.000	212.276	23.087
6 hr	190.315	185.331	183.575	186.407	3.497
24 hr	141.743	155.943	146.487	148.058	7.229
48 hr	111.765	126.105	120.744	119.538	7.246
72 hr	105.076	106.955	106.441	106.157	0.971
120 hr	92.591	103.882	103.757	100.077	6.483
168 hr	71.368	93.055	87.706	84.043	11.298
240 hr	71.554	65.093	65.685	67.444	3.572
336 hr	46.184	38.961	41.696	42.280	3.647
432 hr	34.589	31.266	19.492	28.449	7.933
528 hr	26.885	24.154	22.422	24.487	2.250

[0277]

약동학적 분석은 사이노물거스 원숭이에서 FP1에 대하여, SC 및 IV 투여 후 각각 8.5 내지 9.2일의 최종 반감기를 보여주었으며, 이때 평균 생체이용률은 SC 투여 후 약 88%였다(표 27).

[0278] [표 27]

사이노몰거스 원숭이에서의 1 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP1 의 평균(± SD) 약동학적 파라미터

경로		t _{1/2} (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	V _{ss} (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-1ast} (일*ng/ml)	AUC _{0-inf} (일*ng/ml)
SC	평균	8.5	3.9		17776	3	211030	256202
	(SD)	(1.5)	(0.3)		(950)		(11332)	(20192)
IV	평균	9.2	3.4	45.6	34001	0.04	239758	292206
	(SD)	(0.5)	(0.1)	(1.6)	(3698)		(6095)	(11516)

주: *T_{max} (중위)

면역친화성 포획

(immuno-affinity capture)-LCMS 분석을 사용하여, IV 및 SC 투여 후 사이노몰거스 원숭이의 혈청에 존재하는 온전한 이량체의 농도를 정량화하였다(표 28 및 표 29 및 도 13 및 도 14). 이러한 방법에 의해 결정된 농도는 면역검정(IA)에 의해 결정된 농도와 유사하였는데, 이는, FP1이 사이노몰거스 원숭이에서 검출가능한 대사 결합 없이 온전한 이량체로서 순환함을 입증한다.

[표 28]

면역친화성 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노몰거스 원숭이에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 온전한 이량체로서의 FP1 의 혈청 농도(ng/mL)

일수	이량체의 온전한 MS 데이터 (플링된 샘플)	IA 데이터 (평균)
0.00	0	0
0.04	33347	34537
0.25	29686	30328
1.00	28787	24089
2.00	17249	19449
3.00	16827	17272
5.00	16159	16282
7.00	11124	13674
10.00	8746	10973
14.00	5328	6879
18.00	3857	4629
22.00	2252	3984

[표 29]

면역친화성 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노물거스 원숭이에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 온전한 이량체로서의 FP1의 혈청 농도(ng/mL).

일수	이량체의 온전한 MS 데이터 (풀링된 샘플)	IA 데이터 (평균)
0.00	0	0
0.25	9625	8959
1.00	15799	14219
2.00	17671	17373
3.00	19130	17476
5.00	12284	15633
7.00	10808	12971
10.00	8910	10143
14.00	5814	7034
18.00	4074	5054
22.00	2967	3694

[0282]

IV 및 SC 투여 후의 사이노물거스 원숭이 혈청 중의 분석물의 농도를 또한 면역친화성 포획-트립신 분해-LC-MS/MS 분석에 의해 측정하였다(표 30 및 표 31). 선택된 트립신 분해 펩티드, 즉 ALV(ALVLI AFAQYLQQSPFEDHVK), ASL(ASLEDLGWADWVLSPR), 및 TDT(TDTGVSLQTYDDLAK)는 FP1 내의 각각 HSA 영역의 N-말단, GDF15의 N-말단, 및 GDF15의 C-말단 부근에 위치된다. 이들 펩티드를 FP1의 대리 펩티드로서 모니터링하였다. 모든 대리 펩티드의 농도는 서로 그리고 면역검정에 의해 측정된 농도와 유사하였는데, 이는 FP1 내의 GDF15 서열이 생체내에서 온전하게 그리고 완전 HSA 서열에 연결된 상태로 유지됨을 입증한다.

[0283]

[표 30]

면역친화성 포획-트립신 분해-LC-MS/MS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노물거스 원숭이에서의 단회 IV 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 다양한 영역을 나타내는 대리 펩티드의 혈청 농도(ng/mL)

시점		FP1 평균 (ng/mL)			표준 편차			IA 데이터 (ng/mL)
일수	시간	ALV	TDT	ASL	ALV	TDT	ASL	
0.00	0	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	N/A	N/A	N/A	0.0
0.04	1	32400.0	39766.7	33333.3	2623.0	3162.8	2722.7	34536.9
0.25	6	29100.0	27166.7	30600.0	3439.5	1006.6	2095.2	30328.1
1.00	24	24366.7	23300.0	23800.0	4215.8	3996.2	4100.0	24088.7
2.00	48	19433.3	17733.3	18700.0	1457.2	1193.0	854.4	19448.6
3.00	72	18100.0	17200.0	17166.7	360.6	871.8	1001.7	17271.6
5.00	120	15966.7	14033.3	14233.3	1001.7	642.9	1011.6	16282.3
7.00	168	13733.3	11800.0	12100.0	1115.0	600.0	300.0	13673.6
10.00	240	9303.3	8570.0	8570.0	2290.1	1682.2	1685.9	10973.0
14.00	336	5860.0	5890.0	6056.7	415.8	312.2	388.0	6878.9
18.00	432	4143.3	4400.0	4226.7	374.3	52.9	571.2	4628.6
22.00	528	2830.0	3256.7	2753.3	355.4	420.0	319.0	3984.0

[0284]

[0285] [표 31]

면역친화성 포획-트립신 분해-LC-MS/MS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 사이노몰거스 원숭이에서의 단회 SC 투여 후의 시간 경과에 따른 FP1의 다양한 영역을 나타내는 대리 펩티드의 혈청 농도(ng/mL)

시점		FP1 평균 (ng/mL)			표준 편차			IA 데이터 (ng/mL)
일수	시간	ALV	TDT	ASL	ALV	TDT	ASL	
0.00	0	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	N/A	N/A	N/A	0.0
0.25	6	9323.3	7430.0	8123.3	1900.3	2471.6	1954.1	8059.1
1.00	24	15233.3	13390.0	14533.3	2926.3	3222.0	2683.9	14219.2
2.00	48	15366.7	14000.0	14166.7	2579.4	1646.2	2311.6	17373.0
3.00	72	17300.0	16033.3	15333.3	1571.6	1001.7	986.6	17476.0
5.00	120	15333.3	13366.7	13666.7	1222.0	1692.1	1501.1	15632.9
7.00	168	13333.3	11633.3	11700.0	709.5	472.6	781.0	12970.9
10.00	240	8496.7	7376.7	8343.3	1475.5	189.0	1039.1	10143.2
14.00	336	6046.7	6116.7	6253.3	90.2	118.5	110.6	7034.5
18.00	432	4503.3	5250.0	4636.7	802.6	1157.5	621.7	5054.2
22.00	528	3056.7	3490.0	3116.7	424.5	687.7	220.5	3693.7

[0286]

[0287] 인간 혈장 안정성 검증

[0288] 본 연구의 목적은 인간 혈장에서의 FP1의 생체외 안정성을 분석하는 것이었다. 신선한 비동결 인간 혈장을 원심분리에 의해 2명의 대상체(한 명은 남성이고 한 명은 여성임)로부터의 헤파린 첨가 혈액으로부터 생성하였다. FP1을 0, 4, 24 및 48시간 동안 온화하게 혼합하면서 37°C에서 이 기질 중에서 인큐베이션하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP1의 농도를 결정하였다. 출발 농도(0시간)로부터의 평균 % 차이는 -4.1 내지 -12.9의 범위였고 시간 경과에 따라 증가되지 않았는데, 이는 FP1이 생체외에서 최대 48시간 동안 인간 혈장 중에서 안정함을 입증한다(표 32 및 도 15).

[0289] [표 32]

면역검정에 의해 결정된 바와 같은, 2 명의 인간 대상체(Sub)로부터 획득된 혈장 중에서의 0, 4, 24, 및 48 시간(hr)의 생체외 인큐베이션 후의 FP1 농도(μg/mL)

생체의 샘플	Sub 1 남성 농도 (ug/mL)	T0로부터의 % 차이	Sub 2 여성 농도 (ug/mL)	T0로부터의 % 차이	평균 농도 (ug/mL)	T0로부터의 % 차이
혈장 - T0hr_ FP1	11.503	N/A	12.649	N/A	12.076	N/A
혈장 - T4hr_ FP1	10.524	-8.5	10.521	-16.8	10.523	-12.9
혈장 - T24hr_ FP1	9.934	-13.6	12.402	-2.0	11.168	-7.5
혈장 - T48hr_ FP1	10.582	-8.0	12.575	-0.6	11.578	-4.1

[0290]

[0291] 면역친화성 포획-LCMS를 사용하여, 인간 혈장 중에서의 인큐베이션 후에 존재하는 온전한 이량체의 농도를 정량화하였다. 이 방법에 의해 결정된 농도는 시간 경과에 따라(0, 4, 24, 및 48시간) 안정하였는데, 이는 FP1이 생체외에서 인간 혈장 중에서 최대 48시간까지 온전한 이량체를 유지함을 입증한다(표 33 및 도 16).

[0292] [표 33]

면역친화성 포획-LCMS 분석에 의해 결정된 바와 같은, 2 명의 인간 대상으로부터 획득된 혈장 중에서의 0, 4, 24, 및 48 시간(hr)의 생체의 인큐베이션 후의 온전한 이량체로서의 평균 FP1 농도($\mu\text{g/mL}$) 및 출발 농도로부터의 % 차이

	이량체 농도 ($\mu\text{g/mL}$)	% 차이
0 hr	15.8	100.0
4 hr	15.8	100.1
24 hr	15.9	100.9
48 hr	15.2	96.0

[0293]

[0294]

실시에 15 내지 실시예 19는, (서열 번호 95(코돈 최적화 1) 및 서열 번호 110(코돈 최적화 2)의 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된) 서열 번호 92의 아미노산 서열을 갖는, 실시예 5에 기재된 본 발명의 예시적인 융합 단백질의 특성화를 포함한다. 이러한 융합 단백질은 글리신 및 세린 잔기로 이루어진 42-아미노산 링커, GS-(GGGS)₈을 통한 HSA(C34S)와 성숙 인간 GDF15의 결실 변이체(201 내지 308; 서열 번호 8)의 융합체의 동중이량체로서 존재하는 완전 재조합 단백질이다. HSA의 위치 34에 있는 단일 천연 유리 시스테인이 세린으로 돌연변이되었다. 이러한 특정 HSA-GDF15 융합 단백질은 간소함을 위하여 하기 실시예들에서는 "FP2"로 지칭될 것이다.

[0295]

서열 번호: 92:

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES
AENCCKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLV
RPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTTECCQAADK
AACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVS
KLVTDLT KVVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLEKSHCIAE
VENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF LGMFLYEYARRHPDYSV VLLLLRL
AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFELGEYKFQNALL
VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK
TPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ
TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL
GLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRL
HTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA
PCCVPASYNPMVLIQKTD TGVS LQTYDDLLAKDCHCI

[0296]

[0297]

[0298]

실시예 13: FP2의 시험관내(*in vitro*) 효능제 효능

[0299]

FP2의 시험관내 효능제 효력은 인간 GDF15 수용체(GFRAL)를 안정하게 과발현하는 SK-N-AS 세포와 함께 세포-기반 pAKT 검정을 사용하여 평가하였다. GFRAL 활성화는 인간 GFRAL을 과발현시키도록 안정하게 형질감염된 SK-N-AS 인간 신경아세포종 세포(ATCC)에서 포스포-AKT(Ser473) 수준을 측정함으로써 결정하였다. 다양한 농도의 시험 대상물로 GFRAL 발현 세포를 처리한 후 AKT의 인산화는 제조사의 설명서에 따라 포스포-AKT(Ser473) 검정 키트(미국 매사추세츠주 베포드 소재의 Cisbio)를 사용하여 측정하였다. 생성된 데이터를 사용하여, Prism 통계 소프트웨어(미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 GraphPad Software)를 사용하여 EC₅₀ 값을 계산하였다. FP2는 2.908 ± 0.239 nM의 반수 최대 유효 농도(EC₅₀)로 pAKT를 활성화하였다(N=3). 천연 GDF15가 검정 대조군으로

서의 역할을 하였으며, 0.153 ± 0.008 nM의 EC_{50} 으로 효능제 활성을 보여주었다(N=3).

[0300] 실시예 14: C57B1/6 마우스의 먹이 섭취량에 대한 FP2의 효과

[0301] FP2를 단회 투여 후에 수컷 C57B1/6 마우스에서 먹이 섭취량을 감소시키는 그의 능력에 대하여 평가하였다. Taconic Biosciences(미국 뉴욕주 허드슨 소재)로부터 입수된 수컷 C57B1/6N 마우스(10 내지 12주령)를 본 연구에 사용하였다. 마우스를 12시간 명/암 주기(6 am/6 pm)를 갖는 온도-제어된 방 내에 단독으로 수용하고, 물 및 사료에 자유식으로 접근할 수 있게 하였다. 수컷 C57B1/6 마우스를 BioDAQ 케이지 내에서 최소 72시간 동안 순응시키고; 이어서, 마우스를 마지막 24시간에서의 먹이 섭취에 기초하여 각각 8 마리씩 6개의 군으로 나누었다. 4:00 pm과 5:00 pm 사이에, 동물들의 체중을 측정하고, 비히클 또는 화합물을 피하 주사를 통해 투여하였다. 각각의 케이지에 대한 먹이 중량의 변화를 화합물 투여 후 48시간의 기간 동안 BioDAQ 시스템에 의해 연속해서 기록하였다. 6xHis-FP1을 본 연구에서 비교물로서 사용하였다.

[0302] FP2는 시험된 모든 용량 수준에서 투여 후 12, 24 및 48시간째에 먹이 섭취량을 감소시키는 데 유의한 효과를 가졌다(표 34). 마우스에서 모든 시점 및 모든 용량 수준에서 PBS와 대비하여 먹이 섭취량의 % 변화에 있어서 감소가 있었다(표 35).

[0303] [표 34]

C57B1/6 마우스에서 48 시간에 걸친 먹이 섭취량에 대한 FP2의 단회 용량의 효과

누적 먹이 섭취량 (g)			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	3.7 ± 0.2	4.4 ± 0.2	8.8 ± 0.4
FP2, 1 nmol/kg	$2.8 \pm 0.4^*$	$3.0 \pm 0.4^{**}$	$6.9 \pm 0.7^*$
FP2, 4 nmol/kg	$2.4 \pm 0.2^{***}$	$3.1 \pm 0.2^{**}$	$7.0 \pm 0.3^*$
FP2, 8 nmol/kg	$1.9 \pm 0.2^{****}$	$2.4 \pm 0.1^{****}$	$6.2 \pm 0.2^{***}$
FP2, 16 nmol/kg	$1.8 \pm 0.1^{****}$	$2.7 \pm 0.1^{***}$	$6.3 \pm 0.4^{**}$
6xHis-FP1, 8 nmol/kg	$2.3 \pm 0.3^{***}$	$2.8 \pm 0.4^{**}$	$6.6 \pm 0.7^{**}$

데이터는 평균 $\pm$ SEM으로서 표현된다.

* $p \leq 0.05$, vs. PBS

** $p \leq 0.01$, vs. PBS

*** $p \leq 0.001$, vs. PBS

**** $p \leq 0.0001$, vs. PBS(각각에 대해)

사용된 통계학적 분석: 분산분석 및 던넛 다중 비교 검정.

n=8/군, 단 6xHis-FP1 8 nmol/kg(n=6)은 제외함.

[0304]

[0305] [표 35]

C57Bl/6 마우스에서 48 시간에 걸친(비히클 대비) 먹이 섭취량의 감소(%)에 대한 FP2의 단회 용량의 효과

PBS 대비 억제제의 백분율			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	0.0±7.9	0.0±7.7	0.0±5.9
FP2, 1 nmol/kg	22.4±12.5*	31.8±10.5**	21.8±8.1*
FP2, 4 nmol/kg	36.6±7.2***	30.4±5.8**	20.2±4.7*
FP2, 8 nmol/kg	47.0±6.2****	45.7±3.8****	29.7±3.9***
FP2, 16 nmol/kg	49.2±4.1****	38.1±4.1***	27.8±5.1**
6xHis-FP1, 8 nmol/kg	36.9±9.9***	36.5±8.8**	24.6±8.2**

FP2의 식욕감퇴 효과는 각각의 PBS 대조군과 비교하여 먹이 섭취량에 있어서의 상대적인 감소로 표현된다.

데이터는 평균 ± SEM으로서 표현된다.

*p≤0.05, vs. PBS

**p≤0.01, vs. PBS

***p≤0.001, vs. PBS

****p≤0.0001, vs. PBS(각각에 대해)

사용된 통계학적 분석: 분산분석 및 던넛 다중 비교 검정.

n=8/군, 단 6xHis-FP1 8 nmol/kg(n=6)은 제외함.

[0306]

[0307] 실시예 15: 스프라그 돌리 래트에서의 먹이 섭취량에 대한 FP2의 효과

[0308]

FP2를 단회 투여 후에 수컷 스프라그-돌리 래트에서 먹이 섭취량 및 체중 획득을 감소시키는 그의 능력에 대하여 평가하였다. 동물들을 200 내지 225 g의 체중으로 Charles River Labs(미국 매사추세츠주 월밍턴 소재)로부터 입수하고, 전달한지 1주 이내에 사용하였다. 이들을 케이지당 1 마리씩, 12시간 명/암 주기를 갖는 온도-제어된 방 내에서 풍부화(enrichment)를 위한 플라스틱 튜브 및 Alpha dry 잠자리에 수용하였다. 이들은 물에 자유식으로 접근되게 하고, 실험실용 설치류 식이가 급식되었다: Irradiated Certified PicoLab® 설치류 식이(Rodent Diet) 20, 5K75*(미국 펜실베이니아주 케이커타운 소재의 ASAP를 통해 미국 미주리주 세인트 루이스 소재의 Purina Mills로부터 공급됨). 투여 전에 각각의 래트에 대해 동물 체중을 측정하고 기록하였다.

[0309]

동물들을 BioDAQ 케이지 내에서 최소 72시간 동안 순응시키고; 이어서, 래트를 마지막 24시간에서의 먹이 섭취량에 기초하여 각각 8 마리씩 6개의 군으로 나누었다. 4:00 pm과 5:00 pm 사이에, 동물들의 체중을 측정하고, 비히클 또는 화합물을 피하 주사를 통해 투여하였다. 각각의 케이지에 대한 먹이 중량의 변화를 화합물 투여 후 48시간의 기간 동안 BioDAQ 시스템에 의해 연속해서 기록하였다. 6XHis-FP1을 본 연구에서 비교물로서 사용하였다.

[0310]

FP2의 단회 투여 후에 먹이 섭취량의 용량-의존성 감소를 시험하였다. 0.3 nmol/kg의 용량에서 먹이 섭취량에 있어서 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 1 nmol/kg에서는, 먹이 섭취량의 감소에 있어서의 유의한 효과가 12시간째에는 관찰되었지만, 24 또는 48시간째에는 관찰되지 않았다. 3 및 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는, 먹이 섭취량에 있어서의 유의한 감소가 모든 시점에서 관찰되었다(표 36, 도 19). 모든 시점 및 모든 용량 수준에서 PBS와 대비하여 먹이 섭취량의 % 변화에 있어서 감소가 있었다(표 37).

[0311] [표 36]

스프라그 돌리 래트에서 48 시간에 걸친 먹이 섭취량에 대한 FP2의 단회 용량의 효과

누적 먹이 섭취량 (g)			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	21.7±0.6	25.0±0.8	53.1±1.6
FP2, 0.3 nmol/Kg	19.5±0.9	22.9±0.7	48.4±1.5
FP2, 1 nmol/Kg	17.5±0.9*	19.8±0.8	47.0±2.6
FP2, 3 nmol/Kg	16.1±1.2**	17.0±1.0**	39.2±3.2**
FP2, 10 nmol/Kg	15.8±0.9***	16.5±0.9**	36.5±3.2**
6XHis-FP1 8 nmol/Kg	15.0±1.4***	15.7±1.2**	37.2±4.5**

데이터는 평균 ± SEM으로서 표현된다.

*p≤0.05, vs. PBS

**p≤0.01, vs. PBS

***p≤0.001, vs. PBS(각각에 대해)

사용된 통계학적 분석: 분산분석 및 던넛 다중 비교 검정.

n=8/군

[0312]

[0313] [표 37]

스프라그 돌리 래트에서 48 시간에 걸친(비허를 대비) 먹이 섭취량의 감소(%)에 대한 FP2의 단회 용량의 효과

PBS 대비 억제율 백분율			
처리	12 시간	24 시간	48 시간
PBS	0.0±4.0	0.0±4.6	0.0±4.3
FP2 0.3 nmol/kg	10.0±4.7	8.5±4.1	8.8±3.9
FP2 1 nmol/kg	19.3±4.7*	20.8±4.1	11.5±5.5
FP2 3 nmol/kg	25.9±6.1**	32.0±4.7**	26.2±6.5**
FP2 10 nmol/kg	27.4±4.8***	33.8±4.1**	31.2±6.4**
6XHis-FP1 8 nmol/kg	30.8±6.6***	37.0±5.4**	29.9±8.8**

FP2의 식욕감퇴 효과는 각각의 PBS 대조군과 비교하여 먹이 섭취량에 있어서의 상대적인 감소로 표현된다.

데이터는 평균 ± SEM으로서 표현된다.

*p≤0.05, vs. PBS

**p≤0.01, vs. PBS

***p≤0.001, vs. PBS, vs. PBS(각각에 대해)

사용된 통계학적 분석: 분산분석 및 던넛 다중 비교 검정.

n=8/군

[0314]

[0315] 실시예 16: 식이-유도 비만(DIO) C57B1/6 마우스에서의 먹이 섭취량, 체중 및 글루코스 항상성에 대한 FP2의 효과

[0316]

FP2를 8일의 기간에 걸쳐 수컷 DIO C57B1/6 마우스에서 반복 투여 시에 먹이 섭취량 및 체중을 감소시키고 글루코스 항상성을 개선하는 그의 능력에 대해 평가하였다. Taconic Biosciences(미국 뉴욕주 허드슨 소재)로부터 입수된 수컷 DIO C57B1/6 마우스(21주령, 15주 동안 고지방 급식)를 본 연구에 사용하였다. 마우스를 12시간 명/암 주기(6 am/6 pm)를 갖는 온도-제어된 방 내에 단독으로 수용하고, 물에 자유식으로 접근할 수 있게 하고 Research Diet D12492(미국 뉴저지주 뉴브런즈윅 소재의 Research Diets)를 급식하였다. 마우스를 실험 전에 마우스 수용실 내에서 1주 넘게 순응시켰다. 본 연구의 종점은 먹이 섭취량, 체중, 신체 조성 및 혈당 종점(OGTT, 혈당)의 측정이었다. 투여 하루 전날, 동물들의 체중을 측정하고 체중(BW)에 의해 군을 나누었다. 마우스에 피하 주사를 투여하였다. FP2가 투여되는 동물은 이 화합물을 일수 0, 일수 3, 및 일수 6, 일수 9 및 일수 12에서 제공받았다. 비허클군 및 로시글리타존군도 마찬가지로 이들 날짜에 멸균 PBS s.c.를 제공받았다.

로시글리타존은 자유식으로 0.015% w/w로 식이 내에 제공하였다. BW 및 먹이 섭취량을 15일의 기간에 걸쳐 매일 기록하였다. 혈당을 일수 0, 7 및 13에서 측정하였다. 경구 글루코스 내성 시험(OGTT)을 일수 14에서 수행하였다. OGTT 동안 선택된 시점에서 인슐린 수준을 측정하였다. 일수 15에서 마우스를 CO₂로 안락사시키고, 심장 천자를 통해 노출을 위하여 말단 혈액 샘플을 수집하였다. 용량군당 3 마리의 마우스씩 총 15 마리의 마우스를 사용하여 별개의 PK 시험군을 실시하였다.

[0317] **DIO 마우스에서 FP2에 대한 노출-반응(E-R) 분석**

[0318] 약력학적 특성(PD) (효능) 시험군 내의 대부분의 동물들은 연구 마지막 날에, 약동학적 특성(PK) 샘플을 획득하였을 때, 검출 불가능한 약물 농도를 가졌는데, 이는 잠재적으로 면역원성에 기인한다. 따라서, PD 시험군으로부터의 개별 PK 대신에, PK 시험군으로부터의 평균 PK 프로파일을 사용하여, 상응하는 용량 수준에서 PD 시험군에서 기저선으로부터의 % 중량 변화에 대하여 (각각 일수 3, 6 및 9로부터) 노출-반응을 수행하였다. 이 방법은 약물 노출의 관점에서 PK 시험군이 PD 시험군과 유사하게 거동한다고 가정한다.

[0319] E_{max} 모델(GraphPad Prism 6, 로그(효능제) vs. 반응)을 사용하여 노출을 반응 데이터(로그 변환된 약물 농도)와 상관시켰다. 힐 기울기(Hill Slope)를 1로 설정하였다. 모델 적합화된 EC₁₀ 내지 EC₅₀ 값이 일수 3, 6 및 9 중에서, E_{max} 추산치가 상이하였음에도 불구하고(각각 E_{max} = -4.26%, -8.18% 및 -9.85%), 2배 이내에 있었음에 유의한다. 일수 9에서 일부 동물들은 또한, 잠재적인 ADA 형성으로 인해 약물 노출의 손실을 나타내었으며, 이에 따라, 일수 9 데이터에 기초한 E-R 파라미터 추산치는 주의해서 해석해야 한다.

[0320] 먹이 섭취량, 체중, 글루코스 항상성, 및 간 지방 함량에 대한 FP2의 2주간의 노출 효과를 식이 유도 비만 수컷 C57B1/6 마우스에서 평가하였다. 0.3 nmol/kg 처리군에 대해서는 1.7 내지 3.3 nM FP2, 1.0 nmol/kg 처리군에 대해서는 7.1 내지 14 nM, 3.0 nmol/kg 처리군에 대해서는 20.8 내지 41.6 nM, 그리고 10 nmol/kg 처리군에 대해서는 28.5 내지 112.9 nM FP2의 최저(trough) 노출을 본 연구의 PK 시험군에서 일수 9까지 유지하였다(n = 2 또는 3, 표 49). 일수 9 후에는, 계속된 q3d 투여에도 불구하고 대부분의 동물에서 순환 수준의 감소가 관찰되었다(표 49). 이러한 가속된 클리어런스와 일치되게, 본 연구의 PD 시험군 내의 대부분의 동물은 일수 15에서 FP2의 검출 불가능한 순환 수준을 가졌다(표 50).

[0321] FP2 q3d에 의한 DIO 마우스의 처리는 비히클 처리와 대비하여 먹이 섭취량(표 38), 체중(표 39, 표 40 및 도 20) 및 식후 혈당(표 43 및 도 23)을 감소시켰다. 먹이 섭취량의 유의한 감소가, 0.3 nmol/kg의 경우에는 일수 2, 일수 5, 및 일수 8에서, 1.0 nmol/kg의 경우에는 일수 1 내지 일수 7에서, 3.0 nmol/kg의 경우에는 일수 1, 일수 2, 일수 4 내지 일수 6, 및 일수 8에서, 그리고 10.0 nmol/kg의 경우에는 일수 1, 일수 3 내지 일수 6, 일수 8 및 일수 9에서 관찰되었다. % 체중 변화는, 0.3 nmol/kg의 경우에는 일수 5 내지 일수 13, 1.0 nmol/kg 및 10.0 nmol/kg의 경우에는 일수 3 내지 일수 13, 그리고 3.0 nmol/kg의 경우에는 일수 4 내지 일수 13에서 유의하였다. 체중의 그래프 변화는, 0.3 nmol/kg의 경우에는 일수 8, 1.0 nmol/kg의 경우에는 일수 6, 3.0 nmol/kg의 경우에는 일수 7, 그리고 10.0 nmol/kg의 경우에는 일수 5에서 유의하였다. 식후 혈당 수준의 감소는 3.0 nmol/kg의 용량 수준의 동물의 경우에는 일수 7에서 유의하였으며, 3.0 및 10.0 nmol/kg의 용량 수준의 동물의 경우에는 일수 13에서 유의하였다.

[0322] FP2 q3d로 처리된 DIO 마우스는 경구 글루코스 시험투여 동안 비히클 처리와 대비하여 일수 14에서 개선된 글루코스 내성을 가졌다(표 41; 도 21a 및 도 21b). 글루코스는, 0.3 nmol/kg 군의 경우에는 30분에서, 1.0 nmol/kg 군의 경우에는 60분 및 120분에서, 3.0 nmol/kg 군의 경우에는 120분에서, 그리고 10.0 nmol/kg 군의 경우에는 30, 90, 및 120분에서 유의하게 더 낮았다. 총 곡선 아래 면적은 모든 용량군에 대하여 유의하였다. 글루코스 시험투여 동안의 인슐린 수준은 0.3 및 10.0 nmol/kg 군의 경우 30분에서 유의하게 더 낮았다(표 42; 도 22a 및 도 22b). 게다가, 비히클 처리된 동물과 대비하여, 10.0 nmol/kg의 FP2 q3d에 의한 14일의 처리 후에 DIO 마우스에서 계산된 공복 HOMA-IR에 있어서 유의한 감소가 있었는데, 이는 개선된 인슐린 감수성을 나타낸다(표 44 및 도 24).

[0323] 연구 시작 전 일수 -1에서 그리고 일수 13에서 MRI에 의해 신체 조성을 측정하였다(표 47 및 표 48). 1.0 nmol/kg 및 10.0 nmol/kg의 FP2로 처리된 DIO 마우스는 일수 13에서 체지방량의 유의한 감소를 가졌으며, 한편 어떠한 처리군에 대해서도 제지방량의 변화는 없었다. 일수 13에서, 10.0 nmol/kg 처리군은 비히클 처리군과 대비하여 % 제지방량의 유의한 증가 및 % 체지방량의 유의한 감소를 가졌다. 일수 -1에서 일수 13까지의 변화는, 0.3 nmol/kg, 1.0 nmol/kg, 및 10.0 nmol/kg 처리군에서 제지방량에 대해 유의하였으며, 1.0, 3.0, 및 10.0 nmol/kg 처리군에서 % 제지방량에 대해 유의하였다. 일수 -1에서 일수 13까지의 변화는 비히클과 대비하

여 모든 처리군에서 체지방량 및 % 체지방량에 대해 유의하였다.

[0324] 15일 동안 비히클 처리된 동물과 FP2 q3d로 처리된 마우스 사이에 내인성 마우스 GDF15 혈청 수준의 유의한 차이는 없었다(표 46).

[0325] 결론: 이들 결과는 더 높은 약물 노출이 일수 3, 6 및 9에서 연구 용량군에 걸쳐 집단 수준에서 기저선으로부터의 더 높은 % 중량 변화와 대체로 관련되어 있음을 시사한다.

[0326] DIO 마우스에서 2주에 걸친 FP2에 대한 노출은 감소된 먹이 섭취량, 감소된 체중, 감소된 혈당, 개선된 글루코스 내성 및 인슐린 감수성으로 이어졌다. 다수 날에 걸친 먹이 섭취량의 유의한 감소는 1.0, 3.0, 및 10.0 nmol/kg q3d에서 달성되었다. 체중은, 본 연구의 개시 후 3일에서 시작하여 5일까지 유의하게 감소되었다. 일수 13에서의 식후 혈당은 3.0 및 10.0 nmol/kg의 FP2의 q3d 투여 후에 유의하게 감소되었다. 유의하게 감소된 공복 HOMA-IR로 나타난 인슐린 감수성은 10.0 nmol/kg FP2가 q3d로 투여된 후 14일째에 달성되었다. 일수 13에서, 10.0 nmol/kg FP2로 q3d로 처리된 DIO 마우스에서, % 체지방량의 유의한 증가 및 % 체지방량의 유의한 감소가 관찰되었다.

[0327] [표 38]

13 일의 처리에 걸친 일일 먹이 섭취량(g)에 대한 FP2의 효과

처리 일수	비히클 N/A	FP2 (nmol/kg)				로시글리타존 10 mpk/일
		0.3	1.0	3.0	10.0	
0	2.0±0.1	1.9±0.1	2.2±0.2	1.9±0.2	1.9±0.2	2.2±0.1
1	2.4±0.2	2.1±0.1	1.6±0.1*	1.5±0.1*	1.3±0.1*	2.7±0.1
2	2.6±0.1	1.8±0.1*	1.7±0.2*	1.9±0.1*	2.0±0.1	3.0±0.2
3	2.6±0.1	2.1±0.1	1.7±0.1*	1.9±0.1	1.8±0.1*	2.8±0.2
4	2.6±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1*	1.9±0.1*	1.9±0.1*	2.9±0.2
5	2.8±0.1	2.1±0.2*	2.2±0.1*	2.2±0.0*	1.9±0.1*	2.7±0.2
6	2.8±0.1	2.3±0.2	2.1±0.1*	2.2±0.1*	2.0±0.1*	2.8±0.2
7	2.6±0.2	2.3±0.1	2.0±0.1*	2.0±0.2	2.1±0.1	2.9±0.2
8	2.7±0.2	2.1±0.1*	2.2±0.1	2.0±0.1*	2.0±0.1*	3.1±0.2
9	2.8±0.1	2.3±0.1	2.3±0.2	2.3±0.2^	2.1±0.2*	3.2±0.1
10	2.6±0.1	2.6±0.1	2.4±0.2	2.3±0.2^	2.1±0.2	3.0±0.2
11	2.9±0.1	2.6±0.1	2.8±0.2	2.6±0.4	2.6±0.1	3.3±0.1
12	2.8±0.1	2.7±0.2	2.8±0.1	2.8±0.2	2.9±0.1	3.1±0.2
13	2.7±0.1	2.6±0.2	2.6±0.1	2.6±0.1	2.2±0.1	3.1±0.2

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM을 나타내며, 예외적으로, ^로 표기될 때는 n=7이다.

* - p<0.05, vs. 비히클

사용된 통계학적 분석: 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정

[0328]

[0329] [표 39]

13 일의 처리에 걸친 % 체중 변화에 대한 FP2 의 효과

처리 일수	비히클 N/A	FP2 (nmol/kg)				로시글리타존 10 mpk/일
		0.3	1.0	3.0	10.0	
-1	-0.1±0.4	0.5±0.2	-0.1±0.1	-0.4±0.2	0.0±0.6	0.1±0.2
0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
1	-0.4±0.5	-1.0±0.3	-2.2±0.4	-1.8±0.6	-2.4±0.5	1.3±0.4
2	-0.4±0.3	-2.2±0.4	-3.4±0.6	-3.0±0.6	-3.1±0.4	1.3±0.5
3	-0.3±0.4	-2.3±0.4	-4.2±0.6*	-3.5±0.6	-4.3±0.5*	1.9±0.5
4	-0.3±0.5	-2.9±0.5	-5.3±0.6*	-4.9±0.7*	-5.8±0.7*	1.8±0.7
5	-0.2±0.4	-4.2±0.7*	-6.2±0.6*	-5.6±0.7*	-6.8±0.7*	1.7±0.8
6	-0.4±0.6	-5.1±0.7*	-7.4±0.8*	-6.9±0.7*	-8.5±0.9*	1.1±0.9
7	0.2±0.8	-5.1±0.7*	-7.7±0.9*	-7.4±0.7*	-8.7±0.9*	2.0±1.0
8	0.2±1.0	-6.1±0.8*	-7.9±0.9*	-8.0±0.8*	-9.7±0.8*	2.4±1.1
9	0.5±1.1	-6.0±0.9*	-8.4±0.9*	-8.8±0.9*	-10.1±1.0*	3.1±1.0
10	1.1±1.2	-5.7±0.8*	-8.1±0.9*	-8.9±0.9*	-10.7±1.2*	3.5±1.2
11	1.2±1.3	-6.1±0.9*	-8.2±0.8*	-8.6±1.3*	-11.1±1.4*	3.7±1.2
12	1.4±1.3	-6.3±1.2*	-7.7±0.8*	-8.2±1.4*	-10.9±1.4*	4.1±1.3
13	1.7±0.9	-5.8±1.4*	-7.1±1.0*	-7.2±1.4*	-10.9±1.4*	4.7±1.3

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

*p<0.05, vs. 비히클

사용된 통계학적 분석: 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정

[0330]

[표 40]

13 일의 처리에 걸친 체중 변화(g)에 대한 FP2 의 효과

처리	비히클	FP2 (nmol/kg)				로시글리타존
일수	N/A	0.3	1.0	3.0	10.0	10 mpk/일
-1	44.6±0.6	44.5±0.6	44.5±0.6	44.5±0.6	44.5±0.6	44.5±0.6
0	44.6±0.6	44.3±0.6	44.6±0.6	44.7±0.6	44.6±0.7	44.4±0.6
1	44.5±0.7	43.8±0.6	43.6±0.6	43.9±0.7	43.5±0.7	45.0±0.7
2	44.5±0.7	43.3±0.7	43.1±0.6	43.3±0.7	43.2±0.7	45.0±0.7
3	44.5±0.7	43.2±0.7	42.7±0.6	43.1±0.7	42.6±0.6	45.3±0.7
4	44.5±0.7	43.0±0.7	42.2±0.6	42.5±0.7	42.0±0.7	45.2±0.7
5	44.5±0.7	42.4±0.7	41.8±0.5	42.2±0.7	41.5±0.6*	45.2±0.7
6	44.5±0.7	42.0±0.7	41.3±0.6*	41.6±0.7	40.7±0.5*	44.9±0.8
7	44.7±0.7	42.0±0.7	41.1±0.6*	41.4±0.7*	40.6±0.5*	45.3±0.8
8	44.7±0.7	41.6±0.7*	41.1±0.7*	41.1±0.7*	40.2±0.6*	45.5±0.8
9	44.8±0.7	41.6±0.8*	40.8±0.7*	40.8±0.8*	40.0±0.8*	45.8±0.7
10	45.1±0.7	41.8±0.8*	41.0±0.8*	40.8±0.8*	39.8±0.8*	46.0±0.8
11	45.2±0.8	41.6±0.8*	40.9±0.7*	40.8±0.9*	39.6±0.9*	46.1±0.8
12	45.3±0.7	41.5±0.9*	41.2±0.7*	41.0±0.9*	39.7±0.9*	46.3±0.9
13	45.4±0.7	41.7±0.9*	41.4±0.8*	41.5±0.9*	39.7±0.9*	46.5±0.9

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정

[0331]

[0332] [표 41]

14 일의 처리 후 OGTT 동안의 혈당(mg/dL) 수준에 대한 FP2 의 효과

처리	용량 (nmol/kg)	글루코스 시험투여 후 시간 (분)					총 AUC (mg/dL/120 분)	Δ AUC (mg/dL/120 분)
		0	30	60	90	120		
비히클	NA	161±10	225±17	228±14	208±18	213±19	25429±1228	6094±1430
FP2	0.3	144±4	163±14*	209±11	180±12	171±7	21270±399*	3985±521
	1.0	151±9	179±18	188±7	179±13	163±8*	21096±754*	2972±907
	3.0	149±8	180±18	179±11*	164±6	163±9*	20338±876*	2426±1058
	10.0	134±6	163±7*	190±13	152±7*	163±8*	19599±614*	3539±1198
로시글리타존	10 mpk/일	132±9	152±10*	162±13*	138±9*	159±9*	17904±632*	2139±1179

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 글루코스 값에 대해서는 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정;

AUC 에 대해서는 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0333]

[0334] [표 42]

14 일의 처리 후 OGTT 동안의 인슐린(ng/mL) 수준에 대한 FP2 의 효과

처리	용량 (nmol/kg)	글루코스 시험투여 후 시간 (분)			총 AUC (ng/mL/90 분)
		0	30	90	
비히클	NA	4.2±0.7	12.2±2.3	3.6±0.5	716.1±122.0
FP2	0.3	2.9±0.6	5.8±1.8*	2.4±0.4	377.1±97.3
	1.0	2.9±0.4	8.2±2.6	2.6±0.4	491.8±118.2
	3.0	3.0±0.3	8.4±1.5	2.5±0.3	498.6±77.0
	10.0	2.4±0.4	4.3±0.5*	2.1±0.4	295.5±32.0*
로시글리타존	10 mpk/일	0.9±0.1	1.8±0.2*	0.8±0.1	118.5±9.6*

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 인슐린 값에 대해서는 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정;

AUC 에 대해서는 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0335]

[0336] [표 43]

식후 혈당(mg/dL) 수준에 대한 FP2의 효과

처리	용량 (nmol/kg)	처리 시작 후의 시간 (일수)		
		0	7	13
비히클	NA	162±5	159±6	180±9
FP2	0.3	143±5	150±9	168±9
	1.0	153±12	135±7	159±7
	3.0	148±3	127±6*	151±8*
	10.0	146±6	136±4	148±3*
로시글리타존	10 mpk/일	137±7	117±4*	134±6*

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 이원 분산분석 RM, 터키 다중 비교 검정

[0337]

[0338] [표 44]

FP2에 의한 14 일의 q3d 처리 후의 DIO 마우스에서의 공복 HOMA-IR

처리	용량 (nmol/kg)	HOMA-IR
비히클	NA	48.7±9.2
FP2	0.1	30.1±6.6
	1.0	30.5±3.8
	3.0	31.3±3.2
	10.0	22.7±3.1*
로시글리타존	10 mpk/일	8.7±1.0*

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0339]

[0340] [표 45]

DIO 마우스에서 FP2 q3d 에 의한 15 일의 처리 후의 간 중량

처리	용량 (nmol/kg)	간 중량 (g)	간 중량 (신체의 %)
비히클	NA	1.9±0.1	4.3±0.3
FP2	0.1	1.7±0.1	4.0±0.1
	1.0	1.7±0.0	4.2±0.1
	3.0	1.8±0.1	4.2±0.1
	10.0	1.7±0.1	4.2±0.1
로시글리타존	10 mpk/일	1.9±0.1	4.1±0.2

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0341]

[0342] [표 46]

DIO 마우스에서 FP2 q3d 에 의한 15 일의 처리 후의 혈청 마우스 GDF15(pg/mL) 수준

처리	용량 (nmol/kg)	mGDF15
비히클	NA	258.3±21.4
FP2	0.1	214.1±10.3
	1.0	191.6±12.7
	3.0	254.5±28.6
	10.0	202.0±10.0
로시글리타존	10 mpk/일	509.6±26.2*

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

* - p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0343]

[0344] [표 47]

MRI 에 의해 측정된 신체 조성(g)에 대한 DIO 마우스에서의 FP2 q3d 의 효과

처리	용량 (nmol/kg)	체지방량 (g) 일수 -1	체지방량 (g) 일수 13	Δ 체지방량 (g)	체지방량 (g) 일수 -1	체지방량 (g) 일수 13	Δ 체지방량 (g)
비히클	NA	17.4±0.6	18.2±0.6	0.9±0.3	25.4±0.3	25.1±0.3	-0.4±0.2
FP2	0.3	17.0±0.6	15.2±0.8	-1.9±0.6*	25.8±0.7	24.5±0.5	-1.2±0.2*
	1.0	17.0±0.6	14.9±0.6*	-2.1±0.4*	25.8±0.5	24.6±0.4	-1.2±0.2*
	3.0	17.4±0.7	15.1±1.1	-2.3±0.5*	25.3±0.4	24.2±0.4	-1.1±0.1
	10.0	16.7±0.6	13.2±0.8*	-3.6±0.5*	26.1±0.6	24.5±0.6	-1.7±0.2*
로시글리타존	10 mpk/일	17.2±0.6	19.1±0.5	1.9±0.6	25.5±0.7	25.1±0.6	-0.4±0.2

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

*p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0345]

[0346] [표 48]

MRI 에 의해 측정된 신체 조성(%)에 대한 DIO 마우스에서의 FP2 q3d 의 효과

처리	용량 (nmol/kg)	체지방량 (%) 일수 -1	체지방량 (%) 일수 13	Δ 체지방량 (%)	체지방량 (%) 일수 -1	체지방량 (%) 일수 13	Δ 체지방량 (%)
비히클	NA	38.1±1.0	40.1±1.0	2.1±0.3	55.9±0.9	55.3±0.9	-0.6±0.3
FP2	0.3	37.6±1.2	36.3±1.3	-1.3±0.9*	56.8±1.3	59.0±1.4	2.2±0.8
	1.0	37.2±1.1	35.8±0.9	-1.4±0.5*	56.7±1.1	59.5±1.0	2.8±0.6*
	3.0	38.3±1.4	36.1±2.0	-2.3±0.7*	55.9±1.2	58.7±2.0	2.8±0.8*
	10.0	36.9±1.1	33.1±1.5*	-3.8±0.8*	57.5±1.0	61.7±1.4*	4.2±0.7*
로시글리타존	10 mpk/일	38.0±1.2	41.1±0.9	3.1±0.9	56.2±1.2	53.9±0.8	-2.3±0.8

값은 군당 시간당 8 마리의 동물로부터의 데이터에 대한 평균 ± SEM 을 나타낸다.

*p<0.05, vs. 비히클

통계학적 분석: 일원 분산분석, 터키 다중 비교 검정

[0347]

[표 49]

DIO 마우스에서의 q3d 처리 동안 PK 시험군의 FP2 혈청 노출(nM)

처리군	대상체 ID	초기 용량 후 시간(마지막 용량 후 시간)						
		일수 3	일수 6	일수 9	일수 12	일수 14 (48 hr)	일수 15 (72 hr)	일수 17 (120 hr)
0.1 nmol/kg	9	1.930	2.993	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	10	1.853	3.369	2.817	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	11	1.715	2.637	2.568	2.709	3.441	1.313	< LOQ
1.0 nmol/kg	9	8.198	9.660	9.645	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	10	7.073	10.595	8.966	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	11	6.689	13.967	10.802	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
3.0 nmol/kg	9	20.802	26.329	27.863	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	10	23.563	32.020	41.576	1.168	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	11	21.704	30.101	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
10.0 nmol/kg	9	28.495	33.050	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	10	70.779	112.898	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	11	70.404	111.767	55.117	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

데이터는 각각의 동물에 대해 농도로 표현된다.

< LOQ = 정량화 한계 미만; LOQ는 0.494 nM이다.

** 일수 3, 6, 9 및 12에서의 값은 그 다음 용량의 투여 직전의 값이다.

[표 50]

DIO 마우스에서의 15 일의 q3d 처리 후의 FP2의 말단 혈청 노출(nM)

동물 ID	처리군 (nmol/kg)			
	0.1	1.0	3.0	10.0
1	2.567	< LOQ	< LOQ	< LOQ
2	< LOQ	< LOQ	< LOQ	44.149
3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
4	1.144	0.678	< LOQ	< LOQ
5	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
6	3.440	< LOQ	< LOQ	< LOQ
7	2.727	< LOQ	< LOQ	< LOQ
8	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ

데이터는 각각의 동물에 대해 농도로 표현된다.

< LOQ = 정량화 한계 미만; LOQ는 0.494 nM이다.

실시예 17: FP2 다중종 약동학적 특성 및 면역 반응

마우스 약동학적 특성

암컷 C57B1/6 마우스에 피하 투여될 때, FP2의 약동학적 특성을 평가하였다. FP2를 PBS(pH 7.3 내지 7.5) 중 2.0 mg/kg의 용량 수준으로 암컷 C57B1/6 마우스(미국 미주리주 세인트 루이스 소재의 Sage Laboratories)에 피하(시점당 샘플수 n = 5) 및 정맥내(시점당 샘플수 n = 5) 투여하였다. 마지막 시점에서의 샘플의 수집을 말단 출혈을 통해 행하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈청을 처리하고, 최대 168시간까지 약물 농도를 측정하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP2의 수준을 측정하였다. 혈장 중에서의 약물 농도 프로파일이 표 51 및 표 52에 요약되어 있고 도 25에 예시되어 있다.

C57B1/6 마우스에서의 FP2의 약동학적 분석은 IV 및 SC 투여 후 각각 약 1.51 및 약 1.76일의 최종 반감기를 보

여주었으며, 이때 평균 생체이용률은 SC 투여 후 약 61%였다.

[표 51]

C57Bl/6 마우스에서의 단회 피하(SC) 투여 후의 FP2 의 혈청 농도(ng/mL)

시점	FP2 - SC 용량						표준 편차 (ng/mL)
	동물 31 결과 (ng/mL)	동물 32 결과 (ng/mL)	동물 33 결과 (ng/mL)	동물 35 결과 (ng/mL)	동물 36 결과 (ng/mL)	평균 결과 (ng/mL)	
4 hr	11310.11	6323.44	23489.21	4357.74	4835.54	10063.21	7995.0
24 hr	12378.58	10896.80	17769.03	15928.14	15404.08	14475.33	2785.0
72 hr	5127.95	5569.27	6727.37	7909.66	7550.32	6576.91	1210.5
96 hr	3059.83	3350.25	4042.04	4095.15	4431.94	3795.84	569.0
168 hr	784.61	1202.66	1364.68	1557.60	1678.02	1317.51	348.9

[표 52]

C57Bl/6 마우스에서의 단회 정맥내(IV) 투여 후의 FP2 의 혈청 농도(ng/mL)

시점	FP2 - IV 용량						표준 편차 (ng/mL)
	동물 37 결과 (ng/mL)	동물 40 결과 (ng/mL)	동물 41 결과 (ng/mL)	동물 45 결과 (ng/mL)	동물 48 결과 (ng/mL)	평균 결과 (ng/mL)	
1 hr	49573.59	42382.59	40001.18	43085.75	46443.59	44297.34	3742.9
24 hr	22173.85	19120.39	19393.78	19798.29	17459.96	19589.25	1696.7
72 hr	8334.33	7989.10	8573.44	9086.37	8186.68	8433.98	422.5
96 hr	4478.83	4699.80	4749.93	5331.39	4579.08	4767.81	332.3
168 hr	1044.24	1419.64	1393.44	1835.63	979.49	1334.49	343.6

[표 53]

C57Bl/6 마우스에서의 2 mg/kg IV 및 2 mg/kg SC 투여 후의 FP2 의 약동학적 파라미터

경로		t _{1/2} (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	V _z 또는 V _z /F (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-last} (일* ng/ml)	AUC _{0-inf} (일* ng/ml)
SC	평균	1.76	43	108	15619	1	44972	48379
	SD	0.16	8	20	4870		8563	9147
IV	평균	1.51	25	55	44297	0.042	76269	79253
	SD	0.18	1	6	3743		3788	4051

랫 약동학적 특성

FP2를 PBS(pH 7.3 내지 7.5) 중 2.0 mg/kg의 용량 수준으로 암컷 스프라그-돌리 래트(미국 미주리주 세인트 루이스 소재의 Sage Laboratories)에 피하(시점당 샘플수 n = 5) 및 정맥내(시점당 샘플수 n = 5) 투여하였다. 마지막 시점에서의 샘플의 수집을 말단 출혈을 통해 행하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈청을 처리하고, 최대

168시간까지 약물 농도를 측정하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP2의 수준을 측정하였다. 혈장 중에서의 약물 농도 프로파일이 표 54 및 표 55에 요약되어 있고 도 26에 예시되어 있다. 이들 데이터로부터 계산된 약동학적 파라미터가 표 56에 요약되어 있다.

[0362] 스프라그-돌리 래트에서의 FP2의 약동학적 분석은 IV 및 SC 투여 후 각각 약 1.46 및 약 1.37일의 최종 반감기를 보여주었으며, 이때 평균 생체이용률은 SC 투여 후 약 28%였다.

[0363] [표 54]

스프라그-돌리 래트에서의 단회 피하(SC) 투여 후의 FP2의 혈청 농도(ng/mL)

시점	FP2 - SC 용량						표준 편차 (ng/ml)
	동물 01 결과 (ng/ml)	동물 02 결과 (ng/ml)	동물 03 결과 (ng/ml)	동물 04 결과 (ng/ml)	동물 05 결과 (ng/ml)	평균 결과 (ng/ml)	
4 hr	730.95	257.94	469.95	496.34	400.65	471.16	172.2
24 hr	9236.27	6658.79	7728.92	7449.56	6502.60	7515.23	1092.1
72 hr	4559.04	4464.72	5619.82	4287.25	3844.15	4555.00	655.6
96 hr	2791.97	2452.35	3387.55	2316.06	2176.00	2624.79	483.8
168 hr	622.32	606.36	< 80.00	514.19	476.49	554.84	70.7

[0364]

[0365] [표 55]

스프라그-돌리 래트에서의 단회 정맥내(IV) 투여 후의 FP2의 혈청 농도(ng/mL)

시점	FP2 - IV 용량						표준 편차 (ng/ml)
	동물 06 결과 (ng/ml)	동물 07 결과 (ng/ml)	동물 08 결과 (ng/ml)	동물 09 결과 (ng/ml)	동물 10 결과 (ng/ml)	평균 결과 (ng/ml)	
1 hr	60785.80	47392.80	43046.54	46014.25	44547.65	48357.41	7134.5
24 hr	25470.36	24729.88	21157.29	20497.32	21459.71	22662.91	2267.1
72 hr	8208.46	9262.13	8866.76	8635.93	8843.83	8763.42	384.1
96 hr	4433.18	4833.22	4995.63	4630.60	4604.13	4699.35	218.1
168 hr	1083.14	1469.35	1614.61	1394.17	1053.89	1323.03	245.7

[0366]

[표 56]

스프라그-돌리 래트에서의 2 mg/kg IV 및 2 mg/kg SC 투여 후의 FP2의 약동학적 파라미터

경로		t _{1/2} (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	V _z 또는 V _z /F (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-1ast} (일*ng/ml)	AUC _{0-inf} (일*ng/ml)
SC	평균	1.37	84	165	7515	1	22614	24036
	SD	0.04	10	17	1092		2509	2893
IV	평균	1.46	23	49	48357	0.042	83271	86089
	SD	0.12	2	6	7135		6081	5820

[0367]

[0368] 원숭이 약동학적 특성

[0369] FP2를 3 마리의 수컷 사이노물거스 원숭이에, 각각 PBS(pH 7.0 내지 7.6) 중, 1 mg/kg으로 피하 그리고 1 mg/kg으로 정맥내 투여하였다. 혈액 샘플을 수집하고, 혈장을 처리하고, 최대 21일까지 약물 농도를 측정하였다.

[0370] 사이노물거스 원숭이에서 단회 용량 IV(1.0 mg/kg) 및 SC(1.0 mg/kg)의 투여 후 FP2의 약동학적 특성(PK)을 특성화하였다. SC 투여 후의 혈장 약물 농도-시간 프로파일이 면역검정 및 LCMS 분석에 대해 각각 표 57 및 표 58에 그리고 IV 투여 후의 혈장 약물 농도-시간 프로파일이 면역검정 및 LCMS 분석에 대해 각각 표 59 및 표 60에 요약되어 있다. 면역검정 데이터는 도 27에 그래프로 나타나 있으며, LCMS 데이터는 도 28에 나타나 있다.

[0371] 면역검정 분석으로부터의 결과를 사용하여, FP2에 대한 평균 NCA-기반 최종 반감기($t_{1/2}$)는 IV 및 SC 투여 후 각각 약 7.05 및 약 8.51일이었다. IV 및 SC 투여 후의 평균 PK 파라미터가 표 61에 요약되어 있다. 면역검정 생물분석으로부터의 결과를 사용하여, FP2에 대한 평균 비구획 모델 추산 최종 반감기($t_{1/2}$)는 IV 및 SC 투여 후 각각 7.05 및 8.51일이었다. FP2의 평균 생체이용률(F%)은 SC 투여 후 사이노물거스 원숭이에서 AUC_{0-last} 에 기초하여 약 98.5%인 것으로 추산되었고, AUC_{0-inf} 에 기초하여 약 109.2%인 것으로 추산되었다.

[0372] [표 57]

사이노물거스 원숭이에서 단회 SC 투여 후의 면역검정에 의해 측정된 FP2의 혈장 농도(ng/mL).

시간 (hr)	면역검정			SC 평균	표준 편차
	동물 704	동물 705	동물 706		
0	< 80.0	< 80.0	< 80.0	< 80.0	N/A
6	7365.3	6128.5	6056.9	6516.9	735.6
24	19716.8	10903.8	10554.7	13725.1	5191.9
48	18191.7	14353.7	14464.7	15670.0	2184.5
72	17813.9	14207.5	12684.0	14901.8	2634.5
120	13823.9	11445.8	10590.8	11953.5	1675.3
168	12359.6	10103.8	9467.8	10643.8	1519.7
240	9457.9	7642.6	8109.1	8403.2	942.7
336	6796.8	5679.8	5235.7	5904.1	804.3
432	5581.3	3830.6	3746.5	4386.1	1035.9
528	4126.2	2613.4	2879.3	3206.3	807.7

N/A = 적용 불가

[0373]

[0374] [표 58]

사이노물거스 원숭이에서 단회 SC 투여 후의 LCMS 에 의해 측정된 FP2 의 혈장 농도(ng/mL).

시간 (hr)	LC/MS			SC 평균	SEM
	동물 704	동물 705	동물 706		
0	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	N/A
6	6110.0	5910	6200.0	6073.3	85.7
24	#	10420.0	11300.0	10860.0	359.3
48	16560.0	13510.0	14960.0	15010.0	880.8
72	13690.0	13450.0	13380.0	13506.7	93.9
120	11040.0	#	#	11040.0	N/A
168	#	8680.0	9400.0	9040.0	293.9
240	6940.0	7070.0	7140.0	7050.0	58.6
336	4400.0	4580.0	4430.0	4470.0	55.7
432	-	2910.0	-	2910.0	N/A
528	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	N/A

- = 초기 실시 실패함, 반복 분석을 위한 샘플이 충분하지 않음

= 잘못된 표지된 튜브, 샘플이 분석으로부터 제외됨

N/A = 적용 불가

[0375]

[표 59]

사이노물거스 원숭이에서 단회 IV 투여 후의 면역검정에 의해 측정된 FP2 의 혈장 농도(ng/mL).

시간 (hr)	면역검정			IV 평균	표준 편차
	동물 701	동물 702	동물 703		
0	< 80.0	< 80.0	< 80.0	< 80.0	N/A
1	29938.3	31139.0	23545.3	28207.6	4082.0
6	24711.9	21173.0	20434.4	22106.4	2286.5
24	19648.4	21420.9	8662.7	16577.3	6911.3
48	17790.1	17107.0	12983.1	15960.0	2600.7
72	17889.4	13871.1	13692.4	15151.0	2373.3
120	15298.6	11982.5	11361.5	12880.9	2116.7
168	11752.0	10982.8	9933.8	10889.5	912.7
240	8921.1	7465.0	6733.4	7706.5	1113.6
336	6572.8	5750.5	4687.6	5670.3	945.1
432	1099.6	3425.0	3458.0	2660.9	1352.2
528	< 80.0	2069.0	2416.2	2242.6	N/A

N/A = 적용 불가

[0376]

[0377] [표 60]

사이노물거스 원숭이에서 단회 IV 투여 후의 LCMS 에 의해 측정된 FP2 의 혈장 농도(ng/mL)

시간 (hr)	LC/MS				
	동물 701	동물 702	동물 703	IV 평균	SEM
0	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	N/A
1	25340.0	28820	26220.0	26793.3	1044.7
6	24610.0	26340.0	23810.0	24920.0	746.6
24	18410.0	18680.0	9810.0	15633.3	2012.7
48	16290.0	17370.0	13840.0	15833.3	1044.3
72	15430.0	14920.0	14280.0	14876.7	332.7
120	11180.0	11480.0	11440.0	11366.7	94.0
168	9170.0	#	#	9170.0	N/A
240	6800.0	7380.0	7600.0	7260.0	238.6
336	2870.0	3860.0	3480.0	3403.3	288.3
432	-	-	3030.0	3030.0	N/A
528	1150.0	1680.0	1400.0	1410.0	153.1

- = 초기 실시예 실패함, 반복 분석을 위한 샘플이 충분하지 않음

N/A = 적용 불가

= 잘못된 표지된 튜브, 샘플이 분석으로부터 제외됨

[0378]

[0379] [표 61]

사이노물거스 원숭이에서의 1 mg/kg IV 및 SC 투여 후의 FP2 의 평균(± SD) 약동학적 파라미터

경로		t _{1/2} (일)	CL 또는 CL/F (ml/일/kg)	V _z 또는 V _z /F (ml/kg)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} * (일)	AUC _{0-last} (일*ng/ml)	AUC _{0-inf} (일*ng/ml)
SC	평균	8.51	4.6	56	16178	1.67	180792	221032
	SD	1.28	0.8	7	3065		29990	44931
IV	평균	7.05	4.9	51	28208	0.042	183468	202380
	SD	1.45	0.2	12	4082		18268	9617

PK 파라미터는 면역검정 PK 데이터의 NCA 에 기반한 평균값이다.

*T_{max} (중위)

[0380]

[0381] 인간 혈장 안정성 검정

[0382] 37℃의 신선한 헤파린 첨가 혈장 중에서 최대 48시간 동안 FP2의 생체의 안정성을 검사하였다. 신선한 비동결 인간 혈장을 원심분리에 의해 2명의 대상체(한 명은 남성이고 한 명은 여성임)로부터의 헤파린 첨가 혈액으로부터 생성하였다. FP2를 0, 4, 24 및 48시간 동안 온화하게 혼합하면서 37℃에서 이 기질 중에서 인큐베이션하였다. 면역검정 방법을 사용하여 FP2의 농도를 결정하였다. LCMS 방법에 후속하여 독립적인 면역친화성 포획을 사용하여, 검정 조건 하에서 이 기질 내에 존재하는 온전한 이량체의 농도를 정량화하였다.

[0383] 면역검정 방법에서, 출발 농도로부터의 % 회수율은 104.8 내지 94.1의 범위이고 시간 경과에 따라 감소하지 않았는데, 이는 FP2가 생체외에서 최대 48시간 동안 인간 혈장 중에서 안정함을 입증한다(도 29 및 표 62). LCMS 방법은 농도가 시간 경과에 따라 안정함을 보여주었는데, 이는 FP2가 생체외에서 최대 48시간 동안 인간 혈장 중에서 온전한 이량체를 유지함을 입증한다(도 30 및 표 63).

[0384] [표 62]

면역검정에 의해 측정된 인간 혈장 중(ng/ml)에서의 48 시간에 걸친 FP2 의 생체의 안전성(정규화된 % 회수율).

화합물	성별	시간 (hr)	농도 (ng/mL)	정규화된 % 회수율
FP2	여성	0	9104	100.0
		4	9056	99.5
		24	9332	102.5
		48	9374	103.0
	남성	0	9473	100.0
		4	9929	104.8
		24	9081	95.9
		48	8912	94.1

[0385]

[0386] [표 63]

은전한 LC/MS 에 의해 측정된 인간 혈장 중(ng/ml)에서의 48 시간에 걸친 FP2 의 생체의 안전성(정규화된 % 회수율).

화합물	성별	시간 (hr)	농도 (ng/mL)	정규화된 % 회수율
FP2	여성	0	11090	100.0
		4	10830	97.7
		24	10500	94.7
		48	10030	90.4
	남성	0	10760	100.0
		4	9640	89.6
		24	10190	94.7
		48	8500	79.0

[0387]

[0388] 실시예 18: 사이노물거스 원숭이에서의 단회 용량 FP1 및 FP2의 효능

[0389] 나이브 사이노물거스 원숭이에서의 단회 용량 후에 먹이 섭취량 및 체중에 대한 FP1 및 FP2의 효과를 평가하였다.

[0390] FP1을 나이브 사이노물거스 원숭이의 코호트에 다음 3개의 용량 수준으로 피하 투여하였다: 1, 3 및 10 nmol/kg. 비히클 처리군을 또한 포함시켰다. 동물들을 맹검 방식으로 처리하였다. 본 연구는 총 6주간 지속되었는데, 2주간은 기저선 먹이 섭취량 측정 및 데이터 수집을 행하였고, 4주간은 화합물의 단회 투여 후 데이터 수집을 행하였다. 투여 후 일수 1, 7, 14, 21, 및 28에서 혈장 약물 노출을 측정하였다.

[0391] FP1의 단회 용량에 의한 사이노물거스 원숭이의 처리는 비히클 처리와 대비하여 먹이 섭취량 및 체중을 감소시켰다(도 31 및 도 32). 일일 먹이 섭취량의 유의한 감소가, 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해 일수 4, 5, 6, 및 8 내지 12에서 관찰되었다(도 31). 일일 먹이 섭취량의 주간 평균은 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해 투여 후 주수 2 동안 유의하게 감소되었다. 3 nmol/kg의 용량 수준은 투여 후 주수 2에서 투여 전의 평균 주간 먹이 섭취량으로부터 유의한 % 감소를 가졌으며, 10 nmol/kg의 용량 수준은 투여 후 주수 1 및 2에서 투여 전의 평균 주간 먹이 섭취량으로부터 유의한 % 감소를 가졌다. 일수 0으로부터의 % 체중 변화의 유의한 감소가, 3 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 28에서, 그리고 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 14, 21, 및 28에서 관찰되었다(도 32).

[0392] FP2를 나이브 사이노물거스 원숭이의 코호트에 다음 3개의 용량 수준으로 피하 투여하였다: 1, 3 및 10 nmol/kg. 비히클 처리군을 또한 포함시켰다. 동물들을 맹검 방식으로 처리하였다. 본 연구는 총 11주간 지속되었는데, 5주간은 기저선 먹이 섭취량 측정 및 데이터 수집을 행하였고, 1주간은 처리를 행하였고, 5주간은 세

척 단계 데이터 수집을 행하였다. 투여 후 일수 1, 7, 14, 21, 28, 35, 및 42에서 혈장 약물 노출을 측정하였다.

[0393] FP2의 다회 용량에 의한 사이노몰거스 원숭이의 처리는 비히클 처리와 대비하여 먹이 섭취량 및 체중을 감소시켰다(도 33 및 도 34). 일일 먹이 섭취량의 유의한 감소가, 3 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 3, 5 내지 8, 10 및 12에서, 그리고 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 3 내지 38 및 일수 40에서 관찰되었다(도 33). 일일 먹이 섭취량의 주간 평균은 3 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 투여 후 주수 1 동안 유의하게 감소되었고, 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 주수 1 내지 6 동안 유의하게 감소되었다. 3 nmol/kg의 용량 수준은 투여 후 주수 2에서 주간 평균 일일 먹이 섭취량에 있어서 투여 전주로부터 유의한 % 감소를 가졌으며, 10 nmol/kg의 용량 수준은 투여 후 주수 1 내지 6에서 주간 평균 일일 먹이 섭취량에 있어서 투여 전주로부터 유의한 % 감소를 가졌다. 일수 0으로부터의 % 체중 변화의 유의한 감소가, 1 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 21 내지 42에서, 3 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 14 내지 42에서, 그리고 10 nmol/kg의 용량 수준에 대해서는 일수 7 내지 42에서 관찰되었다(도 33).

[0394] **실시예 19: 사이노몰거스 원숭이에서의 다회 용량 FP2의 효능**

[0395] 나이브 자발적 과체중 사이노몰거스 원숭이(8 내지 20세의 연령 범위 및 8.0 내지 11.9 kg의 체중 범위)의 코호트에 다음 3개의 용량 수준으로 주 1회 피하 주사를 수행하여 FP2의 효능을 평가하였다: 0.3, 1, 및 10 nmol/kg. 먹이 소비량을 매일 측정하고, 체중을 매주 측정하고, 동물들을 매일 임상적으로 평가하였다. FP2의 12회의 매주 용량에 의한 과체중 사이노몰거스 원숭이의 처리는 비히클 처리와 대비하여 먹이 섭취량(도 35) 및 체중(도 36)을 감소시켰다. 순환 FP2 농도를 면역검정에 의해 결정하였다(도 37). 이후의 시점에서는 일부 동물에서 FP2 노출의 손실이 관찰되었는데, 이는 아마도 항-약물 항체(anti-drug antibody, ADA)의 발생에 기인하였을 것이다: 숫자는 노출 손실(동일한 동물에 대한 이전의 측정으로부터의 최저 혈청 약물 농도의 40% 이상의 감소로서 정의됨) 전의 시점까지 수집된 데이터를 나타낸다. 처리-관련 부작용은 본 연구 전체에 걸쳐 언급되지 않았다.

[0396] **실시예 20: 링커 열안정성**

[0397] HSA와 GDF15를 연결시키는 다양한 링커에 대하여 열안정성을 조사하였다. 단편 및 응집체에 대한 잠재성을 평가하기 위하여, 다양한 링커를 갖는 HSA-GDF15 융합 단백질을 10 mg/ml로 희석시켰다. EDTA 및 메티오닌의 첨가 후에, 샘플을 40°C 하에서 14일 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 샘플을 1 mg/ml의 농도로 희석시키고, 크기-배제 고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC) 하에서 평가하였다. 온전한 단백질뿐만 아니라 응집체 및 단편의 %를 이들 단백질에 대해 정량화하였다. 표 64는 AP 반복부로 이루어진 링커를 갖는 HSA-GDF15 단백질이 열응력 하에서 단편에 대해 가장 안정함을 나타낸다.

[0398] 이들 링커가 GDF15와 그의 수용체의 상호작용에 영향을 주는지의 여부를 평가하기 위하여, GDF15(Janssen) 및 HSA(미국 매사추세츠주 보스턴 소재의 Kerafast, Inc.)에 대한 단일클론 항체를 사용하여, 항-GDF15 또는 항-HSA 검출 및 플레이트 상에 코팅된 GFRAL-Fc 융합 단백질에 의한 면역검정을 수행하였다. 검정은 표 66에서의 모든 이들 링커 변이체가 수용체에 대한 유사한 결합성을 가짐을 보여주었다.

[0399] [표 64]

14 일 동안 열응력 후의 SE-HPLC 결과

서열 번호	링커	응집체 (%)	온전함 (%)	단편 (%)
113	GS(GGGGS) ₃	3.33	84.44	12.22
115	GA(GGGGA) ₃	3.51	87.98	8.5
117	(AP) ₁₀	1.64	98.36	0
119	(AP) ₁₂	2.36	97.64	0
121	GG-(EGKSSGSGSESKST) ₃ -GG	1.67	85.24	13.09
123	GS(PGGGS) ₃	2.96	88.12	8.91
125	GS(AGGS) ₃	3.44	86.22	10.34
127	GG-(EGKSSGSGSESKST) ₂ -GG	1.71	91.17	7.12

[0400]

[0401] **실시예 21: 임상 시험 프로토콜**

[0402] 과제중 이외에는 달리 건강한 대상체에서 피하 투여된 FP2의 안전성, 내약성, 약동학적 특성(절대 생체이용률을 포함함), 및 면역원성을 조사하기 위한 이중-맹검, 플라세보-대조, 무작위 배정, 단회 상승 용량 연구

[0403] 프로토콜 64739090EDI1001; 1상

[0404] EudraCT 번호: 2018-000324-34

[0405] 약어

ADA	항-약물 항체
ALT	알라닌 아미노트랜스퍼라제
항-HCV	C형 간염 항체
AST	아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제
AUC	곡선 아래 면적
BA	생체이용률
BLQ	최저 정량화가능 농도 미만
BMI	체질량 지수
BP	혈압
BPM	분당 맥박수
BUN	혈액 우레아 질소
BW	체중
CNS	중추 신경계
CRF	사례 보고서(이 연구의 경우에는 전자 사례 보고서)
CRU	임상 연구 단위
CV	심혈관
DCF	데이터 명확화 양식(data clarification form)
DG	용량군
DIO	식이-유도 비만

[0406]

DRC	데이터 검토 위원회
DSM-V	정신 장애의 진단 및 통계 매뉴얼(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)(제5판)
EC ₅₀	반수 최대 유효 농도
ECG	심전도
eCRF	전자 사례 보고서
EDC	전자 데이터 캡처
EMA	유럽 의약품청(European Medicines Agency)
EU	유럽연합
FcRn	신생아 Fc 수용체
FDA	미국 식품 의약국
FIH	최초의 인간 대상(first-in-human)
FSH	여포 자극 호르몬
GCP	의약품 임상시험 관리기준(Good Clinical Practice)
GDF15	성장 분화 인자 15
GFRAL	GDNF 패밀리 수용체-알파-유사, GDF15 수용체
GGT	감마-글루타릴 트랜스퍼라제
GLP	의약품 비임상시험 관리기준(Good Laboratory Practices)
HA	보건 당국
HbA1c	헤모글로빈 A1c
HBsAg	B형 간염 표면 항원

[0407]

hCG	인간 융모성 성선자극호르몬
HCV	C형 간염 바이러스
HDL	고밀도 지질단백질
HED	인간 등가 용량(human equivalent dose)
HIV	인간 면역결핍 바이러스
HR	심박수
HSA	인간 혈청 알부민
IAC	중간 분석 위원회(Interim Analysis Committee)
IB	임상시험자료집(Investigator's Brochure)
ICF	사전동의서 용지
ICH	국제 의약품규제조화위원회(International Conference on Harmonization)
IEC	독립적 윤리 위원회(Independent Ethics Committee)
IMP	시험용 의약품(Investigational Medical Product)
IRB	기관 감사 위원회(Institutional Review Board)
IV	정맥내
IVRS	대화형 보이스 응답 시스템(interactive voice response system)
IWRS	대화형 웹 응답 시스템(interactive web response system)
LC-MS/MS	액체 크로마토그래피-질량 분석/질량 분석
LDL	저밀도 지질단백질
LLOQ	정량 하한(lower limit of quantification)
MABEL	최소 예상 생물학적 효과 수준(minimum anticipated biologic effect level)

[0408]

MedDRA	국제 의학 용어 사전(Medical Dictionary for Regulatory Activities)
MRSD	최대 권장 출발 용량(maximum recommended starting dose)
MRU	의료 자원 이용(medical resource utilization)
n	개수(하위샘플의 크기)
N	개수(총 샘플 크기)
NAb	중화 항체
NAFLD	비알코올성 지방간 질병
NASH	비알코올성 지방성 간염
NBE	새로운 생물학적 실체(new biological entity)
NOAEL	무관찰 유해 효과 수준(no observed adverse effect level)
PAD	약리학적 활성 용량(pharmacologically active dose)
PAP	파파니콜라우 도말검사(Papanicolaou smear)
PD	약력학적 특성(들)
PI	연구책임자(Principal Investigator)
PK	약동학적 특성(들)
PQC	제품 품질 불만(Product Quality Complaint)
PRO	환자-보고 결과(들)(patient-reported outcome(s)) (이 연구의 경우 필요에 따라 종이 또는 전자적 형태)
PSA	전립선 특이적 항원(prostate specific antigen)
QEW-5	식사 및 체중 패턴-5에 대한 설문(Questionnaire on Eating and Weight Patterns-5)

[0409]

RBC	적혈구
RET	GFRAL-신호전달 공동수용체(GFRAL-signaling co-receptor)
SAD	단회 상승 용량(single ascending dose)
SAE	심각한 유해 사건(serious adverse event)
SBP	수축기 혈압
SC	피하
SD	스프라그-돌리
SUSAR	의심되는 예기치 않은 심각한 유해 반응(suspected unexpected serious adverse reaction)
T2DM	제2형 진성 당뇨병
TEAE	치료-유발 유해 사건(treatment-emergent adverse event)
TK	독성동태학적 특성(toxicokinetics)
TSH	갑상선 자극 호르몬
ULN	정상 상한치(upper limit of normal)
US	미국
VAS	시각 유사 척도(Visual Analog Scale)
WBC	백혈구

[0410]

1. 시간 및 이벤트 일정 - 스크리닝 및 입원환자 기간

연구 기간	파트 1 및 파트 2 ^a																	
	스크리닝 일수 -28 내지 -3	기저선		입원환자														
		영 수 일	-1 일 수	일수 1								일수 2		일수 3	일수 4	일수 5		
투여 전 또는 연구 약물 투여를 기준으로 한 시간				투여 전 ^b 0	+0.5h ^a	+1h	+2h	+4h	+6h	+8h	+12h	+24h	+30h	+36h	+48h	+72h	+96h	
스크리닝 ^b																		
사전동의서 용지(ICF) ^c	X																	
약물유전체학적 검사용 샘플에 대한 ICF	X																	
인구통계학적 특성 및 의료 이력	X																	
식사 및 체중 패턴 5에 대한 설문	X																	
선정 기준 및 제외 기준 ^d	X	X																
연구전 요법	X	X																
약물, 알코올 및 코티닌 스크리닝 ^e	X	X																
바이러스 혈청학적 검사(HBsAg, 항-HCV, HIV) ^e	X																	
갑상선 자극 호르몬(TSH) ^e	X																	
여포 자극 호르몬(FSH) ^{e,f}	X																	
헤모글로빈 A1c(HbA1c) ^g	X																	
CRU에 입원		X																
CRU에 상주		X	X	X	-----X													
CRU로부터 퇴원																	X	
외래환자 방문	X																	
연구 약물 투여																		
무작위 배정 ^g				X														
연구 약물을 투여함 ^h				X														
안전성 평가																		
안전한 신체 검사	X																	
간단한 신체 검사		X															X	
신장	X																	
체온(교막)	X		X	X								X			X	X	X	
바이탈 사인(혈압 및 심박수) ^j	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

[0411]

연구 기간	파트 1 및 파트 2 ^a																			
일수	스크리닝	기저선	입원환자																	
	일수 -28 내지 -3	일수 -2	일수 -1	일수 1							일수 2			일수 3	일수 4	일수 5				
투여 전 또는 연구 약물을 투여를 기준으로 한 시간				투여 전 ^a	0	+0.5h ^a	+1h	+2h	+4h	+6h	+8h	+12h	+24h	+30h	+36h	+48h	+72h	+96h		
연속 리드 II ECG 모니터링 ¹				X-----X																
12-리드 ECG ^{1b}	X		X ¹	X			X	X	X		X	X	X			X	X	X		
약력학적 평가																				
체중 ^m	X		X	X	X								X			X	X	X		
VAS 설문 ^o			X	X-----X														X		
24 시간 음식 섭취량 평가를 위한 표준화된 식사 ^o			X													X				
임상 실험실 평가																				
임신 검사 ^p	X	X																		
혈액학적 검사, 화학적 검사 ^q	X	X											X			X		X		
지질 검사 패널(총 콜레스테롤, 트라이글리세라이드, HDL 및 LDL) ^q	X	X														X		X		
응고 검사 패널 ^q	X	X											X			X		X		
소변 검사 ^q	X	X											X			X		X		
담색용 바이오마커																				
담색용 바이오마커를 위한 혈액 샘플 수집 ^q		X	X	X									X					X		
약동학적 결과 및 면역원성 결과																				
약동학적(PK) 혈액 샘플 수집 ^{1a}				X		X ⁵	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X		
항-약물 항체(ADA)를 위한 혈액 샘플 수집 ^q				X																
선택적인 약물유전체학적 검사용 혈액 샘플링																				
DNA 혈액 샘플 수집 ^{1a}				X																
진행 중인 대상체 안전성 평가																				
유해 사건 및 동시 투약을 보고 ^u	X	X																		
유해 사건(비지시적 질문) ^u			X	X						X		X	X	X	X	X	X	X		
국부 내약성 평가 - 국부 주사			X	X			X			X	X	X	X			X	X	X		

연구 기간	파트 1 및 파트 2 ^a																	
	스크리닝	기저선		입원환자														
	일수 -28 내지 -3	일수 -2	일수 -1	일수 1							일수 2			일수 3	일수 4	일수 5		
투여 전 또는 연구 약을 투여를 기준으로 한 시간				투여 전 ^a	0	+0.5h ^a	+1h	+2h	+4h	+6h	+8h	+12h	+24h	+30h	+36h	+48h	+72h	+96h
원장 평가(파트 1) ^y																		
알레르기 반응/전신성 과민증 ^w				X			X		X	X		X	X			X	X	X

- a - **파트 1** - 이중-맹검되고, 최대 7개의 용량군으로 이루어질 것이다.
- 파트 2** - 오픈-라벨이고, 단회 용량군으로 이루어질 것이다.
- b - **스크리닝** - 일수 1에서의 연구 약물의 투여 전 4주(28일) 이내에 절차가 수행되어야 한다.
- c - **사전동의** - 임의의 연구 관련 절차를 개시하기 전에 입수되어야 한다.
- d - **선정 기준/제외 기준** - 적격성 기준을 지지하는 기록문서의 이용가능성을 위한 최소한의 기준이 섹션 4 '대상체 집단 적격성'에 기재되어 있으며, 투여 전의 기저선 평가를 검토한 후에 확인될 것이다.
- e - 입수하고자 하는 임상 실험실 검사의 목록에 대해서는 실시예 21 섹션 9.6.2, '임상 실험실 검사'를 참조하며; 대상체는 채혈되기 전에 적어도 10시간 동안 공복 상태(즉, 음식 또는 음료가 없는 상태[물은 제외])여야 한다. 기저선 임상 실험실 검사는 일수 -2 또는 일수 -1에서 이루어질 수 있으며, 단, 결과는 일수 1에서의 무작위 배정 및 투여 전에 검토를 위해 이용가능해야 한다.
- f - 단지 모든 여성 대상체에서만 입수되어야 한다.
- g - **무작위 배정**은, 일수 -2 및 일수 -1에서의 모든 평가가 수행되고, 검토되고, 검증되어 대상체가 모든 선정 기준을 충족시키고 어떠한 제외 기준도 충족시키지 않음을 확인한 후에(예를 들어, 실험실 결과, ECG 등), 일수 1에서 수행될 것이다.
- h - **파트 1** 용량 점증/피하(SC) 투여: 대상체는 단회 용량의 FP2 또는 플라세보(2 mL의 최대 부피)를 제공받을 것이다. **파트 2**: 대상체는 30분에 걸쳐(일정 속도) 단회 용량 IV 주입 FP2를 제공받을 것이다. 파트 1 및 파트 2의 모든 대상체는 투여 전 하룻밤(적어도 10시간)부터 투여 후 3시간까지 공복 상태여야 할 것이다. 파트 1에 대한 시간 0은 SC 연구 약물 주입 시간이고, 파트 2에 대한 시간 0은 연구 약물 IV 주입 출발 시간이다.
- i - **바이탈 사인**은 누운 자세로 5분 동안 쉰 후에 측정되어야 하며, 안정시 심박수(HR) 및 혈압(BP)을 포함한다. 혈액 샘플링 또는 바이탈 사인 측정이 ECG 기록과 동일한 시점으로 일정이 잡힌 경우, 절차는 하기 순서대로 수행되어야 한다: 바이탈 사인, ECG(들), PK, 안전성 또는 탐색용 바이오마커 분석을 위한 채혈. 측

정은 완전 자동화 혈압 장치로 결정되어야 한다. 모든 시점에서, 단회 혈압 및 HR이 측정되고 기록될 것이다.

- [0424] j - **연속 리드 II ECG 모니터링**은 단지 파트 2에서만 수행될 것이며, 일수 1에서 IV 주입을 시작하기 전 30분부터 시작하여 주입 종료 후 2시간까지 진행되어야 한다. 연구자의 재량으로, 심장 모니터링의 지속기간은 연장될 수 있다.
- [0425] k - **12-리드 ECG**: 스크리닝 ECG를 제외하고 모든 ECG는 3회 반복하여 측정될 것이다. 대상체는 집중을 방해하는 활동(예를 들어, 텔레비전, 휴대폰) 없이 조용한 환경에서 누운 자세로 적어도 5분 동안 쉬어야 하고, 말을 하거나 팔 또는 다리를 움직이지 않도록 해야 한다. 3개의 반복된 ECG는 매 시점에서마다 2분 미만의 간격으로 입수되어야 한다. ECG가 PK 샘플과 동일한 연구 시점에서 수행될 때, PK 샘플은 ECG 직후에 채취되어야 한다.
- [0426] 일수 -1에서의 12-리드 ECG는 일수 1에 일정이 잡힌 12-리드 ECG에 (동일한 시간에) 시간-매칭되어야 한다(즉, 투여 전, 투여 후 1, 2, 4, 8, 12, 및 24시간).
- [0427] m - **체중**: 일수 -1, 2, 3, 4 및 5에서는 조식 전에 그리고 배뇨 후에 입수되어야 하고, 일수 1에서는 배뇨 후 투여 전에 입수되어야 한다. 체중은 2회 반복하여 측정되어야 한다. 대상체는 신발을 신지 않고서 가운을 착용한 상태로 교정된 저울 상에서 칭량되어야 한다.
- [0428] n - 투여 전 절차는 연구 약물 투여 전 30분 이내에 이루어져야 한다.
- [0429] o - 24시간 음식 섭취량 평가 및 VAS 설문 시기의 상세한 설명에 대해서는, 실시예 21 섹션 9.3, '약력학적 평가', '식사 및 VAS 설문의 시간 및 이벤트 일정'을 참조한다.
- [0430] p - 스크리닝에서, 모든 여성에 대해 혈청 임신 검사가 요구된다. 소변 임신 검사는 모든 다른 시점에서 이루어질 수 있다.
- [0431] q - 샘플 수집 절차 및 처리 설명서에 대해서는 실험실 매뉴얼을 참조한다.
- [0432] r - **약동학적 평가**: 모든 PK 채혈은 일정이 잡힌 시점에 가능한 한 가깝게 수행되어야 한다. ECG가 동일한 시점에서 수행될 때, PK 검체는 ECG의 완료 직후에 채취되어야 한다. 파트 2(IV 주입)의 경우, 모든 수집 시점은 주입의 종료를 기준으로 한다. 선행 용량(들)으로부터의 예비 PK 데이터에 의해 나타내는 경우, 약동학적 샘플 수집의 시기는 변경될 수 있다(그러나 추가의 샘플은 수집되지 않을 것이다).
- [0433] s - 시점 0.5(= t_0 (주입 종료))는 단지 파트 2에서의 IV 투여에만 적용가능하다.
- [0434] t - 약물유전체학적(DNA) 샘플은 명시된 시점에서 수집되어야 하지만, 필요한 경우, 그것은 프로토콜 위반을 구성하지 않고서 이후의 시점에서 수집될 수 있다.
- [0435] u - 사전동의의 서명 후를 시작으로 연구 종료 방문에서의 최종 연구 절차에 이르기까지 유해 사건 및 동시 투약물이 기록될 것이다. 게다가, 본 연구 전체에 걸쳐 명시된 시점에서 (비지향적 질문을 사용하여) 유해 사건이 절의될 것이다.
- [0436] v - 국부 주사 부위 반응에 대한 독성의 보고에 관한 가이드라인에 대해서는, 실시예 21 섹션 9.6.8, '국부 주사 부위 반응'에서 표 70을 참조한다.
- [0437] w - 알레르기 반응 및/또는 과민성 반응의 관리에 관한 가이드라인에 대해서는, 실시예 21 섹션 9.6.7, '알레르기 반응/전신성 과민증'을 참조한다.

1. 시간 및 이벤트 일정 - 음식 섭취량 및 VAS 설문

클록 시간 ^a	0655	0700	0730	0800	0900	1000	1100	1155	1200	1230	1300	1400	1500	1555	1600	1630	1700	1800	1900	1915	1920	1950
첫 번째 식사를 기준으로 한 시간	-5분	시간 0 ^b	30분	1시간	2시간	3시간	4시간	4시간 55분	5시간	5.5시간	6시간	7시간	8시간	8시간 55분	9시간	9.5시간	10시간	11시간	12시간	12시간 15분	12시간 20분	12시간 50분
조식 ^c 식사 ^d		X																				
점심 ^e 식사 ^d									X													
간식 ^f 식사 ^d															X							
석식 ^g 식사 ^d																						X
일수 -1 및 3에서 식욕 등급에 대한 VAS 설문 ^h	X		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X		X	X	X	X	X		X
일수 1, 2, 4 및 5에서 식욕 등급에 대한 VAS 설문 ^{h,i}	X		X			X		X		X	X			X		X			X	X		X
일수 -1 내지 5에서 음식 기호성에 대한 VAS 설문 ^j		X							X						X						X	

a - 클록 시간은 필요한 경우 ± 15 분으로 조정될 수 있다.

b - 시간 0은 일수 -1, 2, 3, 4, 및 5에서는 조식 시작을, 그리고 일수 1에서는 투여 후 첫 번째 식사 시작을 지칭한다.

c - 모든 대상체에게는 모든 날에 동시에(± 15 분) 그들의 식사가 제공되어야 한다. 일수 -1에서는 ECG 측정과의 중첩을 피하도록 식사 시기가 결정되었으며, 그것은 ECG가 오전 7시에 수행되고, 이어서 0800, 0900, 1100, 1500, 및 1900에서(일수 1에서의 투여가 0700에 일어나는 경우) 또는 1000, 1100, 1300, 1700, 및 2100에서(일수 1에서의 투여가 0900에 일어나는 경우) 수행될 것이라는 가정 하에서 계산되었다.

d - 조식, 점심, 간식 및 석식은 일수 -1과 일수 3에서 동일해야 하며, 나머지 다른 날에 제공된 식사와는 상이하여야 한다.

e - 일수 -1 및 3에서, 대상체는 다른 대상체에 의해 영향을 받는 것을 피하기 위하여 식사를 소비할 때 서로 시각적으로 단리되어야 한다.

f - 일수 -1 및 3에서는, 매 식사마다 30분 이내에 소비되어야 하며, 대상체는 식사가 30분 전에 완료되면 연구 직원에게 알려야 한다. 식사 시작 및 완료 시간을 기록해야 한다.

g - 일수 -1 및 3에서, 매 식사마다의 각각의 품목은 소비 전과 후에 칭량되어야 하며, 소비된 양은 후속 칼로리 카운트를 위해 기록되어야 한다.

h - 식욕 등급에 대한 VAS 설문은 매 식사 직전마다 그리고 종료 시점에, 일수 -1 및 3에서는 매시간마다, 그리고 일수 1, 2, 4 및 5에서는 매 3시간마다 제공되어야 한다. 식욕 등급에 대한 VAS 설문에 관한 상세한 내용에 대해서는, 실시예 21 섹션 9.3, '약력학적 평가'를 참조한다.

i - 일수 1에서는, 식욕 등급에 대한 VAS 설문이 당일날의 첫 번째 식사를 시작으로 제공되어야 한다(투여 후 3시간째).

j - 음식 기호성에 대한 VAS 설문은 음식을 처음으로 한 입 먹은 후에 대상체에 의해 작성되어야 한다. 음식 기호성에 대한 VAS 설문에 관한 상세한 내용에 대해서는, 실시예 21 섹션 9.3, '약력학적 평가'를 참조한다.

1. 시간 및 이벤트 일정 - 외래환자 기간

연구 기간	파트 1 및 파트 2									
	외래환자 방문 *									
Week	1	2	3	4	6	8	10	12		
연구 약물 투여를 기준으로 한 일수	일수 7	일수 14	일수 21	일수 28	일수 35	일수 42	일수 49	일수 56	일수 63	연구 종료 #
안전성 평가										
완전한 신체 검사									X	X
간단한 신체 검사	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
체온	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
바이탈 사인(혈압 및 심박수)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
12-리드 ECG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
약동학적 평가										
제충	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
임상 실험실 평가										
임신 검사(소변)			X				X		X	X
혈액학적 검사, 화학적 검사 *	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
지질 검사 패널(총 콜레스테롤, 트라이글리세라이드, HDL 및 LDL)*										X
응고 검사 패널 *	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
소변 검사 *	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
탐색용 바이오마커										
탐색용 바이오마커를 위한 혈액 샘플 수집 *		X		X		X		X		
약동학적 절차 및 면역원성 절차										
약동학적(PK) 혈액 샘플 수집 *	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
항-약물 항체(ADA)를 위한 혈액 샘플 수집 *				X			X		X	
진행 중인 대상제 안전성 평가										
유해 사건 및 동시 투약을 보고 *		X								
유해 사건(비지시적 질문)*	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

[0449]

[0450]

a - 외래환자 방문: 이들 방문은 아침에 수행되어야 하며, 이때 대상체는 연구 절차 전 적어도 10시간 동안(하룻밤) 공복 상태여야 한다. 일정이 잡힌 시점(즉, 매 방문에 대한 특정 일)에서의 외래환자 방문을 수행하도록 모든 합리적인 시도를 해야 하지만, 주수 4(일수 28) 방문까지는 ± 1 일 창(window)이 허용되고, 주수 12(일수 84)에 이르기까지의 나머지 외래환자 방문에 대해서는 ± 3 일의 창이 허용된다. 모든 후속 방문은 이전의 다시 일정이 잡힌 방문의 날짜가 아니라 최초의 연구 약물 투여(일수 1)의 날짜를 기준으로 하여 일정이 잡혀져야 한다.

[0451]

b - 바이탈 사인은 누운 자세로 5분 동안 쉰 후에 측정되어야 하며, 고막 온도, 안정시 심박수(HR), 및 혈압을 포함한다. 혈액 샘플링 또는 바이탈 사인 측정이 ECG 기록과 동일한 시점으로 일정이 잡힌 경우, 절차는 하기 순서대로 수행되어야 한다: 바이탈 사인, ECG(들), 채혈. 측정은 완전 자동화 혈압 장치로 결정되어야 한다. 모든 시점에서, 단회 혈압 및 HR이 측정되고 기록될 것이다.

[0452]

c - 12-리드 ECG: 모든 ECG는 3회 반복하여 측정될 것이다. 대상체는 집중을 방해하는 활동(예를 들어, 텔레비전, 휴대폰) 없이 조용한 환경에서 누운 자세로 적어도 5분 동안 쉬어야 하고, 말을 하거나 팔 또는 다리를 움직이지 않도록 해야 한다. 3개의 반복된 ECG는 매 시점에서마다 2분 미만의 간격으로 입수되어야 한다. ECG가 PK 샘플과 동일한 연구 시점에서 수행될 때, PK 샘플은 ECG 직후에 채취되어야 한다.

[0453]

d - 입수하고자 하는 임상 실험실 검사의 목록에 대해서는 프로토콜 섹션 9.6.2, '임상 실험실 검사'를 참조하며; 대상체는 채혈되기 전에 적어도 10시간 동안 공복 상태(즉, 음식 또는 음료가 없는 상태[물은 제외])여야 한다.

[0454]

e - 샘플 수집 절차 및 처리 설명서에 대해서는 실험실 매뉴얼을 참조한다.

[0455]

f - 약동학적 평가: 모든 PK 채혈은 일정이 잡힌 시점에 가능한 한 가깝게 수행되어야 한다. ECG가 동일한 시점에서 수행될 때, PK 검체는 ECG의 완료 직후에 채취되어야 한다. 파트 2(IV 주입)의 경우, 모든 수집 시점은 주입의 종료를 기준으로 한다. 선행 용량(들)으로부터의 예비 PK 데이터에 의해 나타내는 경우, 약동학적 샘플 수집의 시기는 변경될 수 있다(그러나 추가의 샘플은 수집되지 않을 것이다).

[0456]

g - 사전동의의 서명 후를 시작으로 연구 종료 방문에서의 최종 연구 절차에 이르기까지 유해 사건 및 동시 투약물이 기록될 것이다. 게다가, 본 연구 전체에 걸쳐 명시된 시점에서 (비지향적 질문을 사용하여) 유해 사건이 질의될 것이다.

[0457]

h - 연구 종료 방문은 일수 84의 외래환자 방문 후 7 내지 10일째에 수행되어야 한다. 조기 탈퇴하는 대상체의 경우, 연구 종료 평가는 연구 약물 투여 후 가능한 한 곧바로 수행되어야 한다.

[0458]

1. 서론

[0459]

성장 분화 인자 15(GDF15)는 인간 혈장 중에 25 kDa의 이량체로서 존재하는 순환 단백질 인자이다. 공개된 내

부 데이터는 주로 에너지(즉, 음식 섭취량)에 영향을 미치는 에너지 균형의 조절에 있어서의 그의 역할을 지지한다.

[0460] FP2의 피하(SC) 투여는 설치류 및 비인간 영장류에서 감소된 음식 섭취량, 그리고 후속으로 체중(BW) 감량을 가져온다. 게다가, FP2에 의한 SC 치료는 개선된 글루코스 항상성을 가져오고, 식이-유도 비만(DIO) 마우스에서 인슐린 저항성을 개선하는데, 이는 체중 감량에 기인할 가능성이 높다. FP2는, 중추 신경계(CNS)의 맨아래구역(area postrema)에서 주로 발견되는 최근에 확인된 GDF15 수용체, GDNF 패밀리 수용체-알파-유사(GFRAL)에 결합함으로써 그의 효과를 발휘한다^{5,17,24,15}. FP2는 비만 대상체에서 음식 섭취량을 감소시키고 후속으로 체중 감량을 야기할 것이며, 이는 또한 비만-관련 동반이환의 개선으로 이어질 것으로 가설화된다.

[0461] 1.1. 배경

[0462] 1.1.1. 비임상 연구

[0463] 약리학적 프로파일

[0464] FP2의 시험관내 효능제 효력은 인간 GFRAL 수용체를 안정하게 과발현하는 SK-N-AS 세포와 함께 세포-기반 pAKT 검정을 사용하여 평가하였다. FP2는 2.908 ± 0.239 nM의 반수 최대 유효 농도(EC₅₀)로 pAKT를 활성화하였다(N=3) (실시에 14 참조). 천연 GDF15가 검정 대조군으로서의 역할을 하였으며, 0.153 ± 0.008 nM의 EC₅₀으로 효능제 활성을 보여주었다(N=3).

[0465] FP2를 다수의 종에서 먹이 섭취량을 감소시키는 그의 능력에 대해 평가하였다. FP2의 단회 SC 투여는 수컷 C57B1/6 마우스(실시에 14 참조) 및 스프라그-돌리(SD) 래트(실시에 15 참조)에서 먹이 섭취량을 급성 억제하였다. 나이브 자발적 과체중 사이노물거스 원숭이에 대한 FP2의 단회 SC 투여는 투여 후 최대 4주까지 비히클-처리된 동물과 대비하여 감소된 음식 섭취량, 그리고 후속으로 유의한 체중 감량으로 이어졌다(실시에 18).

[0466] 2주의 기간에 걸쳐 매 3일마다 FP2의 반복 투여는 먹이 섭취량 및 체중을 감소시켰으며, DIO 마우스에서 항상성 모델 평가-인슐린 저항성에 의해 측정된 글루코스 내성 및 인슐린 감수성을 개선하였다(실시에 16 참조). 12주의 기간에 걸쳐 나이브 자발적 과체중 사이노물거스 원숭이의 코호트에 대한 FP2의 주 1회 투여는 비히클 처리와 대비하여 유의하게 감소된 먹이 섭취량 및 체중을 가져왔다(실시에 19 참조). 이후의 시점에서 일부 동물에서 노출 손실이 관찰되었는데, 이는 아마도 항-약물 항체(ADA)의 발생에 기인하였을 것이다. 처리-관련 부작용은 본 연구 전체에 걸쳐 언급되지 않았다.

[0467] 안전성 약리학

[0468] 안전성 약리학적 종점(심혈관[CV]-, 호흡- 및 중추 신경계[CNS]-기능)을 ICH(국제약품규제조화의위원회) S6(R1) 가이드라인에 따라 사이노물거스 원숭이(연구 8372593) 및 SD 래트(연구 8371098)에서 GLP(의약품 비임상시험 관리기준) 4주 반복 용량 독성 연구의 일부로서 평가하였다. 게다가, 독립형 CV 안전성 약리학적 연구(연구 T-2017-044)를 원격측정 기기장착된(telemetry-instrumented) 사이노물거스 원숭이에서 수행하였다.

[0469] 전체적으로, 최고 용량에 이르기까지 FP2의 IV 및 SC 투여는 CV 종점, 심부 체온, 호흡률, 신경학적 또는 행동 종점에 대한 효과를 갖지 않았다.

[0470] 독성

[0471] 비임상 안전성 연구(표 65 참조)는 GLP, 21 CFR, 파트 58 및/또는 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development, 유럽 경제협력개발기구) 데이터 상호 인정(Mutual Acceptance of Data) 프로세스의 일부인 각국의 OECD-GLP의 원칙에 준거하여 수행되었으며, 적절한 문서화를 포함한다. 비임상 안전성 연구에 사용되는 FP2 시험 물질(배치 번호(Batch No.) CVC_PCM01)은 임상 시험 물질을 대표하는 것으로 간주된다.

[0472] [표 65]

FP2에 관한 독성 연구에 대한 개요

연구 유형	종 및 계통	투여 방법	지속기간	용량 (mg/kg)
반복-용량 독성	SD 래트	SC (biw)	4 주	0, 1, 10, 100
반복-용량 독성	사이노물거스 원숭이	SC/IV (qw)	4 주	0, 1, 10, 50

[0473]

[0474] 키워드: biw = 주당 2회; IV = 정맥내; qw = 주 1회; SC = 피하; SD = 스프라그 돌리.

[0475] 사이노물거스 원숭이 및 SD 래트에서의 FP2의 반복 투여는 대체로 우수한 내약성을 나타내었다. 사망률은 없었으며, 명백한 임상 징후는 없었다. 일부 소견(예를 들어, 음식 섭취량 및 체중의 감소)은 의도된 작용 방식의 결과로 간주되며, 유해 효과로 간주되지 않는다.

[0476] 관련 중 선택

[0477] FP2는 천연 아미노산으로 이루어진 짧은 펩티드를 통해 연결된 인간 GDF15 및 HSA 도메인 둘 모두를 갖는 완전 재조합 융합 단백질이기 때문에, 독성 프로그램은 ICH 가이드라인 S6(R1), *Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals*에 따라 주로 설계된다.

[0478] 관련 동물종 결정의 관점에서, FP2의 GDF15 부분은 생물학적으로 활성인 성분인 반면, HSA 성분은 신생아 Fc 수용체(FcRn)와의 상호작용을 통해 반감기를 연장시키고 그럼으로써 FP2의 노출을 증가시키는 역할을 주로 한다. GDF15 수용체(GFRAL) 및 GFRAL-신호전달 공동수용체(RET)는 최근에 확인되었다^{17,24,5,15}.

[0479] 컴퓨터 모의실험(*in silico*)에서, 상이한 종에서의 생물학적으로 활성인 성분(GDF15), 그의 수용체(GFRAL 및 RET), 그의 반감기 연장 성분(HSA), 및 알부민 수용체(FcRn)의 아미노산 서열 상동성 분석은 인간과 원숭이(즉, 사이노물거스 원숭이) 사이는 최고도의 유사성(95 내지 100%)을, 그리고 인간과 래트 사이는 합리적으로 높은 유사성(78 내지 100%)을 보여주었다(표 66).

[0480] [표 66]

종에 걸친 서열 상동성

% 인간과의 서열 유사성		인간	사이노*	돼지	개	토끼	래트**	마우스
활성 성분	GDF15	100	95.7	78.3	78.3	---	95.7	95.7
수용체	GFRAL	100	100	90.9	95.5	95.5	90.9	90.9
	RET	100	98.8	89.3	90.8	89.6	87.3	86.0
	알부민	100	97.8	87.0	93.5	95.7	93.5	93.5
반감기 연장	FcRn(p51)	100	100	90.6	90.6	84.4	78.1	78.1
	FcRn(b2M)	100	100	100	100	100	100	80.0

[0481]

[0482] 키워드: 사이노 = 사이노물거스 원숭이; FcRn = 신생아 Fc 수용체; GFRAL = GDNF 패밀리 수용체-α 유사; RET = GFRAL 신호전달 공동수용체, * 독성 시험을 위해 선택된 비설치류 종, 및 ** 독성 시험을 위해 선택된 설치류 종.

[0483] 시험관내 결합 분석은 인간, 래트, 및 사이노물거스 원숭이의 재조합 GFRAL 융합 단백질에 대한 FP2 결합을 나타내었는데, 이때 인간과 사이노물거스 원숭이 사이는 2배 범위 이내의 친화도, 그리고 인간과 래트 사이는 5배 범위 이내의 친화도를 가졌다. 게다가, 상이한 종에서의 GFRAL 수용체의 조직 발현 분석은 래트, 원숭이 및 인간에서 비견되는 발현 패턴(주로 후뇌의 맨아래구역에서)을 보여주었다.

[0484] 생체내 약력학적(PD) 연구는 사이노물거스 원숭이 및 래트 둘 모두에서 FP2의 가설화된 PD 효과(예를 들어, 먹이 섭취량 및 체중의 감소)를 보여주었다.

- [0485] 그러나, 단회-용량 PK 연구는 또한 래트 FcRn 수용체에 대한 인간 HSA의 친화도는 더 낮지만 사이노물거스 원숭이 FcRn에 대한 인간 HSA의 친화도는 유사한 것으로 인해 사이노물거스 원숭이($T_{1/2}$: 대략 7 내지 9일)와 SD 래트($T_{1/2}$: 대략 1 내지 2일) 사이의 PK에 있어서 약간의 유의한 차이를 보여준다.
- [0486] 따라서, 사이노물거스 원숭이가 가장 관련된/예측적인 동물종인 것으로 간주되며, 최초의 인간 대상(FIH)-허가 비임상 안전성 연구를 위한 비설치류 종으로서 선택되었다. 래트는 PK에서 일부 제한 하에서 설치류 독성 종으로서 선택되었다.
- [0487] **약동학적 프로파일**
- [0488] FP2의 PK 및 독성동태학적 특성(TK)을 단회 용량 후에 그리고 최대 4주 동안 만성 투여 후에 설치류 및 마른 사이노물거스 원숭이에서 특성화하였다. 최대 농도에 도달하기까지의 중위 시간(T_{max})은 마우스, 래트 및 사이노물거스 원숭이에 대해 각각 1일, 1일, 및 1.67일인 것으로 추정되었다. FP2의 클리어런스(설치류 및 원숭이에서 각각 약 25 및 5 mL/일/kg) 및 제거 반감기(설치류 및 원숭이에서 각각 약 1.5 및 7.1일)는 원숭이와 설치류 사이에 유의하게 상이한데, 이는 아마도 설치류 또는 원숭이 FcRn에 대한 HSA의 친화도의 차이에 기인할 것이다(즉, HSA는 인간 FcRn보다 더 낮은 친화도로 설치류 FcRn에 결합하는 반면, 원숭이 FcRn에 대한 HSA의 친화도는 인간과 유사함). 따라서, 원숭이가 설치류보다 인간에서의 FP2 PK의 더 예측적인 종으로 간주된다. 90 kg 사람에 대해 예측된 제거 반감기는 대략 12 내지 17일이다.
- [0489] FP2는 생체외에서는 인간 혈장에서 최대 48시간 동안, 그리고 생체내에서는 사이노물거스 원숭이에서 SC 및 IV 투여 후에, 온전한 이량체로서 안정한 것으로 밝혀졌다. 온전한 FP2의 대사는 표준 단백질 분해 경로를 통해 이루어질 것으로 예상된다.
- [0490] **1.1.2. 임상 연구**
- [0491] 이는 인간에서의 FP2의 최초의 투여가 될 것이며; 이에 따라 임상 경험이 이용가능하지 않다.
- [0492] **인간 약동학적 특성 및 면역원성**
- [0493] 지금까지 FP2에 관한 인간 PK 연구는 수행되지 않았다.
- [0494] **효능/안전성 연구**
- [0495] 지금까지 FP2에 관한 임상 연구는 수행되지 않았다.
- [0496] **2. 목적 및 가설**
- [0497] **2.1 목적**
- [0498] **2.1.1. 파트 1: 점중 단회 용량**
- [0499] 과체중($BMI \geq 25$ 내지 $\leq 29.9 \text{ kg/m}^2$)인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체에서, FP2의 단회 점중 SC 용량 후:
- [0500] **1차 목적**
- [0501] 피하(SC) 투여되는 FP2의 안전성 및 내약성을 평가하기 위함.
- [0502] **2차 목적**
- [0503] • FP2의 PK를 평가하기 위함.
- [0504] • 잠재적 ADA 형성뿐만 아니라, 내인성 GDF15에 대해 유도된 항체의 가능한 형성의 관점에서 FP2의 면역원성을 평가하기 위함.
- [0505] • 체중 및 음식 섭취량과 같은 약력학적(PD) 종점을 평가하기 위함.
- [0506] **탐구 목적**
- [0507] • FP2의 투여가 시각 상사 척도(VAS) 설문을 사용하여 평가되는 식욕 등급 및 음식 기호성과 같은 PD 종점의 변화와 관련되어 있는지의 여부를 평가하기 위함.

- [0508] ● GDF15의 내인성 수준이 PD 종점과 관련되어 있는지의 여부를 평가하기 위함.
- [0509] ● FP2의 PK가 PD 종점과 관련되어 있는지의 여부를 평가하기 위함.
- [0510] **2.1.2. 파트 2: 절대 생체이용률**
- [0511] 과체중($BMI \geq 25$ 내지 $\leq 29.9 \text{ kg/m}^2$)인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체에서, FP2의 단회 정맥내(IV) 용량 후:
- [0512] **1차 목적**
- [0513] 연령, 성별 및 체중 매칭된 대상체(파트 1에서의 선행하는 점증 SC 용량군들 중 하나에 참여한 대상체에 매칭됨)에 대해 30분에 걸쳐(일정 속도) 단회 용량 단기간 IV 주입의 투여에 의해 FP2의 절대 SC 생체이용률을 평가하기 위함.
- [0514] **2차 목적**
- [0515] IV 투여된 FP2의 안전성 및 내약성을 평가하기 위함.
- [0516] **2.2. 가설**
- [0517] 1차 목적이 안전성 및 내약성인 것을 고려하여, 이 연구에 대해서는 공식적인 통계학적 가설 검정이 계획되지 않음. 모든 다른 분석은 탐구적일 것이다.
- [0518] **3. 연구 설계 및 이론적 근거**
- [0519] **연구 설계의 개요**
- [0520] 이는 FP2에 대한 최초의 인간 대상(FIH) 연구이다. 본 연구는 2개의 파트를 가지며, 단일 연구 시설에서 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체에서 수행될 것이다. 파트 1은 FP2의 단회 상승 SC 용량의 안전성, 내약성 및 PK를 평가하기 위한 무작위 배정, 이중-맹검, 플라세보-대조 연구이다. 파트 2는 30분에 걸쳐(일정 속도) 단회 용량 단기간 IV 주입으로서 투여되는 FP2의 전신 노출 및 PK를 평가하기 위한 오픈-라벨, 단일군 연구이다.
- [0521] 총 최대 대략 62명의 과체중($BMI \geq 25$ 내지 $\leq 29.9 \text{ kg/m}^2$)인 것을 제외하고는 건강한 남성 및 여성(임신 가능성 없음) 대상체가 이 연구에 참여하도록 계획된다(파트 1 및 파트 2). 최대 대략 56명의 대상체가 이 연구의 파트 1에 무작위 배정될 것이고, 대략 6명의 대상체가 파트 2에 배정될 것이다.
- [0522] 대상체는 일수 -28 내지 일수 -3에 적격성에 대해 스크리닝될 것이다. 자격을 갖춘 대상체는 일수 -2에서 CRU(임상 연구 유닛)에 입원될 것이며, 기저선 안전성 평가를 받을 것이다. 일수 -1 및 일수 3에서, 대상체는 24시간 음식 섭취량 측정을 거칠 것이며, 식욕 등급 및 음식 기호성을 평가하기 위한 VAS 설문을 작성할 것이다. 대상체는 일수 1에서 연구 약물을 제공받을 것이며, 일수 5의 아침까지 안정성, 내약성, PK/ADA 및 PD 평가를 위하여 CRU에서 계속해서 거주하면서 남아 있을 것이며, 일수 5의 아침에 연구 평가를 작성 시에, 이들은 퇴원될 수 있다. 대상체는 주수 1(일수 7), 2(일수 14), 3(일수 21), 4(일수 28), 6(일수 42), 8(일수 56), 10(일수 70), 주수 12(일수 84), 및 연구 종료 방문(7 내지 10일 이후에)에서 외래환자 방문을 위하여 CRU에 복귀하도록 요구될 것이다. 각각의 대상체에 대한 총 연구 지속기간은 최대 대략 17주일 것이다.
- [0523] 연구 설계의 다이어그램이 도 38에 제공되어 있다.
- [0524] **3.1.1. 파트 1: 단회 상승 용량**
- [0525] 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체의 최대 7개의 용량군(DG) (DG 당 8명의 대상체)이 순차적으로 연구될 것이다. 각각의 DG 내에서, 6명의 대상체는 FP2에 무작위 배정될 것이고, 2명의 대상체는 매칭하는 플라세보에 무작위 배정될 것이며; 이에 따라, 활성 약물 대 플라세보 비는 각각의 용량 수준에 대해 3:1일 것이다(표 67 참조). 4명의 남성 대상체 및 4명의 여성 대상체(각각의 성별군에 대해 3개의 활성제 대 1개의 플라세보에 무작위 배정됨)가 파트 1에서 제1 DG에 등록될 것이며, 이때 제1 DG에서는 희석되지 않은 연구 약물이, 본 연구의 파트 2에서의 상응하는 IV 용량군에 대한 대상체의 매칭을 가능하게 하도록 투여되도록 계획된다(즉, 50 mg/mL의 희석되지 않은 제형).
- [0526] FP2에 대한 계획된 용량 점증 계획이 하기 표 67에 기재되어 있다. 본 연구 동안 투여될 용량은 "FP2 (mg SC)"

열에 명시된 바와 같은 80 kg 개체에 대해 계산된 균일-용량(flat-dose) 접근법에 기초한다:

[표 67]

파트 1에서의 계획된 FP2 용량 수준

용량군	FP2 (mg SC)	FP2 (mg/kg)	매칭된 플라세보 (SC)	용량군당 총 대상체 수
1	0.8 mg [N=6]	0.01	플라세보 [N=2]	N=8
2	2.5 mg [N=6]	0.03	플라세보 [N=2]	N=8
3	7.5 mg [N=6]	0.09	플라세보 [N=2]	N=8
4	15 mg [N=6]	0.18	플라세보 [N=2]	N=8
5	30 mg [N=6]	0.36	플라세보 [N=2]	N=8
6	60 mg [N=6]	0.72	플라세보 [N=2]	N=8
7	90 mg [N=6]	1.08	플라세보 [N=2]	N=8

치료는 각각의 용량 수준에서 이중-맹검되고 무작위 배정될 것이다.

각각의 용량 수준에 대해, 대상체는 4개의 하위군(n = 최대 2/하위군)으로 분리되고, 상이한 날에 투여될 것이다. 2명의 감시 대상체가 동일한 날에 먼저 동시에 투여될 것이며(1명은 플라세보, 1명은 FP2), 72시간의 안전성 감시 기간을 완료한 후에, DG 내의 후속 대상체에게 투여될 수 있다. 안전성 데이터의 검토 후에, 모든 대상체가 투여를 완료할 때까지 하루당 최대 2명의 추가 대상체에게 (대략 2시간 간격으로) 투여될 수 있다. 선행군의 마지막 대상체와 후행 DG의 최초의 대상체 사이의 간격은 적어도 10일이 될 것이다.

각각의 완료된 용량 수준 후에, 예비 안전성 및 PK 데이터를 스폰서 및 연구책임자(PI)가 검토하여 다음 계획된 용량 수준을 결정할 것이다. 각각의 용량-점증 결정은 투여 후 적어도 72시간 동안 주어진 DG의 모든 대상체에서 수집된 맹검된 예비 안전성, 내약성 및 PK 데이터에 기초할 것이다. 용량 점증 검토에 필요한 평가가능한 대상체(즉, 투여 후 최소한 72시간의 연구 절차를 완료한 대상체)의 최소한의 수는 DG 당 N = 7일 것이다.

FP2의 계획된 평균 혈청 노출(C_{max} 또는 AUC_{0-48hr})이, 가장 관련된 종(즉, 사이노몰거스 원숭이)에서의 1개월 GLP 독성 연구로부터의 최저 NOAEL(무관찰 유해 효과 수준) 노출을 초과하게 될 용량은 투여되지 않을 것이다.

3.1.2. 파트 2: 절대 생체이용률

파트 2는 건강한 과체중($BMI \geq 25$ 내지 $\leq 29.9 \text{ kg/m}^2$) 남성 및 여성 대상체에게 30분에 걸쳐(일정 속도) 단회 용량 IV 주입으로서 FP2를 투여하는 것의 전신 노출 및 PK를 평가하기 위한 오픈-라벨, 단일군 연구이다. 파트 2로부터의 PK 데이터를 사용하여 SC FP2 투여 형태의 절대 생체이용률을 결정할 것이다.

파트 2는 6명의 과체중($BMI \geq 25$ 내지 $\leq 29.9 \text{ kg/m}^2$)인 것을 제외하고는 달리 건강한 남성(n=3) 및 여성(n=3) 대상체를 등록할 것이다. 대상체는 성별, 연령(± 5 세), 및 체중(± 5 kg)에 대해 파트 1로부터의 SC 용량군(아마도 DG 5; 30 mg, 제1 용량군 - 여기서는, 50 mg/mL의 희석되지 않은 FP2 제형이 사용될 것임)의 대상체에 매칭될 것이다. 파트 2는 스폰서 및 PI가 본 연구의 파트 1로부터의 선행 DG로부터 맹검된 예비 안전성 및 내약성 데이터를 검토한 후에 본 연구의 파트 1의 완료 전에 개시될 수 있다.

파트 2에서의 각각의 적격한 대상체는 적합한 전완 정맥 내에 유치 카테터를 통해 30분에 걸쳐 일정 속도로 단기간 주입으로서 투여되는 FP2의 단회 IV 용량을 제공받을 것이다. 파트 2에 대한 IV 용량은 파트 1에서의 예비 안전성 및 PK 데이터에 기초하여 선택될 것이다. 선택된 IV 용량은, IV 투여 시의 최대 노출 수준의 예상된 차이 및 가능하게는 SC 제형의 불완전한 생체이용률을 해명하기 위하여, 파트 1에서 우수한 내약성을 나타내는 것으로 이미 평가된 용량의 1/3을 초과하지 않을 것이다. 상세한 내용에 대해서는, 실시예 21의 섹션 3.5 '용량 선택 파트 2'를 참조한다. 안전성 모니터링을 위하여, 1명의 감시 대상체에게 먼저 투여될 것이고, 72시간의 안전성 감시 기간을 완료한 후에 후속 대상체에게 투여될 수 있을 것이다. 나머지 5명의 대상체는 하위군으로 세분될 것이며(하위군에게는 적어도 24시간 간격으로 투여됨), 이에 따라 하루당 (대략 2시간 간격으로) 2명 이하의 대상체에게 투여될 것이다.

[0537] **3.2. 연구 설계의 이론적 근거**

[0538] **3.2.1. 일반적인 연구 설계 고려사항**

[0539] 제안된 연구는 HSA에 융합된 GDF15의 완전 재조합 동종이량체인 FP2의 안전성, 내약성, PK, 면역원성 및 PD(즉, 음식 섭취량, 체중, 식욕 등급 및 음식 기호성)를 평가하기 위한, 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 성인 대상체에서의 FIH, 이중-맹검, 무작위 배정, 플라세보-대조 단회 상승 용량(SAD) 시험이다.

[0540] 본 연구는 최초의 인간 대상 및 다른 조기 임상 개발 연구를 위한 관련 규제 가이드라인(EMA Guidance EMEA/CHMP/SWP/28367/07 Rev. 1, 2017; FDA Guidance for Industry, 2005)과 일치하게 설계되었다.

[0541] 이용가능한 비임상 데이터 및 약리학적 특성에 기초하여, 예상된 전신 안전성에 관하여, FP2는 EMA "Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products"⁴에 개략적으로 설명된 기준에 따라 "고위험" NBE(새로운 생물학적 실체)인 것으로 여겨지지 않는다.

[0542] 안전한 출발-용량의 결정(최소 예상 생물학적 효과 수준[MABEL], 약리학적으로 활성인 용량[PAD] 및 NOAEL 데이터에 기초함), 용량 점증 전략 및 중단 기준의 정의와 같은 중요한 시험 설계 요소는 현재의 과학적, 의학적 및 윤리적 표준 및 요건을 충족시키며(실시예 21의 섹션 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 참조), 유사한 목적을 갖는 비견되는 제품을 연구하는 다른 현재의 FIH 시험의 설계와 일치한다.

[0543] 표적화된 환자 집단은 명확하며, 적용가능한 선정 기준 및 제외 기준의 포괄적인 세트에 기초하여 신중하게 선택될 것이다(프로토콜 섹션 4 '대상체 집단' 참조). 모든 대상체는 투여 후 13주에 걸쳐 정기적인 안전성 추적 관찰에 의해 모니터링될 것이다.

[0544] 본 연구는, 바람직하지 않은 사건의 조기 검출을 위한 그리고 필요한 경우 적합한 치료 개입을 위한 높은 가능성을 보장하는 의료 모니터링 조건 하에 있는 전용 CRU를 위한 것으로 설계되고 그곳에서 수행될 것이다.

[0545] **3.2.2. 맹검, 대조군, 연구 단계/기간, 치료군**

[0546] 파트 1

[0547] 이중 맹검, 플라세보-대조, 무작위 배정된 연구 설계는 데이터 수집 및 임상 종점의 평가 동안 잠재적 편향을 최소화함으로써 FP2의 안전성 및 내약성 프로파일의 최상의 실제적인 평가를 가능하게 한다. 적극적 치료의 부재 시에 일어날 수 있는 임상 종점에 있어서의 변화의 빈도 및 크기를 평가하기 위해 파트 1에 대해 플라세보 대조군이 사용될 것이다. 치료군에 대상체를 배정함에 있어서 편향을 최소화하고, 알려진 및 알려지지 않은 대상체 속성(예를 들어, 인구통계학적 특성 및 기저선 특성)이 치료군에 걸쳐 고르게 균형을 이룰 가능성을 증가시키기 위해 무작위 배정이 사용될 것이다.

[0548] 파트 2

[0549] 파트 2는 오픈-라벨, 단일군 연구 설계로서, 이는, 달리 획득될 수 없는 FP2의 체내동태(disposition)에 대한 제형-비의존적 IV PK 데이터를 제공하게 될 것이며, SC FP2 투여 형태의 절대 생체이용률(BA)을 추정하는 데 사용될 것이다.

[0550] **3.2.3. 연구 집단**

[0551] 본 연구에서 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체를 등록하기 위한 이론적 근거는 다음과 같다:

[0552] FP2는 SC 경로에 의해 투여될 것이고, SC 조직으로부터의 약물 흡수 특성(즉, 흡수 속도 및 정도)은 상이한 대상체(예를 들어, 남성 vs. 여성) 및 집단(즉, 마른 대상체 vs. 과체중 대상체 vs. 비만 대상체) 사이에서 상이할 가능성이 높다. 따라서, 본 연구는, 더 긴 지속기간 시험에서 과체중 또는 비만 대상체를 노출시키기 전에, 표적 집단(들)에 가까운 집단에서의 반복-용량 PK 및 용량-선택의 신뢰성 있는 예측을 가능하게 하는 관련 집단에서 초기 인간 PK를 결정하는 것을 목적으로 한다.

[0553] 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체의 대상체 위험은 마른 건강한 대상체의 대상체 위험과 비견될 것으로 여겨지는데, 그 이유는, 스크리닝 기준이 과체중 개체에서 더 만연한 것으로 알려진 임상적으로 의미있는 질환(예를 들어, T2DM, 고혈압)을 갖는 대상체를 제외할 것이기 때문이다.

[0554] 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체의 등록은 2상에 등록될 것으로 예상되는 연구 집단에 가깝고/비

견되는 대상체 집단에서의 FP2의 안전성 및 PD 효과(예컨대, 음식 섭취량, 체중, 식욕 등급 및 음식 기호성)의 예비 평가를 가능하게 한다.

[0555] **3.2.4. 약동학적 특성 및 약력학적 특성**

[0556] 이 연구에서 PK 샘플링의 시기 및 지속기간은 상대성장 모델(allometric model) 예측을 포함한 비임상 PK 데이터에 기초한다. 이러한 정보를 사용하여, 빈번한 혈액 샘플 수집 일정이 PK 프로파일의 완전한 특성화를 가능하게 하고, 추가의 임상 개발을 지지하는 데 필요한 주요 PK 파라미터를 정의하는 데 필요한 데이터를 제공할 것이다.

[0557] 음식 섭취량의 24시간 평가(투여 전 및 계획된 T_{max} 에서), 및 본 연구 전체에 걸친 체중 모니터링은 FP2의 단회-용량 투여 시에 일어날 수 있는 음식 섭취량의 감소(즉, 칼로리 섭취량의 감소)의 평가, 및 가능한 체중 감량에 대한 평가를 가능하게 할 것이다. VAS 설문의 빈번한 작성은 FP2의 단회-용량 투여에 의한 치료 시에 음식 섭취량의 감소 및 체중 감량과 관련될 수 있는 식욕 행동의 변화의 특성화를 가능하게 할 것이다.

[0558] **3.2.5. 안전성 및 내약성**

[0559] FP2에 관한 래트 및 원숭이에서의 1개월 GLP 독성 연구에서 기록된 대부분의 조사결과는 관찰된 유의한 먹이 섭취량 감소 및 체중 감량에 대해 2차적인 것으로 간주되었으며, 이는 이러한 부류의 약물에 대한 가설화된 목표 약리학적 특성이었다. 전체적으로, FP2는 독성 연구에서 우수한 내약성을 나타내는 것으로 여겨졌으며, 특수한 모니터링을 필요로 할 어떠한 조사결과도 기재되지 않았다.

[0560] 따라서, 이 연구에서의 안전성 모니터링은 일련의 표준 안전성 평가, 예컨대 바이탈 사인(심박수, 수축기 및 확장기 혈압, 체온), 표준 임상 실험실 검사(혈액학적 검사, 임상 화학적 검사, 소변검사, 지질 검사, 응고 검사), 신체 검사, 치료-유발 징후 및 증상/유해 사건[TEAE]의 모니터링 - 이에는 알레르기 반응/과민증 및 국부 주사 부위 반응이 포함됨 -, 및 일련의 표준 12-리드 ECG의 문서화로 이루어질 것이다. 연속 리드 II ECG 모니터링이 또한 파트 2에서 수행될 것이다.

[0561] **3.2.6. 면역원성**

[0562] NBE의 면역원성 잠재성은 그의 전체 안전성 프로파일의 일부이기 때문에, FP2의 잠재적인 면역원성은 ADA의 일련의 정량화, 및 내인성 GDF15에 대해 형성될 수 있는 항체에 대한 스크리닝에 의해 모니터링될 것이다.

[0563] **3.2.9. IV 투여(파트 2)**

[0564] 연구 파트 2는, 연령, 성별 및 체중에 대해, 적합한 SC 참조군(파트 1에서의 제1 용량군 - 여기서는, 희석되지 않은 연구 약물이 투여될 것임)에 매칭되는, 과체중인 것을 제외하고는 달리 건강한 대상체에게 30분에 걸쳐(일정 속도) 단회 용량 IV 주입으로서 FP2를 투여하는 것의 전신 노출 및 PK를 평가하기 위한 오픈-라벨, 단일군 연구이다. 파트 2는, 달리 획득될 수 없는 FP2의 체내동태에 대한 제형-비의존적 IV PK 데이터를 제공하게 될 것이며, SC FP2 투여 형태의 절대 BA를 추정하는 데 사용될 것이다. 파트 2에서의 FP2의 IV 투여를 제공받은 6명의 대상체는 절대 BA의 추정에 관례적이며, 이때 절대 BA는 SC 투여 형태의 약제학적 품질 속성의 평가를 위한 벤치마크(benchmark)로서의 역할을 한다.

[0565] **3.3. 파트 1에 대한 용량 선택 및 점증의 이론적 근거**

[0566] 과체중 사이노몰거스 원숭이에서의 반복 용량 연구(실시에 19 참조)에서 3개의 연구 용량 수준에서 FP2의 PK와 PD를 동시에 특성화하기 위하여(먹이 섭취량 및 BW에 있어서 기저선 대비 % 변화), 음식 섭취량과 체중(BW) 사이의 관계의 생리학적 표현과 통합된, FP2의 PK와 먹이 섭취량 사이의 간접 반응 PK/PD 모델을 개발하였다. 이 연구에서, 먹이 섭취량 감소는 주수 2부터 주수 3까지 최대였으며, 지속된 처리로 용량-의존적 감소를 나타낸 반면, 체중은 주수 4(1 nmol/kg 군에서) 또는 주수 7(10 nmol/kg 군에서)까지 계속해서 감소하였고 이후에는 평탄하였다. 이들 관찰을 특성화하기 위하여, 체중 감량에 반응하여 일어나는 에너지 소비량과 먹이 섭취량의 상보적 변화를 기술하는 항을 포함시킴으로써 먹이 섭취량(FI) 및 결과적으로 체중(BW) 둘 모두에 있어서의 처리-유도 변화를 기술하기 위한 신규한 생리학-기반 PK/PD 모델을 개발하였다. BW 변화는 시간 경과에 따른 에너지 소비량 변화와 함께, 먹이 섭취량 변화의 중방향 효과로서 기술되었다. 이러한 PK/PD 모델은 12주 연구에서 먹이 섭취량 및 BW 궤적을 기술할 수 있었으며, 과체중 사이노몰거스 원숭이에서 FP2에 대한 노출-반응 관계를 제공하였다. 이 모델에서의 BW 감량-의존적 상보적인 먹이 섭취량 항은, 먹이 섭취량에 미치는 약물 효과에 대한 파라미터가, 주어진 노출에 대해 시간 경과에 따라 일정하게 유지될 수 있게 한다. 사이노몰거스 원숭이에서

개발된 반기계적(semi-mechanistic) 모델은 인간에서의 에너지 섭취량과 BW 변화 사이의 알려진 관계에 기초하여 추가의 트랜슬레이셔널 모델링(translational modeling)을 가능하게 하였으며, 그 결과는 에너지 섭취량의 주어진 % 감소에 대해, 인간이 사이노몰거스 원숭이보다 더 큰 BW 감소를 갖는다는 것을 보여준다. 모델링 결과는 또한 FP2의 작용 기전을 정량적으로 지지하며, BW 손실은 과체중 사이노몰거스 원숭이에서 약물-유도 먹이 섭취량 감소에 의해 주로 추진된다. 이러한 모델링 접근법을 사용하여 인간에서 PAD 및 효능이 있는 임상 용량/노출을 결정하였다.

[0567] FP2의 PK/PD 관계뿐만 아니라 생리학적으로 관련된 파라미터 및 SC 생체이용률이 과체중 사이노몰거스 원숭이와 인간 사이에서 변환가능하다는 것을 가정하여, 주수 12에서의 20% 음식 섭취량 감소를 제공할 것으로 예상되는, 예비적으로 예측된 인간 주 1회 SC 용량은 대략 0.08 mg/kg(약 0.5 nmol/kg)이다. 공개된 문헌^{13,12,11} 및 모델 시뮬레이션에 기초하여, 주 1회 SC 투여 후 주수 12에서의 음식 섭취량의 20% 감소를 제공하는 용량은 1년간의 치료 후 10% 초과 체중 감소에 상응할 수 있다.

[0568] 3.3.1. 출발 용량 정당화

[0569] 이 연구를 위한 출발 용량은 독성(NOEL) 및 약리학적 데이터(PAD)에 기초하여 최초의 인간 대상 연구를 위한 관련 규제 지침 가이드라인^{3,6}에 따라 선택하였다.

[0570] 1개월 독성 연구에 대한 래트 및 사이노몰거스 원숭이에서의 NOEL 용량은, 래트의 경우 100 mg/kg이었고, 사이노몰거스 원숭이의 경우 50 mg/kg이었다. 인간 등가 용량(HED)을 체표면적에 대한 용량의 정규화에 의해 계산하였다. 최대 권장 출발 용량(MRSD) 계산은, 초기 임상 용량을 제공받은 인간 대상체의 보호를 위한 안전역(a margin of safety)을 제공하기 위해 10의 디폴트 안전 계수를 사용한다.⁶ 10의 안전 계수를 사용하여, 하기에 기재된 노출비 계산에 반영된 바와 같이, FP2에 대한 MRSD는 1.6 mg/kg BW인 것으로 계산되었다. 80 kg 체중을 갖는 사람의 경우, MRSD 용량은 128 mg인 것으로 계산되었다.

[0571] 약리학적 특성에 기초하여, FP2는 내인성 GDF15와 같이 기능하여 음식 섭취량을 감소시키고, 그 결과 체중 감량을 가져올 것으로 예상된다. FP2에 대한 작용 기전 및 비임상 안전성 프로파일은 FP2가 고위험 제품으로 간주될 기준을 충족시키지 않음을 시사한다.

[0572] 반복-용량 사이노몰거스 원숭이 연구 결과는 훨씬 더 낮은 용량에서 약리학적 활성(즉, 먹이 섭취량 감소)을 나타내었기 때문에, MRSD는 PAD-기반 접근법에 의해 안내되어야 한다. 이러한 목적을 위하여, FP2에 대한 인간 PK 파라미터를, 과체중 사이노몰거스 원숭이에서의 단회 SC 투여 후 체중에 기초한 모델-추정 PK 파라미터의 고정된 지수 상대성장 스케일링을 통해 예측하였다.

[0573] 이에 기초하여, 사이노몰거스 원숭이에서 3개의 연구 용량 수준에 걸쳐 PK 및 PD 데이터를 사용하여 FP2의 PK/PD 모델을 개발하였으며, 이 모델은 0.05 mg/kg(약 0.3 nmol/kg)의 단회 SC 용량이 대략 10%의 최대 음식 섭취량 감소를 가져올 것으로 예측하였는데, 이 값은 약리학적 활성을 나타내는 의미있는 역치로 간주된다. 0.05 mg/kg과 관련된 음식 섭취량 감소의 예측된 수준은 대상체의 안전성에 있어서 중요한 것으로 간주되지 않고, 다른 알려진 안전성-중요(safety-critical) PD 효과가 없기 때문에, (10의 디폴트 안전 계수 대신에) 5의 안전 계수가 모델-추정 0.05 mg/kg 용량에 적용된다. 이러한 안전 계수의 선택은 또한 인간 및 사이노몰거스 원숭이의 재조합 GFRAL 융합 단백질에 대한 FP2의 2배 이내의 시험관내 결합 친화도뿐만 아니라, 원숭이 및 인간에서의 GFRAL 수용체의 비전되는 조직 발현 패턴을 고려하고, 0.01 mg/kg의 MRSD로 이어진다. 80 kg의 체중에 대한 편평-투여 접근법이 이 연구에 사용될 것이기 때문에, PAD-기반 MRSD는 0.8 mg(0.01 mg/kg x 80 kg)인 것으로 계산되었다. 이는 PAD-기반 MRSD가 NOEL-기반 MRSD보다 약 160배 더 낮음을 나타낸다.

[0574] 0.01 mg/kg의 PAD-기반 MRSD는 약 0.6 nM의 최대 혈청 약물 농도를 산출할 것으로 예측되는데, 이는 내인성 GDF15 상한 정상 범위 수준(즉, 약 0.046 nM 또는 1.15 ng/mL)²보다 13배 더 높고, 합병증 없는 임신 여성에서 발견되는 중위 내인성 GDF15 수준(즉, 약 3.2 nM 또는 80,000 pg/mL)보다 5배 더 낮다.²⁰ 이 농도 값은, 1) 인간 GFRAL 수용체 결합 친화도(내인성 GDF15와 대비하여 FP2의 결합 친화도가 11배 감소됨); 및 2) 시험관내 기능 검정으로부터의 효력에 있어서의 차이(rhGFRAL-발현 SK-N-AS 세포를 사용한 pAKT 기능 검정에서 FP2에 대한 EC₅₀ 값은 내인성 GDF15와 대비하여 약 19배 감소됨)에서의 차이에 대해 보정될 때, 0.01 mg/kg의 단회 SC 용량 후 인간에서의 FP2의 예상된 최대 농도는 마른 개체에서의 내인성 GDF15 상한 정상 범위의 1.2배 이내일 것으로 예측된다.

[0575] 게다가, 0.01 mg/kg의 출발 용량으로부터의 C_{max} 는 rhGFRAL-발현 세포를 사용하는 pAKT 기능 검정 판독치의 EC_{10} 보다 더 낮은 것으로 예상된다.

[0576] 3.3.2. 최대 용량

[0577] 4주 GLP 래트 또는 사이노몰거스 원숭이 독성 연구에서의 NOEL 용량은 평균 C_{max} 값이 각각 415 $\mu\text{g/mL}$ (일수 1 내지 4, 여성 및 남성) 및 1,117 $\mu\text{g/mL}$ (일수 22 내지 29, 여성 및 남성), 그리고 평균 AUC 값이 각각 883 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ (일수 1 내지 4, 남성 및 여성) 및 6,341 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ (일수 22 내지 29, 남성 및 여성)가 되게 하였다. 성별 구분된 평균 약물 노출(C_{max} 및 AUC에 의해 평가됨) 및 다른 TK 파라미터의 어떠한 명백한 차이도 수컷과 암컷 사이노몰거스 원숭이 사이에서 관찰되지 않았다. 암컷 래트에서의 (최초 투여 후 C_{max} 및 AUC_{Day1-4} 에 의해 평가되는) 약물 노출은 수컷 래트에서보다 약간 더 높은 경향이 있었다. 파트 1에서 계획된 1.08 mg/kg BW의 최대 용량은 사이노몰거스 원숭이에서의 NOEL 용량에서의 평균 C_{max} 및 AUC 노출보다 각각 대략 97 내지 21배 낮은 평균 C_{max} 및 AUC 노출을 산출할 것으로 예상된다. 이 연구의 파트 1이 진행됨에 따라, 각각의 순차적인 DG로부터의 PK 데이터는 FP2의 전신 노출을 예측하고 이들 노출 추정치를 추가로 정밀화하는 시뮬레이션에 이용될 것이다. 후속 용량은 안전성, 내약성 및 PK의 이머징 데이터(emerging data)의 검토에 기초하여 조정될 수 있지만, 계획된 최대 용량을 초과하지는 않을 것이다.

[0578] 기기장착된 사이노몰거스 원숭이에서의 CV 안전성 연구는 50 mg/kg의 시험된 최고 SC 용량까지 어떠한 의미있는 조사결과도 보여주지 않았으며, 이에 따라 상기에 요약되어 있는 계획된 최대 노출을 제한하는 것으로 여겨지지 않았다.

[0579] 3.4. 용량 점증

[0580] 파트 1에서의 계획된 용량 범위는 비만 대상체에서의 향후 연구에서 탐구될 치료적 유효 용량의 예상된 반복-용량 노출로부터 안전역(10배 이상)을 제공할 것으로 예상되는 용량의 특성화를 가능하게 할 것이며, 특수 집단(예를 들어, 신장 및 간 손상을 갖는 대상체) 및 환경(예를 들어, 약물-약물 상호작용 연구, 철저한 QT/QTc 연구 등)에서의 잠재적인 노출 증가를 고려할 것이다.

[0581] 제안된 용량-점증 전략은, 선행 용량 수준들이 안전한 것으로 밝혀졌고, 노출 수준(C_{max} 및 $AUC_{0-72\text{ hr}}$)이 대략 용량-비례적인 선형 PK(또는 비례-미만(less-than-proportional) 노출 증가)을 나타낼 때, 본 연구의 제3 용량 수준까지는 처음 2개의 용량-점증 단계에 대해 약 3배의 용량 증분의 개념을 따른다. 동일한 규정 하에서, 용량 수준 4, 5, 및 6으로의 제3, 제4, 및 제5 용량-점증 단계는 약 2배 용량 점증으로 이루어질 것인 반면, 모든 후속 용량-점증 단계(존재한다면)는 대략 50% 용량 증분으로 계획될 것이다(표 3).

[0582] 각각의 완료된 용량 수준 후에, 예비 안전성 및 PK 데이터를 스폰서 및 PI가 검토하여 다음 계획된 용량 수준으로의 점증을 결정할 것이다. 각각의 용량-점증 결정은 투여 후 적어도 72시간 동안 주어진 용량군의 모든 대상체에서 수집된 맹검된 예비 안전성, 내약성, 및 PK 데이터, 그리고 투여 후 적어도 72시간 동안 획득된 예비 PK 데이터에 기초할 것이다. 검토에 필요한 평가가능한 대상체(즉, 투여 후 최소한 72시간의 연구 절차를 완료한 대상체)의 최소한의 수는 용량군당 $N=7$ 일 것이다. 검토 회의 시까지 투여 후 72시간으로부터의 임의의 추가의 임상적으로 관련된 정보가 검토 회의에서 연구자에 의해 전달될 것이다. 연구 진행과 함께, 선행 용량군들의 누적 안전성 데이터가 정기적으로 검토될 뿐만 아니라, 각각의 용량-점증 결정 회의의 일부로서도 그러할 것이다. 계획된 용량은 선행 용량(들)으로부터의 예비 PK, 안전성, 및/또는 내약성 데이터에 의해 지지된다면 변경될 수 있고, 감소되거나 반복될 수 있지만, 본 연구 프로토콜에 대한 실질적인 수정이 허용되지 않고 소관 보건 당국(HA) 및 독립적 윤리 위원회(IEC)에서 받아들여지지 않는다면 증가될 수 없다.

[0583] 선행 용량군의 마지막 대상체와 후행 DG의 최초의 대상체 사이의 간격은 적어도 10일이 될 것이다.

[0584] 4주 GLP 래트 또는 사이노몰거스 원숭이 독성 연구에서의 NOEL 용량은 이 연구에서 목적으로 하는 노출 상한을 안내하는 데 사용될 것이다(상세한 내용에 대해서는, 실시예 21, 섹션 3.3.2 참조).

[0585] 3.5. 용량 선택 파트 2

[0586] 파트 2에 대한 용량 강도는 파트 1에서의 예비 안전성 및 PK 데이터에 기초하여 선택될 것이며, 약 3배의 안전역을 제공하기 위하여 파트 1에서 우수한 내약성을 나타낸 것으로 평가된 용량의 1/3을 초과하지 않을 것이며, 이때 과체중 인간 대상체에서의 FP2 SC BA는 마른 사이노몰거스 원숭이(1.0 mg/kg의 단회 IV 용량 시의 절대 BA

= 99%)에서 결정된 것보다 실질적으로 더 낮아야 한다. 4주 사이노몰거스 원숭이 TK 연구에서 IV 투여(50 mg/kg BW) 시에 관찰된 C_{max} 값은 동일한 용량의 SC 투여에 대해 관찰된 것보다 단지 약 2배 더 높았을 뿐이며, 내약성이 우수한 SC 용량의 3배 감소는 30분에 걸쳐 FP2의 일정 속도 IV 주입에 대해 예상되는 안전한 최대 노출(C_{max})에 대해 적절한 마진을 또한 제공할 것으로 예상된다. 예를 들어, 용량군 5에 투여된 30 mg SC 용량이 안전하고 내약성이 우수한 것으로 여겨질 경우, 파트 2에 대한 IV 용량은 이러한 DG에 기초하여 선택될 수 있으며, 30 mg 또는 10 mg의 1/3이 될 것이다. 이는, 과제중 대상체에서의 SC 용량 시의 절대 BA가 약 33% 정도로 낮으며, 이에 따라 10 mg IV 용량 강도가, IV 투여 시의 AUC가 30 mg의 SC 투여 후에 획득된 AUC를 초과하지 않을 것임을 보장할 것이라는 가정에 기초할 것이다. BA는 $AUC(C_{max}$ 가 아님)로부터 계산되고 33% BA 가정은 보존적이기 때문에, SC 용량의 1/3의 IV 용량 강도는 30 mg SC의 것보다 낮은 C_{max} (즉, 주입의 종료)를 산출할 가능성이 높다.

[0587] **3.6. 중단 기준**

[0588] **3.6.1. 개별 중단 기준 - 파트 1**

[0589] 본 연구의 파트 1은 단지 FP2의 단회 SC 투여만을 수반하기 때문에, 본 연구 약물에 대한 개별 중단-기준(예컨대, 투여 중단)은 적용가능하지 않다. 그러나, 무작위 배정된 대상체는 그/그녀가 본 연구로부터 탈퇴되면 연구 약물을 제공받지 않을 것이다(실시에 21, 섹션 10.2 참조).

[0590] **3.6.2. 개별 중단 기준 - 파트 2**

[0591] IV 주입은 의학적으로 중요한 AE의 경우에 중단될 것이며, 이때 상기 AE는 연구자(들)에 의해 판단될 때 대상체에 대한 잠재적 위험을 의미한다. 그러한 의학적으로 중요한 AE는 하기의 조사결과를 포함하지만 이로 한정되지 않는다:

[0592] 대상체는 최초의 발생 후 2회의 연속 측정(15분 간격)에서, 프리데리시아(Fridericia) 식에 따라 보정된 절대 QT(QTcF)가 500 msec 이상이거나 기저선으로부터의 QTcF의 증가가 60 msec 초과이다.

[0593] 누운 자세로의 안정시 심박수가 100 bpm 초과인 것으로 정의되는 빈맥이, 연속 심박수 모니터링에 기초하여 최초의 발생 후 적어도 15분 동안 지속되는 대상체.

[0594] 누운 자세로의 안정시 심박수가 45 bpm 이하인 것으로 정의되는 서맥이, 연속 심박수 모니터링에 기초하여 최초의 발생 후 적어도 15분 동안 지속되는 대상체.

[0595] 누운 자세로의 안정시 수축기 혈압(SBP)이 180 mmHg 초과인 것으로 정의되는 고혈압이 발생되고 최초의 발생 후 적어도 15분 동안 지속되는 대상체.

[0596] 대상체는 중증 또는 심각한 유해 사건을 경험하고, 연구자는 안전성 이유로 IV 주입을 중단하는 것이 대상체의 최상의 관심에 있는 것이라고 여긴다.

[0597] 일단 이러한 이유들 중 하나로 중단되면, 본 연구 약물 투여는 확실히 종결된 것으로 간주되어야 한다(즉, 다시 재시작되지 않을 것이다. 연구 약물 중단에 대한 이유는 문서로 기록될 것이다).

[0598] **3.6.3. 연구 중단 기준**

[0599] 연구의 진행(아직 완료되지 않은 DG에 있거나 더 높은 용량 수준으로의 진행에 있는 것 중 어느 하나)은 하기와 같은 경우에는 언제든지 연기될 것이다:

[0600] - 2명의 대상체가 연구자에 의해 연구 약물과 관련되어 있을 가능성이 있거나(possibly), 가능성이 상당하거나(probably), 또는 가능성이 매우 높은(very likely) 것으로 평가된 임의의 의학적으로 중요하거나 심각한 유해 사건(SAE)의 경험으로 인해 (용량군 또는 기간에 관계없이) 본 연구로부터 탈퇴된 경우, 또는

[0601] - 1명의 대상체가 연구자에 의해 연구 약물과 관련되어 있을 가능성이 있거나, 가능성이 상당하거나, 또는 가능성이 매우 높은 것으로 평가된 SAE를 경험한다.

[0602] 임상 연구 팀과 독립적인 내부 DRC가 소집될 수 있다(섹션 11.8 참조). DRC의 목적은 모든 비맹검된 안전성 데이터를 검토하기 위한 것일 것이다. 이러한 면밀한 안전성 검토의 종료 시에, 하기의 권장사항들 중 하나가 이루어질 것이다:

- [0603] 계획된 바와 같이 본 연구를 계속할 것(즉, 상당한 안전성 문제가 없음).
- [0604] 더 많은 대상체에서 현재 용량을 반복함으로써 본 연구를 계속할 것.
- [0605] 현재 용량과 다음 계획된 용량 사이에 있는 용량에서, 또는 현재 용량과 이전의 더 낮은 용량 사이에 있는 용량에서 본 연구를 계속할 것.
- [0606] 본 연구를 종료할 것.
- [0607] **4. 대상체 집단**
- [0608] 적절한 대상체에 대한 스크리닝이 본 연구 약물의 투여 전 28일 이내에 수행될 것이다.
- [0609] 파트 1 및 파트 2 둘 모두에 대해, 적어도 2명의 추가의 예비 대상체가 입원환자 기간의 일수 -2에서 입원될 것이며, 전체 용량군이 무작위 배정됨을 보장하기 위하여 투여까지 이어지는 모든 평가를 받을 것이다.
- [0610] 대체가 필요한 경우 추가의 대상체가 등록될 수 있으며; 각각의 대체 대상체는 무작위 배정 일정에 따라 이들이 대체하고 있는 대상체에 대한 전체 연구를 완료할 것이다(프로토콜 섹션 5, '연구 약물 배정 및 맹검' 참조). 어떠한 대상체도 이 연구의 하나 초과 용량군 또는 파트에 참여할 수 없다. 예비 대상체는 본 연구에서 다른 용량군에 참여하기 위해 재스크리닝될 수 있다.
- [0611] 파트 1에서는, 4명의 남성 및 4명의 여성(각각의 성별군에 대해 3개의 활성제 대 1개의 플라세보에 무작위 배정됨)이 제1 용량군에 등록될 것이며, 이때 제1 용량군에서는 희석되지 않은 연구 약물이, 본 연구의 파트 2에서의 상응하는 IV 용량군에 대한 대상체의 매칭을 가능하게 하도록 투여되도록 계획된다(즉, 50 mg/mL의 희석되지 않은 제형).
- [0612] 본 연구에서 대상체를 등록하기 위한 선정 기준 및 제외 기준은 하기 2개의 하위섹션에 기재되어 있다. 하기의 선정 기준 또는 제외 기준에 관하여 의문이 있는 경우, 연구자는 본 연구에 대상체를 등록하기 전에 적절한 스폰서 대표와 상의하고 임의의 문제를 해결할 것이다. 면제(waiver)는 허용되지 않는다.
- [0613] 대상체 선택의 통계학적 고려사항의 논의에 대해서는, 실시예 21의 섹션 11.2 샘플 크기 결정을 참조한다.
- [0614] **4.1. 선정 기준**
- [0615] 각각의 잠재적 대상체는 본 연구에 등록되기 위해 하기의 모든 기준을 충족시킬 것이다:
- [0616] 남성 또는 여성
- [0617] 18 내지 45세(중점 포함).
- [0618] 체질량 지수(BMI) = 25.0 내지 29.9 kg/m²(중점 포함), 및 체중 ≥ 80 kg.
- [0619] 스크리닝에서 그리고 기저선에서(일수 -2 및/또는 일수 -1) 수행된 신체 검사, 의료 이력, 바이탈 사인, 임상 실험실 검사 및 12-리드 ECG에 기초하여 건강한 상태임. 결과들 중 임의의 것이 비정상인 경우, 대상체는 연구자가 비정상 또는 정상으로부터의 편차가 임상적으로 유의하지 않다고 판단한 경우에만 포함될 수 있다. 이러한 결정은 대상체의 근거 문서에 기록되고 연구자에 의해 서명될 것이다.
- [0620] 그 또는 그녀가 본 연구의 목적 및 그에 필요한 절차를 이해하고 본 연구에 기꺼이 참여할 것임을 나타내는 사전동의서 용지(ICF)에 서명할 것이다.
- [0621] 여성은 다음 중 어느 하나와 같이 정의된 임신 불가능성을 가질 것이다:
- [0622] 폐경기후
- [0623] 폐경기후 상태는 대안적인 의학적 원인이 없이 적어도 12개월 동안 무월경이고, 스크리닝에서의 여포 자극 호르몬(FSH) 수준이 폐경기후 범위(40 IU/L 또는 mIU/mL 초과)인 것으로 정의된다. 그러나, 대상체가 12개월 미만 동안 무월경이었다면, 폐경기후 상태를 확인하기 위해 2회의 FSH 측정(1회는 대상체의 의료 기록으로부터 얻을 수 있음)이 필요하다. 모든 여성은 스크리닝에서 음성 혈청 α -인간 융모성 성선자극호르몬(hCG) 임신 검사; 및 일수 -2에서의 입원 시에 음성 소변 임신 검사를 가져야 한다.
- [0624] 영구 불임
- [0625] 영구 불임 방법은 자궁절제술, 양측 난관절제술, 양측 난관 폐쇄/결찰 시술, 및 양측 난소적출술, 또는 달리 임

신을 불가능하게 하는 방법을 포함하며, 이는 의료 기록에 의해 문서로 기록된 바와 같다. 모든 여성은 스크리닝에서 음성 혈청 hCG 임신 검사; 및 일수 -2에서의 입원 시에 음성 소변 임신 검사를 가져야 한다.

- [0626] 안정시 심박수(대상체가 5분 동안 누운 자세로 있는 후) = 50 내지 90 bpm(분당 맥박수). 심박수가 범위 밖에 있다면, 최대 2회의 반복 평가가 허용된다.
- [0627] 혈압(대상체가 5분 동안 누운 자세로 있는 후) = 수축기: 90 내지 140 mmHg(중점 포함), 및 확장기: 90 mmHg 이하. 혈압이 범위 밖에 있다면, 최대 2회의 반복 평가가 허용된다.
- [0628] 남성은 (정관절제술을 받은 남성을 포함하여) 설사 그들의 파트너가 임신 상태이더라도 콘돔 사용에 동의할 것이며(이는 태아가 질 흡수를 통해 본 연구 약물에 노출되지 않는 것을 보장하기 위한 것임), 본 연구 동안 그리고 본 연구의 종료 후 3개월 동안 정자를 기증하지 않는다는 데 동의할 것이다. 남성 대상체는 남성 연구 대상체에 의해 사용되는 콘돔에 더하여, 그들의 여성 파트너가 효과적인 피임 방법(예를 들어, 처방 경구 피임제, 피임제 주사, 자궁내 장치, 이중 장벽 방법, 및 피임 패치)을 사용하도록 장려해야 한다.
- [0629] 본 연구 프로토콜에 명시된 금지사항 및 제한사항을 기꺼이 준수함.
- [0630] 대상체는 유사하게 그리고 전형적으로 24시간 음식 섭취량 평가 동안 제공될 음식 품목(food item)을 먹을 것이며(적어도 점심 및 석식 메뉴로부터의 주 앙트레(entrée) 및 반찬(side dish)들 중 하나), 하루당 3회의 주 식사(조식, 점심, 및 석식)의 습관적인 식사 패턴을 가질 것이다.
- [0631] 그 또는 그녀가 선택적인 연구용 DNA 샘플을 제공하는 것에 동의하는 경우, 별도의 사전동의서 용지에 서명할 것임. 임의의 DNA 연구 샘플(들)에 대한 동의서를 제공하는 것에 대한 거부하는 본 연구에의 참여로부터 대상체를 제외시키지 않는다.
- [0632] **4.2. 제외 기준**
- [0633] 하기 기준 중 임의의 것을 충족시키는 임의의 잠재적 대상체는 본 연구에의 참여로부터 제외될 것이다:
- [0634] CV 질병(심장 부정맥, 심근 경색, 뇌졸중, 말초 혈관 질병을 포함함), 내분비 또는 대사 질병(예를 들어, 당뇨병, 갑상선 기능항진증/갑상선 기능저하증, 중증 고트리글리세리드혈증[400 mg/dL 초과]), 혈액학적 질병(예를 들어, 폰 빌레브란트병 또는 다른 출혈성 장애), 호흡기 질병, 간 또는 위장 질병, 신경학적 또는 정신과 질병, 안과 장애(망막 장애 또는 백내장을 포함함), 신생물성 질병, 피부 장애, 신장 장애, 또는 대상체를 제외해야 할 것으로 연구자가 고려하거나 본 연구 결과의 해석을 방해할 수 있는 임의의 다른 병을 포함한(그러나 이로 한정되지 않는) 중대한 병 또는 의학적 장애의 이력 또는 이들의 현재 활성인 상태.
- [0635] 비만에 대한 이전의 외과적 치료, 또는 6개월의 스크리닝 이내의 식이 - 상업적 체중 감량 프로그램을 포함함 -, 또는 약리학적 치료로 인한 최근 체중 변화(5% 이상).
- [0636] 임의의 섭식 장애의 생애 이력 또는 섭식 장애에 대한 고위험(식사 및 체중 패턴-5에 대한 설문[QWEP-5]²⁵을 사용함, 첨부문서 1 참조).
- [0637] 악성종양의 생애 이력, 또는 가족의 동일한 쪽에서의 적어도 2명의 근친 혈연자(부모, 형제자매, 자녀, 조부모, 고모, 삼촌, 남자조카, 여자조카로 정의됨)에서의 동일한 유형의 암, 또는 근친 혈연자인 단일 사람에서의 하나 초과 유형의 암으로 정의된 악성종양에 대한 감수성의 가족력, 또는
- [0638] 젊은 연령(50세 미만)에서 암을 가졌던 근친 혈연자, 또는 한 쌍의 기관의 양쪽 모두(예를 들어, 양쪽 신장)에서 일어나는 암을 가진 근친 혈연자, 또는 형제자매에서의 하나 초과 소아암, 또는 친족의 남성에서의 유방암, 또는 다수의 세대(예를 들어, 할아버지, 아버지, 아들)에서 발생하는 암이 또한 제외될 것이다.
- [0639] 일상적인 암 스크리닝 검사(예를 들어, 남성의 경우에는 전립선 특이적 항원[PSA], 여성의 경우에는 파파니콜라우[PAP] 도말검사 또는 유방촬영술)에 대한 비정상적인 결과 또는 양성 결과의 이력.
- [0640] 암에 취약한 유전자적 증후군(예를 들어, BRCA1 및 BRCA2, 린치 증후군, 가족성 폴립증 증후군, 리-프라우메니 증후군, 및 다발성 내분비 신생물 증후군).
- [0641] 스크리닝에서 또는 일수 -2에서의 입원 시에 임상 실험실의 참조 범위의 정상 상한치(ULN)를 초과하는 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제(AST) 및 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT).
- [0642] ULN을 1.5배만큼 초과하는(즉, 1.5x ULN) 총 빌리루빈, 이는 길버트 증후군(UGT1A1 다형성으로 인한 무해한 선

천성 비용혈성 저등급 고빌리루빈혈증)을 갖는 대상체에서 약간 상승된 빌리루빈 수준을 설명하기 위한 것임.

- [0643] 스크리닝에서 또는 일수 -2에서의 입원 시에 임상 실험실의 참조 범위의 정상 하한치 미만의 헤모글로빈, 적혈구용적률, 또는 적혈구 카운트.
- [0644] 스크리닝에서 또는 일수 2에서 비정상적인 공복 혈당(즉, 125 mg/dL초과 또는 6.9 mmol/L 초과; 정맥 혈액 샘플로부터의 기질 혈장) 및/또는 헤모글로빈 A1c(HbA_{1c}) (즉, 6.4% 초과[고성능 액체 크로마토그래피] 또는 42 mmol/mol Hb 초과). 혈당 측정은 규정식 미준수(dietary non-compliance)가 의심되는 경우에 스크리닝 기간 동안에, 필요한 하룻밤 공복 기간을 두고서 반복될 수 있다.
- [0645] 스크리닝에서 또는 일수 -2에서의 입원 시에 임상 실험실의 참조 범위의 ULN을 초과하는 혈청 크레아티닌.
- [0646] 스크리닝에서 임상 실험실의 참조 범위의 정상 한계치 밖의 갑상선 자극 호르몬(TSH) 수준.
- [0647] 연구 약물의 계획된 최초 투여 전 최대 30일까지, 임의의 승인되지 않은 요법, 연구전 요법 및 동시 요법이 취해짐.
- [0648] 스크리닝 전 2년 이내에 DSM-V(정신 장애의 진단 및 통계 매뉴얼(제5판)) 기준에 따른 약물 또는 알코올 남용의 이력, 또는 스크리닝에서 또는 일수 -2에서의 입원 시에 알코올 또는 약물 남용(바르비투레이트, 아편, 코카인, 카나비노이드, 암페타민 및 벤조디아제핀을 포함하지만 이로 한정되지 않음)에 대한 양성 검사 결과(들).
- [0649] FP2의 임의의 부형제에 대해 알려진 알레르기, 과민증, 또는 불내성(문헌[IB, Section 2.3 Formulation information] 참조).
- [0650] 연구 약물의 최초 투여 전 2개월 이내에 혈액 또는 혈액 제제(대략 450 mL)를 기증하거나 상당한 양의 혈액을 손실하였음.
- [0651] 연구 약물의 계획된 최초 투여 전 1개월 이내 또는 약물의 반감기의 10배 미만의 기간 이내 중 어느 것이든 더 긴 기간 이내에 시험용 약물(시험용 백신을 포함함)을 제공받았거나 침습적인 시험용 의료 장치를 사용하였음.
- [0652] 임신 중 또는 수유 중이거나, 이 연구에 등록되어 있는 동안에 또는 연구 약물의 마지막 용량 후 12주 이내에 임신이 될 것으로 계획됨.
- [0653] 이 연구에 등록되어 있는 동안에 또는 연구 약물의 마지막 투여 후 12주 이내에 아이의 아버지가 될 계획임.
- [0654] B형 간염 표면 항원(HBsAg) 또는 C형 간염 항체(항-HCV)의 양성 이력을 갖거나, 다른 임상적으로 활동성인 간 질환의 이력을 갖거나, 스크리닝에서 HBsAg 또는 항-HCV에 대해 양성인 것으로 확인됨.
- [0655] 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 항체의 양성 이력을 갖거나, 스크리닝에서 HIV에 대해 양성인 것으로 확인됨.
- [0656] 스크리닝 전 6개월 이내에 대수술(예를 들어, 전신 마취를 필요로 함)을 받은 적이 있거나, 수술로부터 완전히 회복되지 않았을 것이거나, 대상체가 본 연구에 참여할 것으로 예상되는 시간 동안 또는 연구 약물 투여의 마지막 용량 후 12주 이내에 수술이 계획되어 있음. 주: 계획된 수술 절차가 국소 마취 하에서 실시될 예정인 대상체는 연구자에 의해 승인된다면 참여할 수 있다.
- [0657] 대상체가 연구 약물 투여 전 3개월 이내에 담배(또는 등가물)를 흡연하고/하거나 니코틴-기반 제품을 사용하였거나, 또는 스크리닝에서 또는 일수 -2에서 입원 시에 양성 코티닌 검사를 가졌음.
- [0658] 하루당 평균 1,200 mL(즉, 5컵, 합한 총 부피) 초과와 차/커피/코코아/콜라/카페인 첨가 음료(예를 들어, 에너지 드링크)를 마심.
- [0659] 비건(vegan) 또는 베지테리언(vegetarian)인 대상체는 음식물 알레르기 또는 음식물 불내성을 갖는다.
- [0660] 사전동의를 무효로 만들거나, 연구 요건을 준수하는 대상체의 능력을 제한하게 될 심리적 및/또는 감정적 문제.
- [0661] 대상체는 불량한 내약성 또는 정맥에 대한 용이한 접근의 결여로 인해 다수의 정맥천자를 받을 수 없거나 이를 꺼린다.
- [0662] 연구자의 의견상, 참여가 대상체의 최상의 관심에 있지 않거나(예를 들어, 행복감(well-being)을 손상시킴), 또는 프로토콜-명시된 평가를 방해하거나, 제한하거나, 혼란스럽게 할 수 있는 임의의 상태.
- [0663] 스폰서, 연구자 또는 연구 현장의 고용인으로서, 제한된 연구 또는 그 연구자 또는 연구 현장의 지휘를 받는 다

른 연구에 직접 관여하거나, 또는 고용인 또는 연구자 또는 스폰서의 가족 구성원.

[0664] 대상체가 법원 또는 관청 명령에 따라 시설에서 거주한다.

[0665] 이 연구의 이전 용량군에서 무작위 배정됨.

[0666] 4.3. 금지사항 및 제한사항

[0667] 참여에 적격하기 위하여, 잠재적 대상체는 본 연구의 과정 중에 하기 금지사항 및 제한사항을 기꺼이 준수할 수 있을 것이다:

[0668] 선정 기준 및 제외 기준(예를 들어, 피임 요건)에 언급된 바와 같은 본 연구 동안 충족될 모든 요건을 따를 것에 동의함.

[0669] 격렬한 운동은 연구 지정 평가 및 안전성 실험실 결과에 영향을 미칠 수 있으며; 이러한 이유로, 격렬한 운동(예를 들어, 장거리 달리기 5 km/일, 웨이트 리프팅, 또는 대상체에게 익숙치 않은 임의의 신체 활동)은 스크리닝 전 3일째부터 시작하여, 연구 종료 방문의 완료 시까지 본 연구 전체에 걸쳐 피해야 한다.

[0670] 대상체는 본 연구의 완료(즉, 연구 종료 방문) 후 적어도 3개월 동안 혈액을 기증하는 것을 피하도록 지시받을 것이다.

[0671] 알코올 소비 또는 알코올-함유 제품은 스크리닝 전, 그리고 일수 -2에서 CRU에 대한 입원 전 적어도 24시간째부터 시작하여, 일수 5에서의 정주(domiciliation) 기간의 종료 시까지, 그리고 모든 다른 외래환자 클리닉 방문 전 적어도 24시간째까지 허용되지 않는다. 본 연구의 잔존 일수 동안, 알코올 소비는 남성의 경우 하루당 24그램(즉, 0.5 L 맥주/일 또는 0.25 L 와인/일 또는 3잔[2 cL/잔]의 리퀴(liquor)/일), 그리고 여성의 경우 하루당 12 그램(즉, 0.25 L 맥주/일 또는 0.125 L 와인/일 또는 1.5잔[2 cL/잔]의 리퀴/일)의 최대량으로 제한되어야 한다.

[0672] 대상체는 일수 1 전 48시간부터 정주 기간의 종료 시점인 일수 5까지 그레이프프루트 주스, 세빌 오렌지(임의의 오렌지 마말레이드를 포함함), 또는 퀴닌(예를 들어, 토닉 워터)을 함유한 어떠한 음식 또는 음료도 소비할 수 없다.

[0673] 대상체는 일수 1에서의 연구 약물 투여 전 48시간부터 일수 5까지 임의의 메틸잔틴-함유 제품(예를 들어, 초콜릿 바 또는 음료, 커피, 차, 콜라, 또는 에너지 드링크)의 사용을 삼가할 것이다. 스크리닝과 추적관찰 방문 사이의 다른 날에, 대상체는 하루당 평균 1,200 mL 초과와 차/커피/코코아/콜라(5컵, 합한 총 부피)를 마시지 않도록 지시받을 것이다.

[0674] 대상체는 CRU에 입원하기 전 적어도 72시간부터 양귀비씨 소비를 삼가도록 지시받을 것인데, 그 이유는, 이것은 약물 스크리닝을 방해할 수 있기 때문이다.

[0675] 담배(또는 등가물) 흡연 및/또는 니코틴-기반 제품의 사용은 본 연구 약물 투여 전 3개월부터 연구 종료 방문의 완료 시까지 허용되지 않는다.

[0676] 대상체는 클리닉 내원 시기(in-clinic phase) 동안 연구 현장 직원에 의해 제공되는 것들 이외에는 어떠한 음식 또는 음료수도 소비하지 않을 것이다.

[0677] 선정 기준에 언급된 바와 같은 피임 요건을 따를 것에 동의함. 정자 또는 체내에서의 그의 생성에 미치는 FP2의 효과에 대한 정보가 없거나, 태아의 발달에 미치는 효과에 대한 정보가 없다. 대상체 및 대상체의 파트너는 본 연구 동안 또는 본 연구 후 최대 3개월 동안 임신하지 않게 되는 것이 중요하다. 대상체는 그의 파트너가 본 연구 동안 또는 연구 완료(즉, 연구 종료 방문) 후 3개월 이내에 임신하게 되는 경우 연구자에게 알려야 한다.

[0678] 5. 연구 약물 배정 및 맹검

[0679] 파트 1

[0680] 연구 참여에 대해 적격한 상태를 유지하는 모든 대상체는 일수 1에서 연구 약물 투여 전에 무작위 배정될 것이다. 컴퓨터-생성 무작위 배정 일정이 스폰서에 의해 제공되고 CRU 약국에 보유될 것이다.

[0681] 각각의 DG 내에서, 대상체는, 스폰서에 의해 또는 스폰서의 감독 하에서 본 연구 전에 준비된 컴퓨터-생성 무작위 배정 일정에 기초하여 활성 치료제(FP2) 또는 플라세보에 무작위 배정될 것이다. 무작위 배정은 무작위로

치환된 블록(randomly permuted block)들을 사용함으로써 균형을 이룰 것이다. 각각의 DG 내에서, 총 6명의 대상체는 FP2를 제공받을 것이고, 2명의 대상체는 플라세보를 제공받을 것이다. 파트 2와 매칭될 파트 1 내의 DG의 경우, 4명의 여성 및 4명의 남성이 각각의 성별군에 대해 3:1(3명의 FP2와 1명의 플라세보)의 무작위 배정으로 등록될 것이다.

[0682] 각각의 DG에 대해, 대상체는 4개의 하위군(n = 최대 2/하위군)으로 분리되고, 상이한 날에 투여될 것이다. 각각의 DG에서 일수 1에서, 2명의 대상체의 제1 하위군(감시군)이 FP2 또는 플라세보 중 어느 하나에 1:1 비로 무작위 배정될 것이며, 동일한 날에 대략 동일한 시간에 투여되어 72시간에 이르기까지 안전성 및 내약성의 평가를 가능하게 할 것이다. DG 내의 나머지 대상체의 투여에 영향을 줄 수 있는 제1 하위군 내의 투여된 대상체에서 보고된/관찰된 임의의 AE는 추가 대상체의 무작위 배정 및 투여 전에 스폰서에게 전달될 것이다. 나머지 6명의 대상체(1명의 플라세보, 5명의 FP2)는 FP2 또는 플라세보 중 어느 하나에 5:1 비(5명의 FP2와 1명의 플라세보)에 무작위 배정될 것이다. 감시 대상체에게 투여된 후에, 각각의 DG에서, 나머지 6명의 대상체에게 2개의 군(대략 2시간 간격으로 투여)에서 대략 3일에 걸쳐(적어도 24시간 간격으로) 투여될 것이다.

[0683] CRU에서 비맹검된 약사는 무작위 배정 일정에 따라 개별 대상체 연구 약물 용량을 준비할 것이며, 분배하기 전에 맹검된 라벨을 적용하고 주사 시린지를 마스킹하여 용액의 색에 의한 우발적인 비맹검을 피할 것이다. 본 연구 약물 투여는 본 연구의 임의의 안전성 평가에 관여하지 않는 연구 직원에 의해 행해질 것이다. 연구자에게는 본 연구 약물의 코딩된 세부사항을 담고 있는, 각각의 대상체에 대한 밀봉된 무작위 배정 코드를 제공할 것이다. 이들 밀봉된 코드는 하루에 24시간 접근가능한 제한된 접근 영역에 함께 유지될 것이다. 개방되든 밀봉되든 어느 것이든 간에 모든 무작위 배정 코드는 본 연구에서 대상체 참여의 종료 후에 수집될 것이다.

[0684] 본 연구 약물 배정을 잠재적으로 비맹검할 수 있는 데이터(즉, 연구 약물 혈청 농도, FP2에 대한 항-약물 항체 데이터, 연구 약물 준비/보고의무 데이터, 치료 배정)는 맹검의 무결성이 유지되고 편향에 대한 잠재성이 최소화되는 것을 보장하도록 특별한 주의를 기울여 취급될 것이다. 이는 특별 규정을 두는 것을 포함할 수 있는데, 예를 들어 데이터베이스가 잠기고 비맹검 상태가 되는 시간까지 연구자, 임상 팀, 또는 적절한 경우 기타 다른 자들에 의한 시야로부터 대상이 되는 데이터를 격리시키는 것을 포함할 수 있다. PK 데이터에 대한 임의의 현장 또는 연구 팀 접근은 익명으로 이루어질 것이다(즉, 단지 군 레벨 데이터, 및/또는 개별 대상체 데이터라면 해당된 더미 대상체 번호만).

[0685] 정상적인 상황 하에서, 맹검은 모든 대상체가 본 연구를 완료하고 데이터베이스가 완결될 때까지 해제되어서는 안 된다. 그렇지 않다면, 개별 연구 대상체의 맹검은 대상체의 치료 상황을 아는 것에 의해 특정 응급 처치/행동 과정이 지시될 경우에만 해제되어야 한다. 그러한 경우, 연구자는 밀봉된 코드를 개방함으로써 응급 시에 본 연구 약물의 정체를 결정할 수 있다. 연구자는, 맹검을 해제하기 전에, 특정 상황을 논의하기 위해 가능하다면 스폰서 또는 그의 지정자에게 연락할 것이 권장된다. 스폰서 또는 그의 지정자와의 전화 연락은 하루당 24시간, 주당 7일이 이용가능할 것이다. 맹검이 해제되는 경우, 가능한 한 빨리 스폰서에게 고지될 것이다. 비맹검 날짜, 시간, 및 그에 대한 이유는 근거 문서에 문서로 기록될 것이다.

[0686] 연구 약물 배정이 비맹검 상태였던 대상체는 일정이 잡힌 평가를 위해 계속 복귀되어야 한다.

[0687] 일반적으로, 무작위 배정 코드는 본 연구가 완료되고 임상 데이터베이스가 잠기게 되는 경우에만 완전히 개시될 것이다. 그러나, 비맹검된 DRC 검토를 위하여, 무작위 배정 코드, 및 필요하다면, 치료군 및 플라세보군으로의 무작위 배정 코드의 변환이 공인된 자들에게 개시될 것이다.

[0688] 파트 2

[0689] 파트 2는 단회 치료이면서 오픈-라벨이고, 모든 대상체가 FP2의 동일한 IV 용량을 제공받을 것이기 때문에, 치료 배정을 위한 무작위 배정 또는 다른 특별한 규정은 요구되지 않는다.

[0690] 대상체는 성별, 연령($\pm$ 5년), 및 체중($\pm$ 5 kg)에 대해 연구 파트 1의 참조 SC 용량군으로부터의 개별 대상체와 매칭되도록 선택될 것이다.

[0691] 파트 1 및 파트 2

[0692] 파트 1 및 파트 2 둘 모두에 대해, 그리고 각각의 DG에 대해, 적어도 2명의 추가의 예비 대상체가 일수 -2에서 입원될 것이며, 전체 용량군이 무작위 배정됨을 보장하기 위하여 투여로 이어지는 모든 평가를 받을 것이다.

[0693] 무작위 배정 번호가, 파트 1에서는 1001로 그리고 파트 2에서는 3001로 시작하여, 적격한 대상체에 순차적으로 배정될 것이다. 추가 대상체는, 파트 1에서는 용량군당 적어도 7명의 대상체가 투여 후 최소한 72시간의 연구

절차를 완료하고, 파트 2에서는 6명의 대상체가 (파트 1에서의 이전 용량군으로부터의 PK 데이터에 기초하여 결정된) FP2의 적어도 2의 반감기와 등가인 시간 동안 연구 절차를 완료하는 것을 보장하기 위한 대체 대상체로서 등록될 수 있다. 대체 대상체는 이들이 대체하고 있는 대상체와 동일한 치료를 취할 것이며, 새로운 무작위 배정 번호가 배정되었지만, 이것은, 첫 번째 자리수가 파트 1에서는 '2'로 그리고 파트 2에서는 '4'로 대체되는 것을 제외하고는, 대체되는 대상체의 무작위 배정 번호와 동일한 새로운 무작위 배정 번호가 배정될 것이다. 예를 들어, 대상체 1004는 파트 1에서 대상체 2004로 대체될 것이고, 대상체 3006은 파트 2에서 대상체 4006으로 대체될 것이다. 파트 2에서, 모든 대상체는 오픈-라벨 방식으로 FP2를 제공받을 것이다.

6. 투여량 및 투여

6.1 연구 약물

FP2는 주사용 멸균 용액으로서 공급되며, 이것은 -40℃에서 저장되고 광으로부터 보호될 것이다. 이 용액은 황갈색(brown-lutescent) 외관을 가지며, pH 6.5에서 10 mM 인산나트륨, 8% 수크로스, 및 0.04% 폴리소르베이트 20 중 50 mg/mL의 FP2 농도를 갖는다. FP2는 1.2 mL 충전 부피를 갖는 R2 유리 바이알 내에 냉동 상태로 제공된다(표 68).

FP2 제형에 사용되는 제형 완충액은, 플라세보 제형으로서 그리고 초기 FP2 SC 용량(DG 1 내지 DG 4)의 제조 시에 희석제로서 또한 사용되도록 본 연구를 위해 공급될 것이다. 이것은 10 mM 인산나트륨, 8.0% 수크로스 및 0.04% 폴리소르베이트 20으로 이루어진 멸균 투명 용액이다. 제형 완충액은 플라세보 주사제를 제조하는 데 사용될 것이다. 제형 완충액은 1.2 mL 충전 부피를 갖는 R2 유리 바이알 내에 냉동 상태로 제공된다.

[표 68]

연구 약물의 설명

활성 화합물:	FP2
투여 형태	SC 주사 및 IV 단기간 주입을 위한 50 mg/mL 용액
희석제:	10 mM 인산나트륨, 8.0% 수크로스 및 0.04% 폴리소르베이트 20을 함유하는 제형 완충액.
농도:	SC 투여에 있어서, FP2 제형은 0.5 mg/mL(DG 1), 5.0 mg/mL(DG 2 및 DG 3), 및 10.0 mg/mL(DG 4)의 희석물을 제조하기에 적절한 부피의 제형 완충액을 사용하여 재구성될 것이며; 희석되지 않은 50 mg/mL의 제형이 또한 사용될 것이다(DG 5, DG 6, DG 7). IV 투여에 있어서, FP2 제형은 10.0 mg/mL의 희석물을 제조하기에 적절한 부피의 제형 완충액을 사용하여 재구성될 것이다.
플라세보(파트 2):	10 mM 인산나트륨, 8.0% 수크로스 및 0.04% 폴리소르베이트 20을 함유하는 제형 완충액.

FP2 약물 제품(황갈색 용액)과 플라세보(투명 무색 용액)의 외관의 차이로 인해, 비맹검된 약사는, 연구 맹검을 유지하고 연구 직원 및 파트 1에서의 대상체에 의한 상기 제품의 관찰을 방지하기 위하여 IMP(Investigational Medicinal Product, 시험용 의약품) 취급 매뉴얼(Handling Manual)에 있는 지시사항을 따를 것이다.

연구 약물의 투여 준비, 투여 절차, 및 저장 조건에 대한 상세한 지시사항은 추가의 지침서로 연구 현장에 별도로 제공될 것이다.

파트 1 투여:

연구 약물은, 연구 팀과 독립적이고 본 임상 연구의 실시의 임의의 다른 측면에 관여하지 않는 지정되고, 훈련되고, 유자격 현장 직원에 의해 투여될 것이다. 적어도 10시간의 하룻밤 공복 후에, 일수 1에서 복부의 우하사분면(right lower quadrant)에 단회 SC 용량(최대 부피 2 mL)으로서 1.0 mL 인슐린 시린지(DG 1, DG 2, 및 DG 5) 또는 2.0 mL 시린지(DG 3, DG 4, DG 6, 및 DG 7)를 사용함으로써 연구 약물(FP2 또는 플라세보)이 투여될 것이다. 각각의 용량군에 대해, 대상체는 4개의 하위군(n = 최대 2/하위군)으로 분리되고, 상이한 날에 투여될 것이다. 2명의 감시 대상체가 동일한 날에 대략 동일한 시간에 먼저 투여될 것이며(1명은 플라세보, 1명

은 FP2), 72시간의 안전성 감시 기간을 완료한 후에, DG 내의 후속 대상체에게 투여될 수 있다. 맹검된 안전성 데이터의 검토 후에, 용량군 내의 모든 대상체가 투여를 완료할 때까지 시차를 둔 방식(staggered fashion)으로 하루에 최대 2명의 추가의 대상체에게 투여될 수 있다(대략 2시간 간격으로, 1명의 대상체는 약 7 am에 투여되고, 1명의 대상체는 약 9 am에 투여됨).

[0703] 시간 0은 연구 약물 주사의 시간이다.

[0704] 모든 SC 주사는 체대 주위의 2 인치 영역(약 5 cm)을 피해서 전방 복벽에 대해 이루어질 것이다. 임의의 주사 전에, 담당 현장 직원은 계획된 주사 부위를 검사/촉진(palpate)할 것이다. 주사는 비정상인 것으로 평가된 복벽의 영역에서 이루어져서는 안 된다.

[0705] 응급 의약품 및 응급 장비(아나필락시스의 치료를 위해 즉시 사용가능한 투약물을 포함함)에 대해 경험되고 훈련된 의사가 연구 약물의 투여 동안 항상 투여실 내에서 즉시 이용가능할 것이다.

[0706] **파트 2 투여:**

[0707] 자동 주입 장치(Braun Perfusor® Compact S 또는 등가 장치)를 사용함으로써, 필터와 함께 투여 세트를 사용하여 별도의 라인을 통해 적합한 전완 정맥 내로 유치 카테터를 통해 30분에 걸쳐 일정 속도 주입으로서 FP2의 단위 용량이 투여될 것이다. 투여는 매일 대략 동일한 시간에 수행되지만, 시차를 둔 방식으로 수행될 것이다(하루에 1명의 대상체는 약 7 am에, 그리고 1명의 대상체는 약 9 am에). 2명의 감시 대상체에게 먼저 투여될 것이고, 2명의 감시 대상체가 투여된 후 적어도 24시간째에 다음 2명의 대상체에게 투여될 것이며, 이후에 마지막 2명의 대상체는 적어도 24시간 후에 치료될 것이다. 1명의 감시 대상체에게 먼저 투여될 것이고, 72시간의 안전성 감시 기간을 완료한 후에 후속 대상체에게 투여될 수 있을 것이다. 나머지 5명의 대상체는 하위군으로 세분될 것이며(하위군에게는 적어도 24시간 간격으로 투여됨), 이에 따라 하루당 (대략 2시간 간격으로) 2명 이하의 대상체에게 투여될 것이다.

[0708] 시간 0은 연구 약물 IV 주입의 출발 시간이다.

[0709] 어떠한 플라세보 비교도 FP2의 IV 투여에 대해 예견되지 않기 때문에, 본 연구 약물의 맹검에 대한 측정은 필요하지 않다.

[0710] 응급 의약품 및 응급 장비(아나필락시스의 치료를 위해 즉시 사용가능한 투약물을 포함함)에 대해 경험되고 훈련된 의사가 연구 약물의 투여 동안 항상 투여실 내에서 즉시 이용가능할 것이다.

[0711] 기술적 문제가 있을 수 있으며, 본 연구 약물 투여의 일시적 중단을 필요로 할 수 있다(예를 들어, 유치 카테터의 오작동, 및 새로운 것의 배치에 대한 필요성). 이러한 경우에, 주입은 가능한 한 빨리 재시작될 수 있으며, 중단 시간 및 각각의 이유는 문서로 기록되어야 한다.

[0712] **7. 치료 순응도**

[0713] 연구 약물은 유자격 연구 현장 직원에 의해 SC 주사(파트 1)로서 또는 IV 주입(파트 2)으로서 투여될 것이며, 각각의 투여에 대한 세부사항은 적용할 수 있는 경우 전자 데이터 수집 시스템에 기록될 것이다[파트 1 SC: 주사 날짜, 주사 시간, 주사된 용량 부피, 주사 부위; 파트 2 IV: IV 주입의 출발 시간 및 중단 시간, 그리고 주입된 부피].

[0714] **8. 연구전 요법 및 동시 요법**

[0715] 연구 약물의 최초 용량이 기록되기 전 최대 30일까지 투여된 연구전 요법이 기록될 것이다. 본 연구 전체에 걸쳐, 연구 약물의 계획된 최초 용량 전 30일 이내에 그리고 본 연구 동안, 파라세타몰을 제외하고는, 어떠한 요법(백신, 비타민, 미네랄 보충제, 영양소 보충제, 약초 보조제[세인트 존스 워트(St. John's Wort), 마늘 추출물 및 허브티를 포함함]를 포함한, 처방 또는 일반의약품 투약물)도 허용되지 않는다. 대상체가 본 연구 동안 처방 또는 비처방 투약물을 제공받는 것이 필요하게 되면, 대상체는 스폰서(또는 지정자) 및 연구책임자에 의한 합의 및 승인 하에 본 연구에 등록되거나 계속 진행될 수 있다.

[0716] 임의의 동시 요법의 투여가 필요하게 되면, 그것은 전자 사례 보고서(eCRF)의 적절한 섹션에 보고될 것이다. 기록된 정보는 약물, 치료 지속기간, 투여 계획, 투여 경로, 및 그의 적응증에 대한 설명을 포함할 것이다.

[0717] 파라세타몰의 사용은 연구 약물 투여 전 3일까지 허용된다. 본 연구 전체에 걸쳐, 하루당 최대 3회의 500 mg 용량의 파라세타몰, 및 주당 3 g 이하가 두통 또는 다른 통증의 치료를 위해 허용될 것이다.

[0718] 연구 약물의 최초 용량의 출발로 시작하여 연구 종료 방문까지 본 연구 전체에 걸쳐 동시 요법이 기록될 것이다. 동시 요법은 또한, 단지 새로운 또는 악화되는 유해 사건 및 기준을 충족시키는 심각한 유해 사건과 관련해서만 연구 종료 방문 이후에 기록되어야 한다.

[0719] 9. 연구 평가

[0720] 9.1. 연구 절차

[0721] 9.1.1. 개요

[0722] 시간 및 이벤트 일정은 이 연구에 적용가능한 PK, 면역원성, PD, 탐색용 바이오마커, 약리유전체학적, 및 안전성 측정의 빈도 및 시기를 요약한다.

[0723] 식사 및 VAS 설문지의 시기는 식사 및 VAS 설문지의 시간 및 이벤트 일정에 명시되어 있다.

[0724] 다수의 평가가 동일한 시점에 일정이 잡혀 있는 경우, 그리고/또는 하나 이상의 평가가 식사와 동일한 시간에 일정이 잡혀 있는 경우, 절차들은 다음 순서로 수행될 것이 권장된다: 바이탈 사인, ECG, PK, 채혈, 식욕 등급에 대한 VAS 설문, 식사, 및 음식 기호성에 대한 VAS 설문(음식을 처음으로 한 입 먹은 후). PK 평가에 대한 혈액 수집은 가능한 한 명시된 시간에 가깝게 유지되어야 한다. ECG가 PK와 동일한 시점에서 수행되어야 할 때, PK 검체는 ECG의 완료 직후에 채취되어야 한다. 다른 측정들이 필요하다면 명시된 시점보다 더 빨리 행해질 수 있다. 동일한 시점에서의 다수의 평가의 순서는 본 연구 전체에 걸쳐 동일해야 한다. 평가의 실제 날짜 및 시간이 근거 기록문서 및 eCRF에 기록될 것이다.

[0725] 바이탈 징후(즉, 혈압[BP], 심박수[HR])는 (IV 주입 시간 동안을 제외하고는) 실현가능할 때 혈액 샘플이 채취되고 있는 팔의 반대쪽 팔로부터 기록되어야 한다.

[0726] 임신 검사는 스크리닝에서 그리고 본 연구 전체에 걸쳐 모든 여성에서 수행될 것이다. 혈청 임신 검사는 스크리닝에서 수행될 것이며, 소변 임신 검사는 시간 및 이벤트 일정에서의 모든 다른 시점에서 이루어질 것이다.

[0727] [표 69]

각각의 대상체로부터 수집될 혈액의 부피(본 연구의 파트 1 및 파트 2)

샘플 유형	샘플당 대략적인 부피 (mL)	대상체당 샘플의 수	혈액의 대략적인 총 부피 (mL) ^a
안전성 실험실 검사			
- 혈액학적 검사	3	14	42
- 임상 화학적 검사	5	14	70
- 응고 검사	3	14	42
- 지질 검사 패널	3	5	15
혈청 화학적 검사 ^b			
- 혈청학적 검사 (HIV, 간염)	5	1	5
- 혈청 β-hCG 임신 검사 ^c	5	1	5
TSH	3	1	3
FSH ^c	3	1	3
HbA1c	3	1	3
약동학적 샘플	3	20	60
면역원성	7.5	4	30
탐색용 바이오마커 샘플	3	9	27
약물유전체학적 샘플 ^d	10	1	10
대략적인 총계 ^e			315

^a 샘플의 수에 샘플당 혈액의 양을 곱한 값으로서 계산됨.

^b 혈청 화학적 검사는 혈청학적 검사(HBsAg, 항-HCV 항체, HIV 1 및 2 항체) 및 혈청 β-hCG 임신 검사를 포함한다.

^c 단지 여성 대상체에서만.

^d 혈액 샘플은 연구를 위한 선택적인 DNA 샘플을 제공하는 것에 동의한 대상체로부터만 수집될 것이다.

^e 샘플에 대한 기술적 문제로 또는 안전성 이유로 반복된 또는 일정에 없던 샘플을 채취할 수 있다. 주: 유체 정맥내 캐놀라가 혈액 샘플 수집에 사용될 수 있다. [만다린(폐색장치)이 사용되면, 폐기로 인한 혈액 손실이 예상되지 않는다.]

[0728]

[0729] 이들 부피는, 이 연구에서의 각각의 대상체로부터 채혈된 혈액의 최대량이 500 mL를 초과하지 않는 한(혈액 수집 튜브 크기 또는 입수가능성의 변화를 허용함), 최종 실험실 매뉴얼에서 조정될 수 있다. 필요하다면, 이머징 데이터에 기초한 추가의 안전성, 면역원성 또는 PK 평가를 위해 추가의 혈액 샘플이 수집될 수 있지만, 이

연구 동안 개별 대상체로부터 수집된 총 혈액 부피는 독립적 윤리 위원회(IEC) 및 보건 당국의 사전 승인 없이 이 연구 프로토콜에 언급된 양을 초과하지 않을 것이다. 샘플에 대한 기술적 문제로 또는 안전성 이유로 반복된 또는 일정에 없던 샘플을 채취할 수 있으며, 이는 IEC 및 보건 당국의 사전 승인을 필요로 하지 않는다.

[0730] 각각의 대상체의 경우, 이 연구에서 채혈된 혈액의 최대량은 500 mL를 초과하지 않을 것이다. 각각의 대상체로부터 수집될 총 혈액 부피는 대략 315 mL가 될 것이다.

[0731] **9.1.2. 스크리닝 기간(파트 1 및 파트 2)**

[0732] 잠재적인 대상체는 연구 참여에 대한 대상체의 적격성을 결정하기 위하여 일수 1에서의 연구 약물 투여 전 28일 이내의 스크리닝 방문 동안 관찰될 것이다. 대상체가 등록 기준을 충족시키면, 그/그녀는 일수 -2에서 CRU에 입원될 것이다.

[0733] 임의의 연구 절차를 수행하기 전에, PI(또는 지정된 연구 직원)는 각각의 대상체에 대해 서면화된 ICF를 검토하고 설명할 것이다. 대상체가 ICF에 서명할 때까지 어떠한 연구 절차(연구 실험실 검사를 위한 공복을 포함함)도 수행될 수 없다. 스크리닝 방문 동안, 임의의 시험, 절차, 또는 상담 전에 모든 대상체 보고 평가가 수행되어 이들 진입 기준 중 어느 하나라도 충족하지 않는 대상체는 중단해야 한다.

[0734] 연구자(또는 지정된 연구 직원)는 또한 약물유전체학적 검사용 혈액 샘플링 전에 선택적인 유전자 연구 샘플에 대한 서면화된 ICF를 검토하고 설명할 것이다.

[0735] 심각하든 심각하지 않든 어느 것이든 모든 유해 사건은 서명되고 날짜가 기입된 사전동의서 용지가 획득된 시점으로부터 최종 연구 종료 방문에서의 최종 연구 절차까지, 그리고 또한 특정 시점에서의 직접 질문에 의해 보고될 것이다. (시간 및 이벤트 일정을 참조한다.)

[0736] 제외로 이어질 수 있는 비정상적인 값의 재검사는 단지 1회만 허용될 것이다. 재검사는 일정에 없던 방문 동안 실시될 수 있다. 임의의 스크리닝 검사가 반복되는 경우, 검사 결과는 적격성 요건을 충족시킬 것이며, CRU에의 입원 전(예를 들어, 일수 -2) 연구자 검토를 위해 이용가능할 것이다.

[0737] **9.1.3. 환자 치료 기간(파트 1 및 파트 2)**

[0738] **일수 -2 및 -1(기저선)**

[0739] 자격을 갖춘 대상체는 일수 -2에서 CRU에 입원될 것이며, 시간 및 이벤트 일정에 명시된 바와 같이 기저선 안전성 평가(일수 -2) 및 일수 -1에서의 기저선 ECG 수집(일수 1 ECG와 시간-매칭됨)을 거칠 것이다. 일수 -1에서, 대상체는 또한 24시간 음식 섭취량 측정을 거칠 것이며, 식욕 등급 및 음식 기호성을 평가하기 위한 VAS 설문을 작성할 것이다.

[0740] **일수 1/무작위 배정 및 투여**

[0741] 모든 등록 기준이 충족된다는 확인 후에, 적절한 대상체는 일수 1에서 연구 약물 투여 직전에 무작위 배정될 것이다.

[0742] 본 연구 약물은 PI 또는 그/그녀의 지정자의 감독 하에 투여될 것이다. 연구 절차 세부사항 및 시점에 대한 시간 및 이벤트 일정을 참조한다.

[0743] 파트 1 및 파트 2에서의 각각의 용량 수준에 대해, 대상체는 하위군으로 분리되고 상이한 날에 투여될 것이며, 이에 따라 하루당 2명 이하의 대상체가 투여될 것이다. 파트 1에서의 2명의 감시 대상체(1명은 플라세보, 1명은 FP2) 및 파트 2에서의 1명의 감시 대상체(FP2)가 먼저 투여될 것이며, 72시간의 안전성 감시 기간을 완료한 후에 용량군 내의 후속 대상체에게 투여될 수 있다. 안전성 데이터의 검토 후에, 모든 대상체가 투여를 완료할 때까지 하루당 최대 2명의 추가 대상체에게 시차를 둔 방식으로(대략 2시간 간격으로) 투여될 것이다.

[0744] **일수 3부터 일수 5까지**

[0745] 일수 3에서는, 24시간 음식 섭취량의 측정 및 VAS 설문의 실시가 반복될 것이다.

[0746] 대상체는 일수 5의 아침까지 안정성, 내약성, PK 및 PD 평가를 위하여 CRU에서 계속해서 거주하면서 남아 있을 것이며, 일수 5의 아침에 연구 평가를 작성 시에, 이들은 퇴원될 수 있다.

[0747] **9.1.4. 외래환자 기간(파트 1 및 파트 2)**

[0748] 대상체는 시간 및 이벤트 일정에 상세히 설명된 바와 같이 안전성, 내약성, PK, PD, 및 면역원성 평가를 위해

공복 상태로(적어도 10시간) CRU에 복귀할 것이다. 연구 종료 방문의 완료는 본 연구에서 대상체의 참여 종료를 구성한다. 일정이 잡힌 시점(즉, 매 방문에 대한 특정 일)에서의 외래환자 방문을 수행하도록 모든 합리적인 시도를 해야 하지만, 주수 4(일수 28) 방문까지는 ± 1 일 차이 허용되고, 연구 종료 방문에 이르기까지의 나머지 외래환자 방문에 대해서는 ± 3 일의 차이 허용된다. 모든 후속 방문은 이전의 다시 일정이 잡힌 방문의 날짜가 아니라 최초의 연구 약물 투여(일수 1)의 날짜를 기준으로 하여 일정이 잡혀야 한다.

[0749] 초기 탈퇴

[0750] 대상체가 외래환자 기간의 종료 전에 임의의 이유로 본 연구로부터 탈퇴하는 경우에는, 연구 종료 평가가 이루어져야 한다.

[0751] 9.2. 약동학적 특성 및 면역원성

[0752] 시간 및 이벤트 일정에 명시된 바와 같이 다양한 혈액 샘플이 시간 경과에 따라 수집될 것이다. PK 샘플링 시간은 이전 용량군으로부터의 예비 PK 데이터에 기초하여 조정될 수 있다(예를 들어, FP2 혈청 농도가 정량 하한 [LLOQ] 미만인 경우 후기 샘플링 시간은 생략될 수 있다. 각각의 PK 및 면역원성 혈액 샘플(ADA) 수집의 실제 날짜 및 시간은 전자 데이터 수집 시스템에서 eCRF에 기록될 것이다. 연구 참여를 조기에 종료하는 대상체는 최종 평가 샘플이 종료 시점에서 수집되어야 한다.

[0753] 9.2.1. 평가

[0754] 연구 기간 중에 또는 그 후에 발생하는 문제를 다루는 안전성 또는 효능 양상을 평가하기 위하여, 면역원성의 추가의 특성화를 위하여, 또는 관련 바이오마커의 평가를 위하여, FP2 혈청 농도 및 FP2에 대한 항체의 분석을 위해 수집된 샘플이 추가로 사용될 수 있다. 대상체의 비밀보장이 유지될 것이다.

[0755] 9.2.2. 분석 절차

[0756] 약동학적 특성

[0757] 스폰서에 의해 또는 그의 감독 하에 검증된, 특이적인, 그리고 민감한 면역검정 방법을 사용하여 FP2의 농도를 결정하기 위해 혈청 샘플이 분석될 것이다.

[0758] 면역원성

[0759] 항-FP2 항체 및 혈청 내의 내인성 GDF15에 대한 잠재적인 항체의 검출 및 특성화는 스폰서에 의해 또는 그의 감독 하에 검증된 검정 방법을 사용하여 수행될 것이다. ADA의 검출을 위해 수집된 모든 샘플은 또한 항체 데이터의 해석을 가능하게 하기 위하여 FP2 혈청 농도에 대해 평가될 것이다.

[0760] 9.2.3. 약동학적 파라미터

[0761] FP2의 약동학적 파라미터는 비구획 분석을 사용하여 혈청 농도-시간 프로파일로부터 계산될 것이다. FP2의 단회 투여 후의 약동학적 파라미터는 하기를 포함할 것이지만 이로 한정되지 않는다:

[0762] C_{max} : 최대 관찰 혈청 농도.

[0763] T_{max} : 최대 관찰 혈청 농도에 도달하기까지의 시간.

[0764] AUC_{inf} : 시간 0부터 말단 단계의 외삽에 의한 무한까지의 시간 곡선에 대한 혈청 농도 아래 면적.

[0765] AUC_{last} : 시간 0부터 마지막 정량가능한 농도에 상응하는 시간까지의 시간 곡선에 대한 혈청 농도 아래 면적.

[0766] $T_{1/2}$: 최종 체내동태 반감기.

[0767] CL: 총 전신 클리어런스(IV만).

[0768] CL/F: 혈관의 투여 후 겔보기 총 전신 클리어런스(SC만).

[0769] V_z : 말단 단계에 기초한 분포 부피(IV만).

[0770] V_z/F : 혈관의 투여 후 말단 단계에 기초한 겔보기 분포 부피(SC만).

[0771] F(%): 전신적으로 이용가능한 투여된 용량의 비율로서 계산되는 절대 SC 생체이용률로서, 백분율로서 표현됨.

절대 생체이용률은 하기 식을 사용하여 계산된다.

[0772]
$$(\%) = \frac{\text{ } \times \text{ } \times \%}{\text{ } \times \text{ } \times \%}$$

[0773] **9.2.4. 면역원성 평가**

[0774] 시간 및 이벤트 일정에 따라 모든 대상체로부터 수집된 혈액 샘플에서 항-FP2 항체가 평가될 것이다. 추가로, 혈액 샘플은 또한 본 연구로부터 탈퇴된 대상체로부터의 연구 종료 방문에서 수집되어야 한다. 이들 샘플은 스폰서 또는 스폰서의 지정자에 의해 검사될 것이다.

[0775] 혈액 샘플은 FP2에 결합하는 항체에 대해 스크리닝될 것이고, 확인된 양성 샘플의 역가가 보고될 것이다. FP2의 면역원성을 추가로 특성화하기 위해 다른 분석이 수행될 수 있다.

[0776] **9.3. 약력학적 평가**

[0777] 시간 및 이벤트 일정에서 상세히 설명된 바와 같이 아침에, 조식 전에 그리고 배뇨 후에 2회 반복하여 체중이 측정될 것이다. 대상체는 신발을 신지 않고서 가운 또는 가벼운 실내복을 착용한 상태로 교정된 저울 상에서 칭량될 것이다.

[0778] 일수 -1 및 일수 3에서 4끼의 식사(조식, 점심, 간식 및 석식)를 제공함으로써 - 이들은 양쪽 날에 동일한 시간에 제공될 것임 -, 24시간 음식 섭취량이 평가될 것이다. 식사는 일수들 사이에 표준화될 것이다(일수 -1과 일수 3에서 동일한 식사). 식사는 또한 대상체들에 걸쳐 표준화될 것이며, 이에 따라 조성 및 1회 분량이 모든 대상체에 대해 동일하게 될 것이고 연구 영양사에 의해 평가되는 바와 같은 지역 선호 및 가이드라인에 기초하게 될 것이다. 매 식사마다의 각각의 품목이 소비 전과 후에 칭량될 것이고, 각각의 음식 품목의 소비된 그래프가 계산되고 기록될 것이다. 소비된 칼로리는 각각의 음식 품목의 소비된 그래프, 및 그의 영양소 함량에 기초하여 추정될 것이다. 24시간 칼로리 섭취량에 있어서 일수 -1부터 일수 3까지의 변화가 평가될 것이다. 음식 섭취량이 기록되지 않는 날(일수 -2, 1, 2, 4, 및 5)의 경우, 매 식사(조식 및 간식을 포함함)마다 일수 -1 및 3에 제공된 식사와 상이하여야 한다.

[0779] 식욕 등급(배고픔, 갈증, 구역 및 포만감)을 평가하기 위한 VAS 설문은 일수 -1 및 일수 3에서는 깨어 있는 시간 동안 매시간마다, 일수 1, 2, 4 및 5에서는 깨어 있는 시간 동안 매 3시간마다, 그리고 매 식사마다 직전 및 종료 시점에서(일수 -1 내지 일수 5) 투여될 것이다. 음식 기호성(이는 가능한 음식 혐오도(food aversion)를 나타낼 수 있음)을 평가하기 위한 VAS 설문은 식사의 음식 냄새, 맛 및 식감의 유쾌함에 관한 질문을 포함할 것이며, 대상체가 매 식사마다(일수 -1 내지 일수 5) 주 앙트레를 처음으로 한 입 먹은 직후에 그에 의해 작성될 것이다. VAS 설문이 실시될 시점들의 상세한 설명에 대해서는, 음식 섭취량 및 VAS 설문에 대한 시간 및 이벤트 일정을 참조한다.

[0780] **9.6. 안전성 평가**

[0781] **9.6.2. 임상 실험실 검사**

[0782] 화학적 검사, 혈액학적 검사, 응고 검사, 지질 검사를 위한 공복 혈액 샘플 및 소변검사를 위한 소변 샘플이 수집될 것이다. 대상체는 모든 실험실 샘플 수집 전 적어도 10시간 동안 하룻밤 공복 상태일 것이다. 임상 실험실 평가의 시간에 대해서는, 시간 및 이벤트 일정을 참조한다. 연구자는 실험실 결과를 검토하고, 이러한 검토를 문서로 기록하고, eCRF의 유해 사건 섹션에 본 연구 동안 발생한 임의의 임상적으로 관련된 변화를 기록할 것이다. 실험실 보고서는 근거 문서와 함께 파일링될 것이다.

[0783] 하기 검사가 현지 실험실에 의해 수행될 것이다:

[0784] **혈액학적 검사 패널**

[0785] - 헤모글로빈 - 혈소판 카운트

[0786] - 적혈구용적률 - % 망상적혈구

[0787] - 적혈구(RBC) 카운트

[0788] - 감별 백혈구(WBC) 카운트

[0789] 주: WBC 평가는 임의의 비정상 세포를 포함할 수 있으며, 이어서 이러한 비정상 세포는 실험실에 의해 보고될

것이다. RBC 평가는 RBC 카운트, RBC 파라미터, 또는 RBC 모폴로지에서의 비정상을 포함할 수 있으며, 이어서 이러한 비정상은 실험실에 의해 보고될 것이다. 게다가, 혈액 도말검사에서의 임의의 다른 비정상 세포가 또한 보고될 것이다.

[0790] 응고 검사 패널

[0791] - 활성화된 부분 트롬보플라틴 시간(aPTT)

[0792] - 프로트롬빈 시간(PT)

[0793] 화학적 검사 패널

[0794] - 나트륨 - 알칼리성 포스파타제

[0795] - 칼륨 - 크레아틴 포스포키나제(CPK)

[0796] - 클로라이드 - 락트산 데하이드로게나제(LDH)

[0797] - 바이카르보네이트 - 요산

[0798] - 혈액 우레아 질소(BUN) - 칼슘

[0799] - 크레아티닌 - 포스페이트

[0800] - 글루코스 - 알부민

[0801] - 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제(AST) - 총 단백질

[0802] - 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) - 마그네슘

[0803] - 감마-글루타밀트랜스퍼라제(GGT)

[0804] - 총 빌리루빈

[0805] - 직접 빌리루빈*

[0806] * 총 빌리루빈이 상승되는 경우에만

[0807] 지질 검사 패널

[0808] - 총 콜레스테롤 - 고밀도 지질단백질(HDL)-콜레스테롤

[0809] - 트라이글리세라이드 - 저밀도 지질단백질(LDL)-콜레스테롤

[0810] 소변검사

딥스틱

- 비중
- pH
- 글루코스
- 단백질
- 혈액
- 케톤
- 빌리루빈
- 우로빌리노겐
- 니트라이트
- 백혈구 에스테라제

침전물

(딥스틱 결과가 비정상인 경우)

- 적혈구
- 백혈구
- 상피 세포
- 결정
- 원주(cast)
- 세균

[0811] 딥스틱 결과가 비정상인 경우, 침전물을 측정하기 위해 현미경법이 사용될 것이다.

[0812] 현미경법 검사에서, WBC, RBC 및 원주의 존재 이외의 관찰이 또한 실험실에 의해 보고될 수 있다.

[0814] 기타 실험실 검사

[0815] 하기 실험실 검사는 시간 및 이벤트 일정에 나타난 시점에서 수행될 것이다:

- [0816] 혈청 및 소변 임신 검사(β -hCG)는 모든 여성에 대해 수행될 것이다.
- [0817] FSH(여성만), TSH 및 HbA1c
- [0818] 혈청학적 검사(HIV 1 및 2 항체, HBsAg, 및 항-HCV 항체)
- [0819] 소변 약물(암페타민, 바르비투레이트, 벤조다이아제핀, 카나비노이드, 코카인, 아편, 메타돈) 및 코티닌 스크리닝
- [0820] 알코올 호흡 검사
- [0821] **9.6.3. 심전도**
- [0822] 시간 및 이벤트 일정에 명시된 바와 같이 표준 12-리드 ECG가 수집될 것이다. 각각의 ECG는 연구 현장에서 인쇄되고 대상체의 의료 파일에 저장될 것이다. 게다가, ECG 데이터는 ICH E14 권장사항에 따른 중앙집중형 분석을 위해 특수화된 ECG 실험실(독일 뮌헨 소재의 Nabios GmbH)로 전자적으로 전달될 것이다. ECG 분석 방법에 관한 세부사항, 판독 시기 및 용량-점증 회의에 대한 결과의 전달 및 포맷이 별개의 ECG 매뉴얼에 상세히 설명될 것이다.
- [0823] 12-리드 ECG는, 대상체가 적어도 5분 동안 누운 자세로 조용하게 쉬고, 말을 하지 않거나 팔 또는 다리를 움직이지 않은 후에 매 시점에서마다 2분 미만의 간격으로 3회 반복하여 기록될 것이다. ECG의 수집 동안, 대상체는 집중을 방해하는 활동(예를 들어, 텔레비전, 휴대폰) 없이 조용하게 앉은 상태로 있어야 한다. 다수의 평가가 동일한 시점에 일정이 잡혀 있는 경우, 그리고/또는 하나 이상의 평가가 식사와 동일한 시간에 일정이 잡혀 있는 경우, 절차들은 다음 순서로 수행될 것이 권장된다: 바이탈 사인, ECG, PK, 채혈, 식욕 등급에 대한 VAS 설문, 식사, 및 음식 기호성에 대한 VAS 설문(음식을 처음으로 한 입 먹은 후). PK 평가에 대한 혈액 수집은 가능한 한 명시된 시간에 가깝게 유지되어야 한다. ECG가 PK와 동일한 시점에서 수행되어야 할 때, PK 검체는 ECG의 완료 직후에 채취되어야 한다. 다른 측정들이 필요하다면 명시된 시점보다 더 빨리 행해질 수 있다. 동일한 시점에서의 다수의 평가의 순서는 본 연구 전체에 걸쳐 동일해야 한다.
- [0824] ECG는 더 정확한 QTc 간격 변화 평가를 위하여 일정이 잡힌 매 시점에서마다 3회 반복하여 행해질 것이다. 일수 -1에서 획득된 ECG는 일수 1에서 획득된 ECG와 시간-매칭되어야 한다. 3개의 반복된 ECG가 요구되는 매 시점에서마다, 3개의 개별 ECG 트레이싱이 연속해서, 그러나 2분 이하의 간격으로 가능한 한 가깝게 획득되어야 한다. 3개의 반복물의 풀 세트는 4분 이내에 완료되어야 한다.
- [0825] 일수 -1에서의 매 시점에서마다의 3회 반복 측정의 평균은 일수 1에서의 상응하는 파라미터에 대한 각각의 대상체의 시간-매칭된 기저선 값으로서의 역할을 할 것이다.
- [0826] ECG의 현장의 중앙 판독 프로세스(off-site central reading process)와는 별도로, 각각의 ECG는, 수집 후에, 가능한 임상 안전성 관련성(예를 들어, QTc 간격 연장)의 조사결과에 대해 유자격 연구 현장 의사에 의해 검토되어야 한다. 임의의 병리학적 조사결과 및 각각의 의학적 개입(존재하는 경우)이 eCRF에 문서로 기록될 것이다.
- [0827] **9.6.4. 연속 리드 II ECG 모니터링(파트 2만)**
- [0828] 연속 리드 II ECG 모니터링은 단지 파트 2에서 일수 1에서 IV 주입을 시작하기 전 30분부터 주입 완료 후 2시간까지 수행될 것이다. 연구자(또는 지정자)의 재량으로, 연속 리드 II ECG 모니터링이 연장될 수 있다. 이들 데이터는 실시간 시각적 모니터링을 위한 것이며, ECG 모니터링 장치에 의해 또는 연구자에 의해 검출된 임의의 비정상은 인쇄되고 근거 데이터로서 보유될 것이다. 비정상이 확인된 후에는 가능한 한 곧바로 일정에 없던 12 리드 ECG 측정이 또한 수행되어야 한다. 임의의 임상적으로 유의한 비정상은 유해 사건으로 기록될 것이다.
- [0829] **9.6.5. 바이탈 사인**
- [0830] 혈압 및 HR 측정은 완전 자동화 진동측정 장치를 사용하여 누운 자세에서 평가될 것이다. 자동화 장치가 이용 가능하지 않은 경우에만 수동 기법이 사용될 것이다. 바이탈 징후는(IV 주입 시간 동안은 제외하고는) 혈액 샘플이 수집되고 있는 팔의 반대쪽 팔을 사용하여 측정되어야 한다.
- [0831] 혈압 및 HR 측정 전에는 집중을 방해하는 활동(예를 들어, 텔레비전, 휴대폰) 없이 조용하게 앉은 상태로 적어도 5분 동안 쉬었다. 모든 시점에서, 단회 BP 및 HR 측정이 수행되고 기록될 것이다.
- [0832] 체온 측정(즉, 고막)에 대한 동일한 방법이 연구 지속기간 전체에 걸쳐 모든 대상체에 대한 모든 측정에 사용할

것이다.

[0833] 이들 검사의 시점은 시간 및 이벤트 일정에 명시되어 있다.

[0834] 9.6.6. 신체 검사

[0835] 완전한 신체 검사는 전반적인 외관, 신경학적, 눈, 귀/코/목구멍, 갑상선, 심혈관, 호흡, 복부/위장, 간, 근골격계, 및 피부과 검사를 포함한 일상적인 의료 검사를 포함한다.

[0836] 간단한 신체 검사는 피부, 호흡계, CV계, 복부(간, 비장) 및 CNS의 평가를 포함한다.

[0837] 이들 검사의 시점은 시간 및 이벤트 일정에 명시되어 있다. 스크리닝에서 기재되지 않은 (연구자의 견해에서의) 새로운 임상적으로 유의한 조사결과는 AE로서 기록될 것이다.

[0838] 9.6.7. 알레르기 반응/전신성 과민성

[0839] 모든 대상체는 본 연구 동안 임의의 알레르기 반응의 발생에 대해 그리고 파트 2에서의 IV 연구 약물 투여 동안 임의의 주입 반응에 대해 관찰되고 신중하게 모니터링될 것이다.

[0840] 의사는 연구 약물의 투여 동안 항상 현장에서 즉시 이용가능할 것이다.

[0841] 모든 대상체는 시간 및 이벤트 일정에 나타난 바와 같이 IV 투여 동안 및 IV 투여 후에 주입 반응의 증상에 대해 신중하게 관찰될 것이다. 연구자는 임의의 주입 반응의 강도를 평가하는 데 있어서 임상적 판단을 사용해야 한다.

[0842] 주입 반응이 관찰되는 경우, 경구 파라세타몰 및/또는 경구/IV 항히스타민제 및/또는 흡입형 β -효능제 및/또는 IV 코르티코스테로이드 및/또는 IV 에피네프린과 같은 치료제가 알레르기 반응의 성질 및 증상의 중증도에 따라 투여될 수 있다. 하기 예방조치가 파트 2에서의 연구 약물의 IV 투여 동안 적용되어야 한다:

[0843] 주입이 시작되기 전에, 적절한 개인 투약물(예를 들어, 에피네프린, 흡입형 β -효능제, 항히스타민제, 및 코르티코스테로이드), 및 아니필락시스를 포함한 알레르기 반응을 치료하기 위한 주입 용액과 같은 다른 요건이 이용가능할 것이다.

[0844] 대상체가 중등도 또는 중도 주입 반응을 갖는 경우, 주입은 즉각적으로 종결되어야 하며, 대상체는 기관 가이드라인에 따라 적절하게 치료되어야 한다.

[0845] 주입 반응으로 인해 본 연구 약물을 중단하는 대상체는 연구 종료 방문까지 일정이 잡힌 모든 방문에서 필요한 평가를 위해 복귀하도록 요청받을 것이다.

[0846] 연구 약물 투여 후의 반응은 주입 또는 주사 후 1 내지 21일에 일어날 수 있고, 제시는 징후 및 증상에서 변동성이 클 수 있으며 항상 명백한 것은 아니다(열 및/또는 발진을 동반하는 근육통 및/또는 관절통[이들은 다른 인식된 임상 증후군의 징후 및 증상을 나타내지 않음]을 포함하지만 이로 한정되지 않으며, 소양증, 얼굴, 손, 또는 입 부종, 연하곤란, 두드러기, 인후통, 및/또는 두통을 포함한 다른 증상이 수반될 수 있음). 임의의 알레르기 반응 또는 과민증은 AE로서 기록되어야 하며 반응의 유형이 표시되어야 한다. 대상체가 지연된 주입 또는 주사 반응을 경험하는 경우에, 대상체는 일정에 없던 추가 샘플(염증성 마커를 위한 소변, 혈청, 및 혈장)을 제공하도록 요청받을 것이다. 지연된 과민증 반응을 시사하는 유해 사건(들)의 개시에 가능한 한 가깝게 이들 샘플을 수집하기 위한 모든 시도가 이루어져야 한다. 이들 샘플은 증상의 병인을 알아내려고 시도하고 이해하는 데 사용될 것이다. 피부 반응(즉, 발진)이 관찰된 경우, 대상체는 피부 생검의 획득에 대한 허가를 요청받을 것이며, 이 역시 발진의 원인을 더 잘 이해하는 데 사용되기 위한 것이다.

[0847] 9.6.8. 국부 주사 부위 반응(파트 1)

[0848] SC 연구 약물 투여 후의 주사 부위는 시간 및 이벤트 일정에 나타난 시점에서의 국부 주사 부위 반응에 대해 평가될 것이다.

[0849] 임의의 유해 반응(예를 들어, 통증, 홍반, 및/또는 경결)은 문서로 기록되어야 하며, 하기 4개의 파라미터에 기초하여 "Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials"⁷에 기재된 바와 같이 특성화되어야 한다: 1) 통증 정도, 2) 압통, 3) 홍반/발적, 4) 경결/종창. 하기 표 70에서의 세부사항을 참조한다.

[0850] [표 70]

주입 반응 및 국부 주사 부위 반응에 대한 독성 등급 척도

주사용 제품에 대한 국부 반응	경도 (등급 1)	중등도 (등급 2)	중도 (등급 3)	잠재적으로 생명 위협 (등급 4)
통증	활동을 방해하지 않음	24 시간 초과 의 비마약성 통증 완화제의 반복된 사용 또는 활동을 방해함	마약성 통증 완화제의 임의의 사용 또는 일상 활동을 방해함	ER 방문 또는 입원
압통	접촉에 대한 약간의 불편함	움직임에 따른 불편함	움직이지 않을 때 상당한 불편함	ER 방문 또는 입원
홍반/발적 ^a	2.5 내지 5 cm	5.1 내지 10 cm	10 cm 초과	괴사 또는 박탈성 피부염
경결/종창 ^b	2.5 내지 5 cm 이고, 활동을 방해하지 않음	5.1 내지 10 cm 이거나, 활동을 방해함	10 cm 초과이거나, 일상 활동을 방해함	괴사

ER = 응급실

^a 최대 단일 직경에서 측정된 국부 반응을 등급을 매기는 것에 더하여, 측정은 연속 변수로서 기록되어야 한다.

^b 경결/종창은 기능 척도(functional scale)뿐만 아니라 실제 측정을 사용하여 평가되고 등급이 매겨져야 한다.

[0851] 시각적 조사결과(예를 들어, 발적, 경결, 종창)를 동반하는 AE로서 기록된 모든 국부 주사 부위 반응은 추후 평가를 위해 미터자(metric ruler)와 함께 사진촬영될 것이다.

[0852] 9.7. 샘플 수집 및 취급

[0853] 샘플 수집의 실제 날짜 및 시간은 eCRF에 기록될 것이다. 혈액 샘플이 유지 캐놀라를 통해 수집되는 경우, 로크의 무용 공간 부피(dead space volume)보다 약간 더 큰 적절한 양(1 mL)의 장액혈액성 유체가 캐놀라로부터 추출되고 각각의 혈액 샘플을 채취하기 전에 폐기될 것이다. 혈액 샘플 수집 후에, 캐놀라는 0.9% 염화나트륨으로 플러싱되고, 로크의 무용 공간 부피와 동일한 부피로 충전될 것이다. 만다린(폐색장치)이 사용되면, 폐기로 인한 혈액 손실이 예상되지 않는다. 헤파린에 의한 플러싱은 허용되지 않는다.

[0854] 모든 샘플 수집의 시기 및 빈도에 대해서는 시간 및 이벤트 일정을 참조한다.

[0855] 샘플의 수집, 취급, 저장, 및 수송에 대한 지시사항은 제공될 실험실 매뉴얼에서 찾아볼 수 있다. 샘플의 수집, 취급, 저장, 및 수송은 실험실 매뉴얼에 나타난 바와 같은 명시된, 그리고 적용가능한 경우 제어된 온도 조건 하에 있을 것이다.

[0856] 10. 대상체 완료/연구 치료의 중단/본 연구로부터의 탈퇴

[0857] 10.1. 완료

[0858] 대상체는 그 또는 그녀가 연구 종료 방문의 평가를 작성하였다면 본 연구를 완료한 것으로 간주될 것이다.

[0859] 10.2. 연구 치료의 중단/본 연구로부터의 탈퇴

[0860] 대상체는 하기 이유 중 임의의 이유로 본 연구로부터 자동으로 탈퇴될 것이다:

[0861] 추적관찰 소실

[0862] 동의 철회

[0863] 사망

[0864] 대상체가 외래환자 기간의 종료 전에 임의의 이유로 본 연구로부터 탈퇴하는 경우에는, 연구 종료 평가가 이루어져야 한다. 대상체가 연구 종료 방문까지 임의의 방문을 위해 기꺼이 복귀하는 경우, 허용되는 바와 같이 임의의 추가 정보가 수집될 것이고 임의의 절차가 수행될 것이다.

[0865] 대상체가 추적관찰 소실인 경우, 연구 현장 직원은 대상체에게 연락하고 중단/탈퇴의 이유를 결정하기 위해 모든 합리적인 노력이 실행될 것이다. 추적관찰을 위해 취해진 조치는 문서로 기록될 것이다.

[0866] 대상체가 본 연구를 완료하기 전에 탈퇴하는 경우, 탈퇴의 이유가 eCRF 및 근거 문서에 문서로 기록되어야 한다. 탈퇴한 대상체에게 배정된 연구 약물은 다른 대상체에게 배정되지 않아도 된다. 탈퇴한 대상체는 대체될 수 있다.

- [0867] PI 또는 스폰서가 (예를 들어, 안전성 이유로 또는 내약성 이유로) 추가의 연구 참여를 중단하는 것이 대상체의 최상의 관심에 있는 것이라고 여기는 경우, 이는 허용되지만, 대상체는 연구 종료 방문까지 여전히 연구 평가를 작성해야 한다.
- [0868] **11. 통계학적 방법**
- [0869] 통계학적 분석은 스폰서에 의해 또는 스폰서의 권한 하에 수행될 것이다.
- [0870] 본 연구의 탐구적 및 서술적 성질로 인해 공식 가설 검정은 계획되지 않는다.
- [0871] **11.1. 대상체 정보**
- [0872] 연구 약물의 적어도 부분 용량을 제공받은 모든 대상체는 기술 통계량 및 안전성의 분석에 포함될 것이다.
- [0873] **11.2. 샘플 크기 결정**
- [0874] FP2에 대해 이용가능한 인간 PK 데이터는 없으며, 이에 따라, 이러한 초기 FIH 1상 연구에 있어서, 공식적인 샘플 크기 계산은 수행하지 않았다. 각각의 용량군에 대해 계획된 대상체의 수는 신약의 단회 상승 용량 1상 연구에서의 통상적인 샘플 크기와 일치하며, 여기서 이러한 연구의 1차 목적은 안전성 및 내약성이며, 2차 목적 중 하나는 PK 프로파일을 평가하는 것이다. 각각의 용량군 내에서, 6명의 대상체는 FP2에 무작위 배정될 것이고, 2명의 대상체는 플라세보에 무작위 배정될 것이며; 이에 따라, 활성 연구 약물 대 플라세보 비는 각각의 용량군 내에서 3:1일 것이다. 계획된 대상체의 수는 FP2의 안전성, 내약성, 및 약동학적 특성에 대한 충분한 정보를 제공하여 추가의 임상 개발에 대한 잠재성의 평가를 가능하게 할 것으로 예상된다. 용량군당 플라세보를 제공받은 2명의 대상체는 각각의 용량 수준에서 안전성 및 내약성의 판단을 가능하게 하기에 충분해야 하며, 적절한 경우, 플라세보 대상체는 데이터 분석 목적을 위하여 본 연구의 완료 시점에서 풀링될 것이다. 이질 분산 (heterogeneous variance)과 같은 문제로 인해 플라세보 대상체를 풀링하는 것이 적절하지 않는 경우, 모든 데이터가 분석에 사용될 수 있도록 대안적인 통계학적 방법이 탐구될 수 있다(로그 변환 등).
- [0875] 용량 수준당 FP2로 치료된 6명의 대상체의 샘플 크기는 안전성 징후(예를 들어, 과민증)의 확률을 추정하기에 충분하다. 약 10%의 안전성 징후의 진성 위험(true risk)을 가정하면, 활성 약물을 제공받은 6명의 대상체는 약 47%의 확률로 적어도 1건의 사건을 검출할 수 있게 하고; 한편 약 50%의 위험을 가정하면, 적어도 1건의 사건을 검출할 확률은 대략 98%이다.
- [0876] 약동학적 파라미터의 경우, 파트 2에서 FP2의 IV 투여를 제공받은 6명의 대상체(3명의 남성; 3명의 여성)는 절대 생체이용률의 추정에 대해 적절한 정밀도를 제공할 것으로 예상된다. 6명의 대상체의 샘플 크기는 IV 투여 시에 FP2 AUC를 추정하기에 적절한 정밀도를 제공하고, SC 투여 형태의 약제학적 품질 속성의 평가를 위한 벤치마크로서의 역할을 할 것으로 예상된다.
- [0877] **11.3. 약동학적 분석**
- [0878] 적어도 1회 용량의 연구 약물을 제공받고, 투여 후 적어도 하나의 PK 및 면역원성 샘플이 수집된 모든 대상체는 PK 데이터의 분석 및 보고에 포함될 것이다. 대상체는, 그들의 데이터가 PK의 정확한 평가를 가능하게 하지 않는 경우에(예를 들어, 연구 약물의 불완전한 투여; 투여 및 샘플링 시간의 정보 누락; PK 파라미터 계산에 충분하지 않은 농도 데이터), PK 분석으로부터 제외될 것이다.
- [0879] 각각의 샘플링 시점에서의 FP2 혈청 농도를 요약하기 위하여 그리고 또한 각각의 DG에 대한 FP2 PK 파라미터를 위하여 기술 통계량(평균, 중위, 표준 편차 및 변동 계수)이 사용될 것이다. 최저 정량화가능 농도 미만(BLQ)의 모든 혈청 농도는 요약 통계량에서 0으로 귀속될 것이며, PK 분석으로부터 제외된 모든 대상체 및 샘플은 명확하게 문서로 기록될 것이다. PK 파라미터는 또한 DG에 따라 요약될 것이다.
- [0880] 연구 약물 투여 후 완전한 프로파일 위에 평균 및/또는 중위 혈청 FP2 농도 시간 프로파일을 도표로 나타낼 것이다. 평균 도표에 대해, BLQ 값은 0으로 설정될 것이다. 개별 혈청 농도 시간 프로파일의 경우, 최초로 측정된 농도까지의 BLQ 값은 0으로 설정될 것이고, 마지막 측정된 농도 후에 분석으로부터 제거될 것이다.
- [0881] PK 데이터의 통계학적 분석은 적어도 1회의 FP2 용량을 제공받은 모든 대상체에 대해 수행될 것이다. 용량 비례성을 시각적으로 평가하기 위하여 기하 평균 C_{max} 및 AUC를 용량에 대해 도표로 나타낼 것이다. FP2의 SC 투여 시의 용량 비례성은 자연 로그 변환된 C_{max} 및 AUC 데이터의 선형 회귀 분석(역승 모델(power model))을 사용하여 조사될 수 있다. 데이터의 추가 분석이 필요에 따라 수행될 수 있다.

- [0882] 절대 SC 생체이용률은 전신적으로 이용가능한 투여된 용량의 분율로서 계산될 것이며, 이는 백분율로서 표현된다. 개별 생체이용률을 조사하기 위하여, IV 투여군으로부터의 용량-정규화된 AUC_{inf} 의 기하 평균에 대한 SC 투여군으로부터의 개별 용량-정규화된 AUC_{inf} 의 비가 계산되고 백분율로서 표현될 것이다. 적절하다고 여겨지는 경우, 부분 $AUC_{(0-4 \text{ weeks})}$ 가 AUC_{inf} 대신 사용될 수 있다. FP2의 절대 SC 생체이용률은 전술된 개별 절대 SC 생체이용률의 평균을 계산함으로써 도출될 것이다. 개별 절대 SC 생체이용률의 95% 신뢰 구간 및 도표가 또한 조사될 수 있다.
- [0883] **11.4. 면역원성 분석**
- [0884] 항-FP2 항체의 발생률은, 적어도 1회 용량의 FP2를 제공받고 FP2에 대한 항체의 검출에 적절한 샘플을 갖는 모든 대상체(즉, 적어도 1개의 샘플이 FP2 투여 후에 얻어진 대상체)에 대해 요약될 것이다.
- [0885] FP2에 대한 항체에 대해 양성인 대상체들의 목록이 제공될 것이다. FP2에 대한 항체의 최대 역가가 또한 FP2에 대한 항체에 대해 양성인 대상체들에 대해 보고될 것이다.
- [0886] FP2에 대한 중화 항체(NAb)의 발생률은, FP2에 대한 항체에 대해 양성이고 FP2에 대한 NAb에 대해 평가가능한 샘플을 갖는 대상체에 대해 요약될 것이다.
- [0887] **11.5. 약력학적 분석(체중, 음식 섭취량) 및 탐색용 PD 평가(VAS) 및 바이오마커**
- [0888] 약력학적 분석은, 적어도 1회 용량의 연구 약물(FP2 또는 플라세보)을 제공받고, 치료 후 적어도 1회의 PD 평가를 가진 모든 대상체에 대해 수행될 것이다. 각각의 용량에 대해, 매 시점에서마다 각각의 PD 종점(예를 들어, 체중, 음식 섭취량) 및 탐구 PD 결과(VAS) 및 바이오마커 파라미터에 대한 기술 통계량이 계산될 것이다. 파라미터들은, 용량 관련 효과의 시각적 평가를 위하여 매 종점마다에 대해 계획된 샘플링 시간 대비 용량에 의해, 1) 각각의 대상체에 대해, 그리고 2) 평균값 $\pm$ 표준 편차(또는 다른 적절한 요약 척도)로서 그래프로 나타낼 수 있다. 추가의 기술 통계량 분석은 선택된 약력학적 및 탐색용 바이오마커의 변화 및 이들의 기저선(즉, 투여 전) 값으로부터의 % 변화를 포함할 수 있다.
- [0889] 약력학적 및 탐색용 바이오마커는 단회 상승 용량, 순차적 패널 설계에 적절한 혼합-효과 모델을 사용하여 분석될 수 있다. 혼합-효과 모델은 대상체에 대한 무작위 인자(random factor)와 함께, 치료, 방문, 방문에 의한 치료 상호작용(treatment by visit interaction), 기저선, 및 방문에 의한 기저선 상호작용(baseline by visit interaction)에 대한 고정 인자(fixed factor)를 포함할 수 있다. 기저선 공변량이 또한 모델 내에 포함될 수 있다(예를 들어, 연령, 성별, 체중 등). 적절하다면, 기저선으로부터의 최소 제곱 평균 변화의 차이(치료제 - 풀링된 플라세보) 및 평균에서의 차이에 대한 90% 신뢰 구간이 선형 모델로부터의 평균 제곱 오차를 사용하고 t-분포를 참조함으로써 얻어질 수 있다. 기저선(투여 전)으로부터의 PD/바이오마커 종점 변화에 대한 최소 제곱 평균 및 90% 신뢰 구간이 또한 치료군에 의해 계산될 수 있다.
- [0890] 추가의 탐구 분석이 필요에 따라 수행될 수 있다. VAS와 같은 PD 파라미터는 전술된 선형 혼합-효과 모델에서의 분석 전에, 곡선 아래 면적(사다리꼴 방법) 또는 시간 가중 평균(time weighted average)을 사용하여 방문 내에서 시간 경과에 따라 요약될 수 있다.
- [0891] **11.6. 약동학적/약력학적 분석**
- [0892] PK 데이터와 PD 데이터 사이의 관계가 조사될 수 있다. 적절할 경우, 혈청 약물 농도 및 상응하는 PD 측정치를 도표로 나타내어 그들의 관계를 평가할 수 있다. 적절하다고 여겨지는 경우, 노출 효과 관계를 설명하기 위해 적합한 모델이 적용될 수 있다.
- [0893] PK/PD 관계는 그래프에 의해 조사될 수 있고, 적절하다고 여겨지는 경우, 적합한 통계학적 방법을 사용하여 추가로 분석할 수 있다. PD 변수(예를 들어, 체중, 음식 섭취량, VAS)에 대한 PK 노출(C_{max} 및/또는 AUC_{inf})이 그래프로 조사할 수 있다. 이러한 관계의 그래픽 표현이 합리적인 것으로 여겨지는 경우, 이들 데이터는 적합한 모델을 사용하여 통계학적으로 분석될 수 있다.
- [0894] 안전성 변수(예를 들어, ECG 반응)에 대한 PK 노출(C_{max} 및/또는 AUC_{inf})이 그래프로 조사할 수 있다. 이러한 관계의 그래픽 표현이 합리적인 것으로 여겨지는 경우, 이들 데이터는 적합한 모델을 사용하여 통계학적으로 분석될 수 있다.
- [0895] **11.7. 안전성 분석**

- [0896] FP2 또는 플라세보의 적어도 1회의 용량을 제공받은 모든 대상체의 안전성 데이터의 보고는 혈압, 심박수, 임상 실험실 데이터, 및 투여 전부터 최종 투여 후 시점까지의 12-리드 ECG 데이터의 절대값 및 이들의 변화와 함께, 유해 사건의 발생률 및 유형을 포함할 것이다.
- [0897] **유해 사건**
- [0898] 유해 사건을 확인하기 위해 연구자에 의해 eCRF에 사용된 축어적 용어는 MedDRA(국제 의학 용어 사전)를 사용하여 코딩될 것이다. 연구 약물-유발 유해 사건은 개입 단계 동안 개시된 유해 사건이거나 기저선 이후에 악화된 기존 질환의 결과인 유해 사건이다. 모든 보고된 유해 사건은 분석에 포함될 것이다. 각각의 유해 사건에 대하여, 주어진 사건의 적어도 1회 발생을 경험한 대상체의 백분율이 개입군에 따라 요약될 것이다. 게다가, 적절한 경우, 개입군들 사이의 비교가 제공될 것이다.
- [0899] 사망하거나, 유해 사건으로 인해 연구 약물을 중단하거나, 중증 또는 심각한 유해 사건을 경험하는 대상체에 대해서는, 적절한 경우, 요약, 목록, 데이터세트, 또는 대상체 서술이 제공될 수 있다.
- [0900] **임상 실험실 검사**
- [0901] 실험실 데이터가 실험실 검사의 유형에 따라 요약될 것이다. 기준 범위 및 현저하게 비정상적인 결과(통계학적 분석 계획에 명시됨)가 실험실 데이터의 요약에 사용될 것이다. 기저선에서 각각의 실험실 분석물에 대해, 그리고 일정이 잡힌 때 시점에서마다 관찰값 및 기저선으로부터의 변화에 대해 기술 통계량이 계산될 것이다. 기저선 결과로부터의 변화는 개입 전 vs. 개입 후 교차분석(pre- versus post-intervention cross-tabulation)(정상 범위 미만, 이내, 및 초과에 대한 부류를 가짐)으로 제시될 것이다. 참조 범위 밖의 임의의 실험실 결과를 갖는 대상체들의 목록이 제공될 것이다. 임의의 현저하게 비정상적인 실험실 결과를 갖는 대상체들의 목록이 또한 제공될 것이다.
- [0902] **심전도(ECG)**
- [0903] 분석될 ECG 변수는 HR, PR 간격, QRS 간격, QT 간격, 및 하기 보정 방법을 사용한 보정된 QT(QTc) 간격이다: 바제트(Bazett) 식에 따라 보정된 QT(QTcB), 프리데리시아 식에 따라 보정된 QT(QTcF).^{1,19,14,16}
- [0904] QTc 간격 및 기저선으로부터의 변화의 기술 통계량이 일정이 잡힌 때 시점에서마다 요약될 것이다. QTc 간격이 450 ms 초과, 480 ms 초과, 또는 500 ms 초과인 대상체의 백분율이 요약될 것이며, 이는, 기저선으로부터 30 ms 초과 또는 60 ms 초과로 QTc 간격 증가를 갖는 대상체의 백분율도 마찬가지일 것이다.
- [0905] 기저선 판독치로부터의 변화인 ECG 파형에서의 모든 임상적으로 관련된 비정상이 보고될 것이다(예를 들어, T-파 형태의 변화 또는 U-파의 발생).
- [0906] JNJ-64379090 혈청 농도와 1차 종점 $\Delta \Delta QTc$ (시간-매칭된 기저선 QTc로부터의 플라세보-보정된 변화) 사이의 관계는, 적용가능한 경우, 선형 또는 비선형 혼합-효과 모델링 접근법을 사용하여 정량화될 수 있다.
- [0907] **바이탈 사인**
- [0908] HR, 및 혈압(수축기 및 확장기)(누운 자세) 값 및 기저선으로부터의 변화의 기술 통계량이 일정이 잡힌 때 시점에서마다 요약될 것이다. 임상적으로 중요한 한계치를 넘는 값을 갖는 대상체의 백분율이 요약될 것이다.
- [0909] **신체 검사**
- [0910] 기저선으로부터의 변화의 기술 통계량이 일정이 잡힌 때 시점에서마다 요약될 것이다.
- [0911] **11.8. 중간 분석/데이터 검토 위원회**
- [0912] 중간 분석은 계획되지 않는다. 그러나, 용량-점증 결정을 행할 목적으로 각각의 용량군이 완료된 후에 연구 팀에 의해 맹검된 데이터 검토가 수행될 수 있다.
- [0913] **12. 유해 사건 보고**
- [0914] 임상 연구로부터의 안전성 정보의 시기적절하고 정확하고 완전한 보고 및 분석은 대상체, 연구자, 및 스폰서의 보호에 있어서 중요하며, 전세계적인 규제 기관에 의해 법으로 규정되어 있다. 스폰서는 안전성 정보의 적절한 보고를 보장하기 위하여 전세계적인 규제 요건에 부합하는 표준 운영 절차를 확립하였으며; 스폰서 또는 그의 계열사에 의해 수행된 모든 임상 연구는 이들 절차에 따라 수행될 것이다.

- [0915] **유해 사건 및 심각한 유해 사건의 검출 방법**
- [0916] AE 또는 SAE를 검출할 때 편향을 도입하지 않도록 주의해야 할 것이다. 대상체의 개방형 및 비유도 구두 질문(open-ended and nonleading verbal questioning)은 유해 사건 발생에 관해 질의하기에 바람직한 방법이다.
- [0917] **예측된 유해 사건(Solicited Adverse Event)**
- [0918] 예측된 AE는 대상체에게 특별히 질문되는 미리 규정된 국부 및 전신 사건이다. 이 연구에서는, 국부 주사 부위 반응(예컨대, 통증 또는 가려움)이 시간 및 이벤트 일정에 명시된 바와 같이 예측될 것이다.
- [0919] **예측되지 않은 유해 사건(Unsolicited Adverse Event)**
- [0920] 예측되지 않은 AE는 자발적으로 보고된 모든 유해 사건(즉, 대상체에게 특별히 질문되지 않음)이다.
- [0921] **12.1. 정의**
- [0922] **12.1.1. 유해 사건의 정의 및 분류**
- [0923] **유해 사건**
- [0924] 유해 사건은 의약품(시험용 또는 비시험용)을 투여한 임상 연구 대상체에서의 임의의 바람직하지 않은 의료 사건이다. 유해 사건이 개입과 반드시 인과 관계를 가져야 하는 것은 아니다. 따라서, 유해 사건은 의약품(시험용 또는 비시험용)에 관련되든 아니든 관계 없이, 그러한 의약품(시험용 또는 비시험용)의 사용과 일시적으로 관련된 임의의 불리하고 의도되지 않은 징후(이상 소견을 포함함), 증상, 또는 질병일 수 있다. (국제의약품규제조사위원회[ICH]에 따른 정의)
- [0925] 이는 발병 시 새로운 또는 기저선 조건으로부터 중증도 또는 빈도에 있어서 악화된 임의의 발생, 또는 실험실 검사 이상을 포함한 진단 절차들의 비정상적인 결과를 포함한다.
- [0926] 스폰서는 ICF의 서명을 시작으로 유해 사건을 수집한다.
- [0927] **심각한 유해 사건**
- [0928] ICH 및 EU 가이드라인(Guidelines on Pharmacovigilance for Medicinal Products for Human Use)에 기초한 심각한 유해 사건은 임의의 용량에서 하기가 일어나는 임의의 바람직하지 않은 의료 사건이다:
- [0929] 사망에 이름
- [0930] 생명 위협이 있음
- [0931] (대상체는 사건 시점에서 사망 위협이 있었다. 그것은, 사건이 더 심각하였다면 가설적으로 사망을 야기하였을 수 있는 사건을 지칭하지 않는다.)
- [0932] 입원환자로서의 입원 또는 기존 입원의 연장을 필요로 함
- [0933] 지속적 또는 유의한 불능/무능을 초래함
- [0934] 선천성 이상/출생 결함
- [0935] 의약품을 통한 임의의 감염성 인자의 의심되는 전파
- [0936] 의학적으로 중요함*
- [0937] * 신속히 처리된 보고가 또한 다른 상황, 예컨대 즉각적으로 생명을 위협하지 않을 수 있거나 사망 또는 입원으로 이어지지 않을 수 있지만, 대상체를 위태롭게 할 수 있거나 상기 정의에 열거된 다른 결과들 중 하나를 예방하기 위하여 중재를 필요로 할 수 있는 중요한 의료 사건에서도 적절한지의 여부를 결정하는 데 있어서 의학적 및 과학적 판단이 행사되어야 한다. 이들은 통상 심각한 것으로 간주되어야 한다.
- [0938] 심각하고 예상되지 않은 유해 사건이 일어나며, 이에 대해 연구 개입과 사건(예를 들어, 아나필락시스로 인한 사망) 사이에 인과 관계를 시사하는 증거가 있다면, 사건은, 심지어 그것이 연구 종점의 구성요소(예를 들어, 전-원인 사망률)라 하더라도, 심각하고 예상되지 않은 의심되는 유해 반응으로서 보고될 것이다.
- [0939] **열거되지 않은(예상되지 않은) 유해 사건(RSI(Reference Safety Information, 안전성 정보와 관련된 참고 정보))**

- [0940] 성질 또는 중증도가 적용가능한 제품 RSI와 일치하지 않는 경우 유해 사건은 열거되지 않은 것으로 간주된다. FP2의 경우, 유해 사건의 예측성은 연구자의 브로셔에 열거되어 있는지의 여부에 의해 결정될 것이다.
- [0941] **개입의 사용과 관련된 유해 사건**
- [0942] 속성이 섹션 12.1.2, '속성 정의'에 열거된 정의에 따라 가능성 있음(possible), 상당히 가능성 있음(probable), 또는 매우 가능성 높음(very likely)인 경우, 유해 사건은 개입의 사용과 관련된 것으로 간주된다.
- [0943] FP2에 관한 임상 연구는 수행되어 있지 않으며, 이에 따라 인간에서의 FP2의 효과에 대한 어떠한 데이터도 이용 가능하지 않다.
- [0944] **12.1.2. 속성 정의**
- [0945] **관련 없음(Not Related)**
- [0946] 개입의 사용과 관련되지 않은 유해 사건.
- [0947] **의심스러움(Doubtful)**
- [0948] 대안적인 설명, 예를 들어 동시 약물(들), 동반 질병(들)이 더 가능성이 높을 것 같거나, 또는 인과 관계가 가능할 거 같지 않음을 시간 관계가 시사하는 유해 사건.
- [0949] **가능성 있음**
- [0950] 개입의 사용에 기인할 수 있는 유해 사건. 대안적인 설명, 예를 들어 동시 약물(들), 동반 질병(들)이 결정적이지 않다. 시간 관계는 합리적이며; 따라서, 인과 관계는 배제될 수 없다.
- [0951] **상당히 가능성 있음**
- [0952] 개입의 사용에 기인할 수 있는 유해 사건. 시간 관계가 시사적이다(예를 들어, 투여중단(dechallenge)에 의해 확인됨). 대안적인 설명, 예를 들어 동시 약물(들), 동반 질병(들)이 가능성이 더 적을 거 같다.
- [0953] **매우 가능성이 높음**
- [0954] 가능성이 있는 유해 반응으로서 열거되고 대안적인 설명, 예를 들어 동시 약물(들), 동반 질병(들)에 의해 합리적으로 설명될 수 없는 유해 사건. 시간 관계가 매우 시사적이다(예를 들어, 그것은 투여중단 및 재투여(rechallenge)에 의해 확인됨).
- [0955] **12.1.3. 중증도 기준**
- [0956] 중증도 등급의 평가는 하기의 일반적인 카테고리 디스크립터(categorical descriptor)를 사용하여 이루어질 것이다:
- [0957] **경도:** 쉽게 참아내어서, 최소한의 불편함을 야기하고 일상 활동을 방해하지 않는, 증상의 인식.
- [0958] **중등도:** 정상적인 활동의 방해로 야기하기에 충분한 불편함이 존재함.
- [0959] **중도:** 상당한 기능 손상 또는 무능화를 야기하는 극심한 고통. 정상적인 일상 활동을 방해한다.
- [0960] 연구자는 대상체가 직접 경험하지 않은 사건(예를 들어, 실험실 비정상)의 중증도를 평가하는 데 있어서 임상적 판단을 사용해야 한다.
- [0961] **12.1. 특별 보고 상황**
- [0962] 신속히 처리된 보고 또는 안전성 평가를 필요로 할 수 있는 스폰서 연구 개입에 대한 관심 안전성 사건은 하기를 포함하지만 이로 한정되지 않는다:
- [0963] 스폰서 연구 개입의 과다용량
- [0964] 스폰서 연구 개입의 의심되는 남용/오용
- [0965] 스폰서 연구 개입에 대한 우발적인 또는 직업과 관련된 노출
- [0966] 스폰서 제품에 영향을 주는 투약 오류(스폰서 연구 개입에 대한 대상체/환자 노출이 있거나 없음, 예를 들어 명칭 혼동).

- [0967] 특별 보고 상황은 eCRF에 기록되어야 한다. 심각한 유해 사건의 기준을 충족시키는 임의의 특별 보고 상황은 eCRF의 심각한 유해 사건 페이지에 기록되어야 한다.
- [0968] **12.3. 절차**
- [0969] **12.3.1. 모든 유해 사건**
- [0970] 심각하든 심각하지 않든 어느 것이든 모든 유해 사건 및 특별 보고 상황은 서명되고 날짜가 기입된 ICF가 획득된 시점으로부터 안전성의 추적관찰을 위한 연락을 포함할 수 있는 대상체의 마지막 연구-관련 절차의 완료 시까지 보고될 것이다. 연구 종료 방문까지 연구자에게 자발적으로 보고된 것들을 포함한 심각한 유해 사건은 심각한 유해 사건 용지(Serious Adverse Event Form)를 사용하여 보고될 것이다. 스폰서는 이 프로토콜에 명시된 시간 프레임 외에 연구자에 의해 자발적으로 보고된 임의의 안전성 정보를 평가할 것이다.
- [0971] 심각한 유해 사건의 정의를 충족시키는 모든 사건은, 그들이 프로토콜-특정 평가인지의 여부에 관계없이, 심각한 유해 사건으로서 보고될 것이다.
- [0972] 심각성, 중증도, 또는 연구 개입과의 추정된 관계에 관계없이 모든 유해 사건은 근거 문서 및 eCRF에 의학 용어를 사용하여 기록될 것이다. 가능할 때는 언제든지, 징후 및 증상이 일반적인 병인에 기인할 때 진단이 주어져야 한다(예를 들어, 기침, 콧물, 재채기, 인후통, 및 두부 울혈(head congestion)은 "상기도 감염"으로서 보고되어야 한다). 연구자는 유해 사건과 연구 요법의 관계에 관한 그들의 의견을 eCRF에 기록할 것이다. 유해 사건 관리에 필요한 모든 조치는 근거 문서에 기록되어야 하고 스폰서 지시에 따라 보고되어야 할 것이다.
- [0973] **14. 연구 약물 정보**
- [0974] **14.1. 연구 약물의 물리적 설명**
- [0975] 이 연구를 위해 공급된 FP2는 pH 6.5에서 10 mM 인산나트륨, 8% 수크로스, 및 0.04% 폴리소르베이트 20 중 50 mg/mL의 농도를 갖는 멸균 황갈색 용액이다.
- [0976] FP2는 1.2 mL 충전 부피를 갖는 유리 바이알 내에 냉동 상태로 제공된다.
- [0977] 이 연구를 위해 공급된 제형 완충액은 10 mM 인산나트륨, 8.0% 수크로스 및 0.04% 폴리소르베이트 20으로 이루어진 멸균 투명 용액이다. 이 제형 완충액은 플라세보 주사제를 제조하기 위해 그리고 초기 FP2 SC 용량의 제조에서 희석제로서 사용될 것이다.
- [0978] 제형 완충액은 1.2 mL 충전 부피를 갖는 유리 바이알 내에 냉동 상태로 제공된다.
- [0979] 이것은 스폰서의 책임 하에 제조되고 제공될 것이다. 부형제들의 목록은 상기에 제공되어 있다.
- [0980] **14.2. 패키징**
- [0981] 연구 약물(FP2, 및 FP2의 희석을 위한 그리고 플라세보로서의 제형 완충액)은 벌크 공급물로서 제공될 것이다. 연구 약물은 잠가 둔 약국에 저장될 것이며, IV 주입을 위한 제조(파트 2) 또는 SC 주사를 위한 맹검된 제조(파트 1) 후에 투여를 위한 적합한 유자격 연구 팀 구성원에게만 전달될 것이다.
- [0982] **14.3. 라벨링**
- [0983] 연구 약물 라벨은 적용가능한 규제 요건을 충족시키기 위한 정보를 포함할 것이다.
- [0984] **14.4. 제조, 취급, 및 저장**
- [0985] 모든 연구 약물은 -30°C 내지 -40°C 범위의 제어된 온도에서 저장되고 광으로부터 보호될 것이다.
- [0986] 초기 4개의 계획된 SC 용량군의 경우, 약물 제품은 제형 완충액을 사용하여 사용 전에 필요한 농도로 희석될 것이다(DG 1 0.5 mg/mL; DG 2 및 DG 3 5.0 mg/mL; DG 4 10.0 mg/mL). IV 투여를 위한 약물 제품은 10 mg/mL의 농도로 희석되고 인라인 여과로 투여될 것이다.

[0987] 참고문헌

1. Bazett HC (1920). An analysis of the time-relationship of electrocardiograms. *Heart*. 1920;7:353-380.
 2. Breit SN (2011), Johnen H, Cook AD, Tsai VWW, Mohammad MG, Kuffner T, et al. The TGF- β superfamily cytokine, MIC-1/GDF15: A pleiotrophic cytokine with roles in inflammation, cancer and metabolism. *Growth Factors*. 2011;29(5):187-195.
 3. EMA Guidance. EMEA CHMP SWP 28367 07 Rev. 1 (2017). Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human and early clinical trials with investigational medicinal products. European Medicines Agency; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); 20 July 2017.
 4. EMA Guidance. EMEA/CHMP/SWP/28367/07 (2007). Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products. European Medicines Agency; Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); 19 July 2007.
 5. Emmerson PJ (2017), Wang F, Du Y, Liu Q, Pickard RT, Gonciarz MD, et al. The metabolic effects of GDF15 are mediated by the orphan receptor GFRAL. *Nat. Med*. 2017;(10):1215-1219.
 6. FDA Guidance for Industry (2005). Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. US Dep of Health and Human Services. Center for Drug Evaluation and Research (CDER, July 2005).
 7. FDA Guidance for Industry (2007). Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials. US Dep of Health and Human Services. Center for Biologics Evaluation and Research (CBER, September 2007).
 8. Fejzo MS (2018), Sazonova OV, Sathirapongsasuti JF, Hallgrimsdóttir IB, 23andMe Research Team, Vacic V, et al. Placenta and appetite genes GDF15 and IGFBP7 are associated with hyperemesis gravidarum. *Nature Communications*. 2018;9:1178-1186.
 9. Fisher BL (2002) and Schauer P. Medical and surgical options in the treatment of severe obesity. *Am J Surg*. 2002;184:9S-16S.
 10. Fryar CD (2012), Carroll MD, Ogden CL. Prevalence of overweight, obesity, and extreme obesity among adults: United States, trends 1960–1962 through 2009–2010, 2012. National Center for Health Statistics.
- Available from
http://www.cdc.gov/nchs/data/hestat/obesity_adult_09_10/obesity_adult_09_10.htm
 Accessed 23 May 2018
11. Gennemark P (2017), Tragardh M, Linden D, Ploj K, Johansson A, Turnbull A, et al. Translational modeling to guide study design and dose choice in obesity exemplified by AZD1979, a melanin-concentrating hormone receptor 1 antagonist. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2017;6:458-468.
 12. Gobel B (2014), Sanghvi A, and Hall KD. Quantifying energy intake changes during obesity pharmacotherapy. *Obesity*. 2014;22(10):2105-2108.
 13. Hall KD (2011), Sacks G, Chandramohan D, Chow C, Wang YC, Gortmaker SL, and Swinburn BA. Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. *Lancet*. 2011;378:826–837.
 14. Hodges M (1983), Salerno D, Erlie D. Bazett's QT correction reviewed: evidence that a linear QT correction for heart rate is better. *J Am Coll Cardiol*. 1983;1:694.

[0988]

15. Hsu JY (2017), Crawley S, Chen M, Ayupova DA, Lindhout DA, et al. Non-homeostatic body weight regulation through a brainstem-restricted receptor for GDF15. *Nature*. 2017;550(7675):255-259.
16. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonized Tripartite Guideline E14: Clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs. ICH 12 May 2005.
17. Mullican SE (2017), Lin-Schmidt X, Chin C-N, Chavez JA, Furman JL, et al. GFRAL is the receptor for GDF15 and the ligand promotes weight loss in mice and nonhuman primates. *Nat. Med.* 2017;(10):1150-1157.
18. Rueda-Clausen CF (2015), Ogunleye AA, and Sharma AM. Health benefits of long-term weight-loss maintenance. *Annu. Rev. Nutr.* 2015;35:475-516.
19. Sagie A (1992), Larson MG, Goldberg RJ, Bengtson JR, Levy D. An improved method for adjusting the QT interval for heart rate (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 1992;70:797-801.
20. Sugulle M (2009), Dechend R, Herse F, Weedon-Fekjaer SM, Johnsen GM, et al. Circulating and placental Growth-Differentiation Factor 15 in preeclampsia and in pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Hypertension*. 2009;54:106-112.
21. The GBD Obesity Collaboration (2013). Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384:766-781.
22. Wolfe BM (2016), Kvach E, and Eckel RH. Treatment of obesity: weight loss and bariatric surgery. *Circ Res*. 2016;118:1844-1855.
23. World Health Organization (2012), Blood Donor Selection: Guidelines on Assessing Donor Suitability for Blood Donation. Geneva. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138212/> Accessed 21 June 2018.
24. Yang L (2017), Chang C, Sun Z, Madsen D, Zhu H, Padkjaer S, et al. GFRAL is the receptor for GDF15 and is required for the anti-obesity effects of the ligand. *Nat. Med.* 2017;(10):1158-1166.
25. Yanovski SZ (2015), Marcus MD, Wadden TA, Walsh BT. The Questionnaire on Eating and Weight Patterns5 (QEWP-5): An Updated Screening Instrument for Binge Eating Disorder. *Int J Eat Disord*. 2015; 48(3): 259- 261

실시예 22: 임상 시험 결과.

항기를 제외하고는, 실시예 21에 기재된 프로토콜에 따라 임상 시험을 수행하였다: (1) 본 연구의 파트 2(절대 생체이용률)는 수행하지 않았으며; (2) 적절한 연령 상한을 55세까지 증가시키도록 참가자 연령을 규정하는 선정 기준을 변화시켰으며; (3) 인-하우스 기간 동안 흡연을 기꺼이 삼갔던 정도 및 간헐적 흡연자의 포함을 가능하게 하도록 양성 소변 코티닌 검사를 갖는 참가자에 기초한 제외 기준을 변형시켰다. 코호트 7에 대한 투여가 진행되고 있는 동안에 코호트 1 내지 코호트 6에 대한 투여를 완료하였다. 각각 8명의 대상체로 된 6개의 코호트(코호트 1 내지 코호트 6)에 분할된 48명의 대상체를 단위 용량의 FP2 또는 매칭하는 플라세보에 노출시켰다. 각각의 코호트에서, 6명의 대상체에게 FP2를 투여하고, 2명의 대상체에게 매칭하는 플라세보를 투여하였다. 하기는 각각의 코호트 1 내지 코호트 6에 투여된 FP2(또는 매칭하는 플라세보)의 용량의 요약이다(표 71):

[표 71]

코호트 1 내지 6 투여.

코호트	용량
코호트 1	0.8 mg
코호트 2	2.5 mg
코호트 3	7.5 mg
코호트 4	15 mg
코호트 5	30 mg
코호트 6	60 mg

맹검된 안전성 및 내약성 정보는 투여된 모든 대상체에 이용가능하다(코호트 1 내지 코호트 6). 군 수준 요약 약동학적(PK) 및 약력학적(PD) 결과는 코호트 1 내지 코호트 5에 이용가능하다.

안전성 및 내약성: 치료는 일반적으로 안전하고 우수한 내약성을 나타내는 것으로 간주되었다.

[0996] 약동학적 특성

[0997] 약동학적 데이터는 코호트 1 내지 코호트 5에 이용가능하였다. 투여되는 FP2의 용량을 증가시키기 위하여, 대략 용량-비례적인 방식으로 노출이 증가되었다. T_{max} 는 일수 6에서 일어났으며, $T_{1/2}$ 은 대략 12일이었으며, 이에 따라 매주 투여를 지지하였다.

[0998] [표 72]

FP2의 단회 상승 용량의 약동학적 특성.

PK 파라미터	0.8 mg (n=6) 평균 (SD)	2.5 mg (n=6) 평균 (SD)	7.5 mg (n=6) 평균 (SD)	15 mg (n=6) 평균 (SD)	30 mg (n=6) 평균
AUC ₇₂ (µg·hr/ml)	3.36 (2.94)	9.71 (5.33)	27.3 (5.31)	46.1 (20.2)	128.9
C ₇₂ (µg/ml)	0.0691 (0.0572)	0.208 (0.0935)	0.592 (0.0975)	1.05 (0.456)	2.65

C₇₂는 C_{max}의 72%를 나타낸다.

[0999]

[1000] 약력학적 특성

[1001] 음식 섭취량 평가를 기저선(일수 -1)에서 그리고 다시, 연구 약물 투여 후 일수 3에서 수행하였다. 이 SAD 연구의 처음 4개의 코호트 동안 관찰된 T_{max} 는 약 일수 6에서 일어나며, 일수 3에서의 FP2의 혈장 농도는 일수 6에서 달성된 농도의 약 70 내지 80%이다.

[1002] 음식 섭취량을 평가하기 위하여, 4개의 표준화된 식사(조식, 점심, 간식, 석식)를 대상체에게 제공하였으며; 각각의 대상체는 양쪽 날(즉, 일수 -1 및 3)에 동일한 식사(동일한 음식 품목 및 동일한 양)를 제공받았다. 4회의 식사로부터 소비된 칼로리를 합산하여 기저선(일수 -1)에서 그리고 일수 3에서 소비된 총 칼로리를 얻었다. 기저선으로부터 일수 3까지의 음식 섭취량의 변화를 FP2 약력학적 작용 방식의 탐구 척도로서 사용하였다.

[1003] 음식 섭취량의 변화는 두 대상체 모두에서 플라세보 및 활성 약물에 대해 변동성이 컸으며, 이때 기저선 대비 일수 3에서의 변화는 코호트 1 내지 코호트 4에서 대략 ± 20%였다. 그럼에도 불구하고, 음식 섭취량은 30 mg (코호트 5)의 FP2로 치료된 6명의 대상체 중 4명에서 50% 초과(범위 55 내지 96%)만큼 감소하였다. 비교하면, 총 플라세보군(10명의 대상체)의 어느 누구도 30% 초과 음식 섭취량 감소를 달성하지 못하였다. 이와 동일한 용량군(코호트 5, 30 mg)에서, 음식 섭취량에서 최대 감소를 나타낸 2명의 대상체(음식 섭취량에서 -85% 및 -96% 감소)는 또한 FP2의 최고 노출에 도달한 대상체였다. 플라세보 또는 FP2에 대한 대상체에 있어서의 기저선으로부터 투여 후 일수 3까지의 % 음식 섭취량 변화에 대한 중위값이 표 73에 제시되어 있다.

[1004] [표 73]

플라세보 또는 검증 용량의 FP2로 치료된 대상체에서 기저선(일수 -1)으로부터 일수 3까지의 음식 섭취량의 변화.

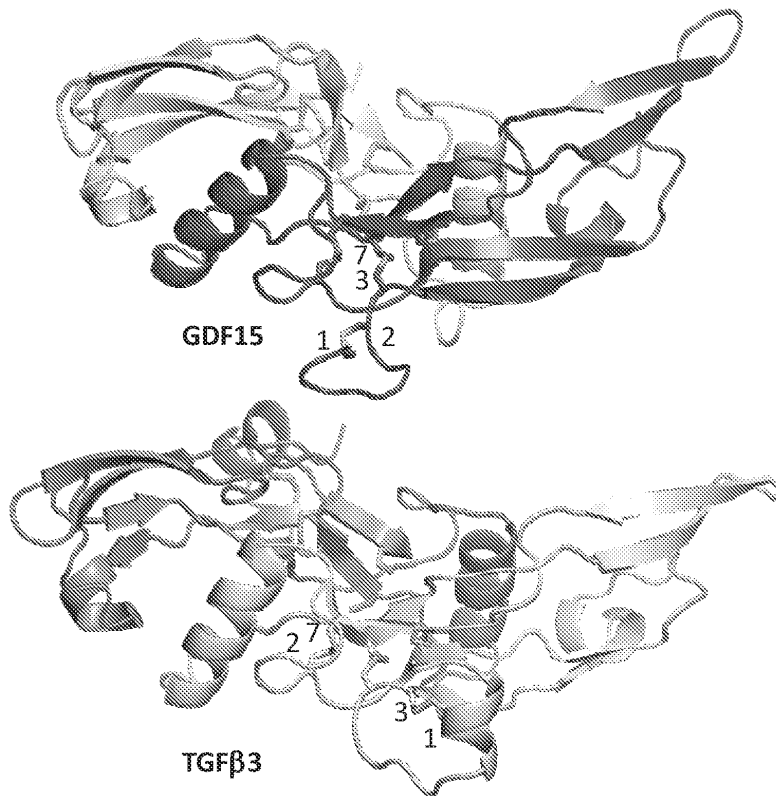
코호트 (대상체 수)	기저선으로부터 일수 3까지의 % 음식 섭취량 변화에 대한 중위값(5 번째, 95 번째 백분위수)
플라세보 (N=10)	-11.7 (-28.6, 15.6)
코호트 1 (N=6)	2.3 (-17.7, 14.8)
코호트 2 (N=6)	0.7 (-24.0, 16.1)
코호트 3 (N=6)	-9.9 (-26.3, 11.8)
코호트 4 (N=6)	-10.8 (-29.8, 5.8)
코호트 5 (N=6)	-33.7 (-92.1, 14.8)
코호트 6 (맹검됨)* (N=8)	-35.1 (-68.4, 1.9)

[1005]

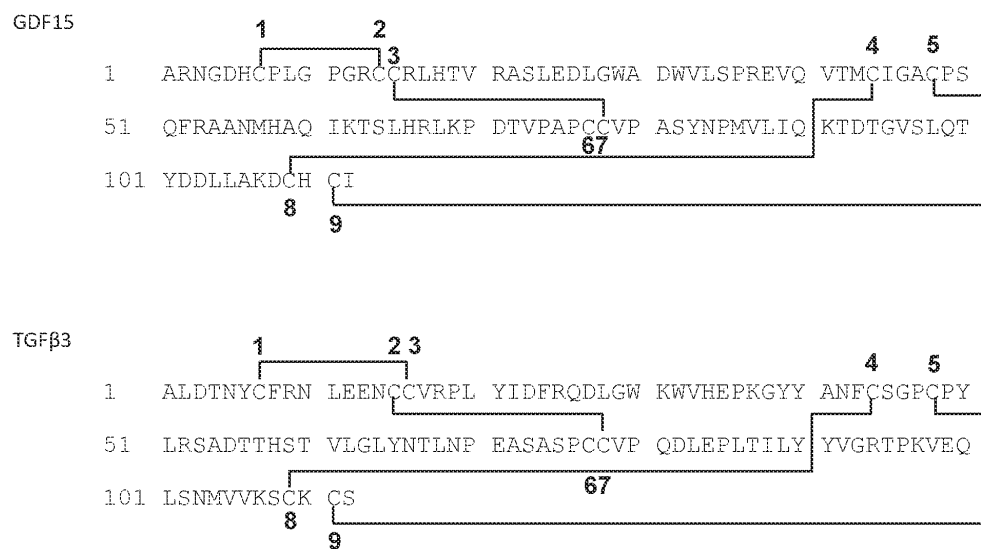
[1006] 본 발명이 상세히 그리고 그의 구체적인 실시 형태를 참조하여 설명되어 있지만, 본 발명의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않고서 거기서 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다.

도면

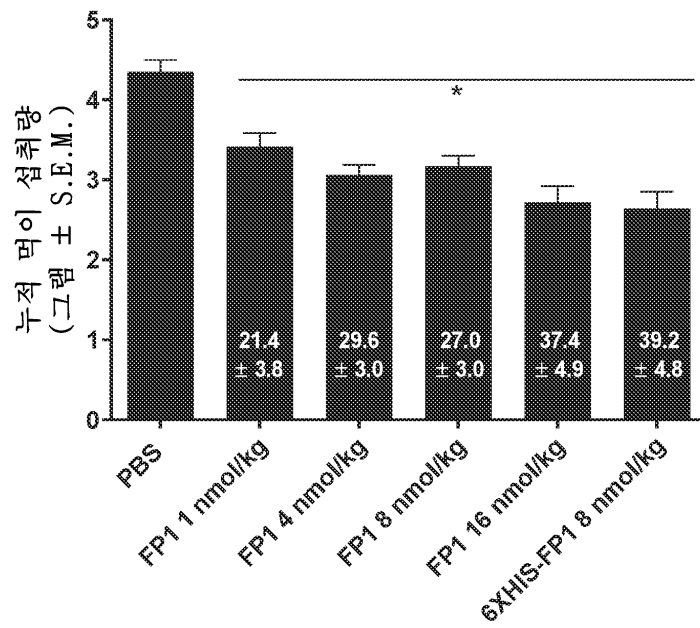
도면1a



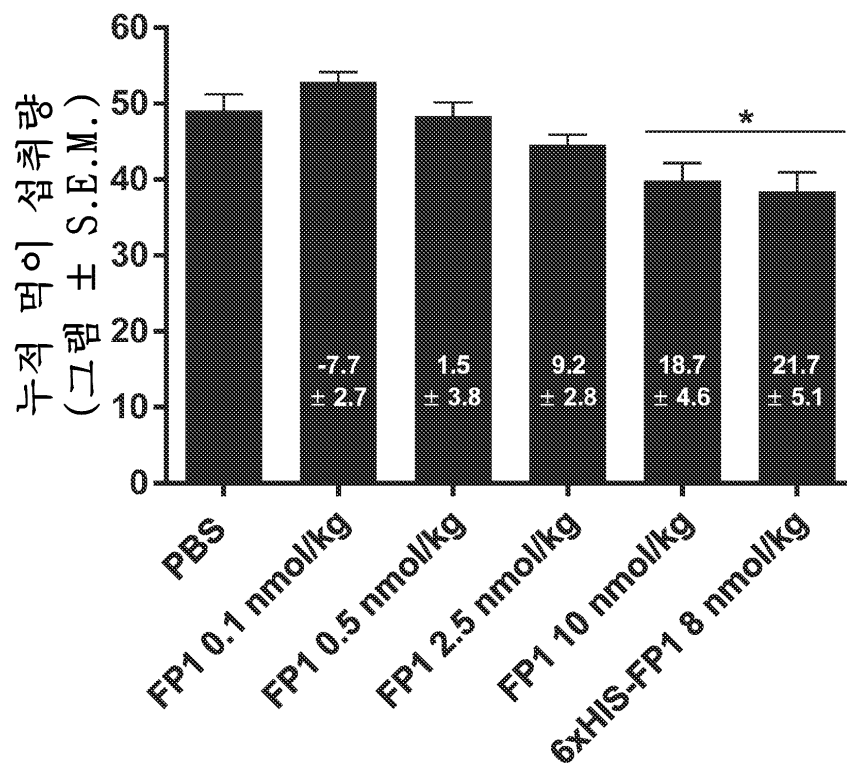
도면1b



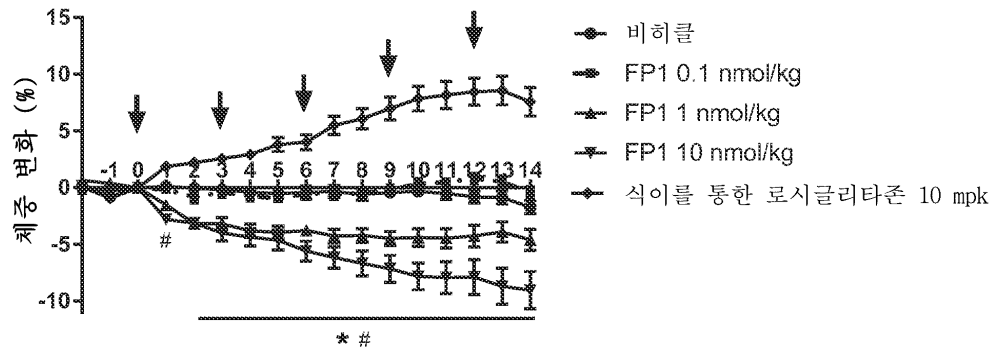
도면2



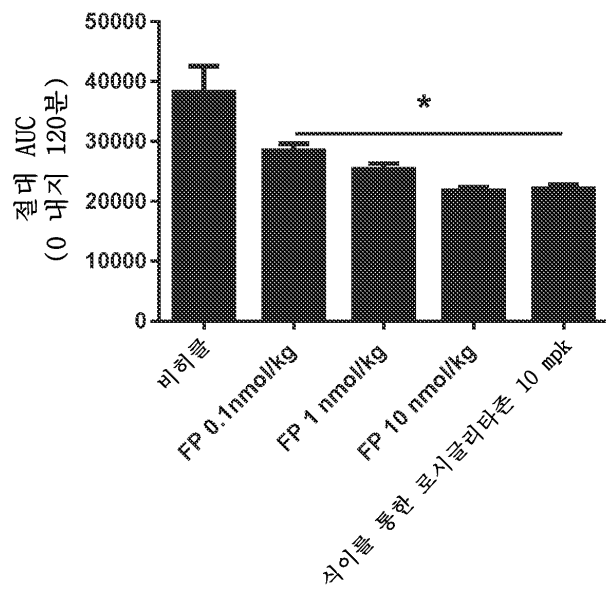
도면3



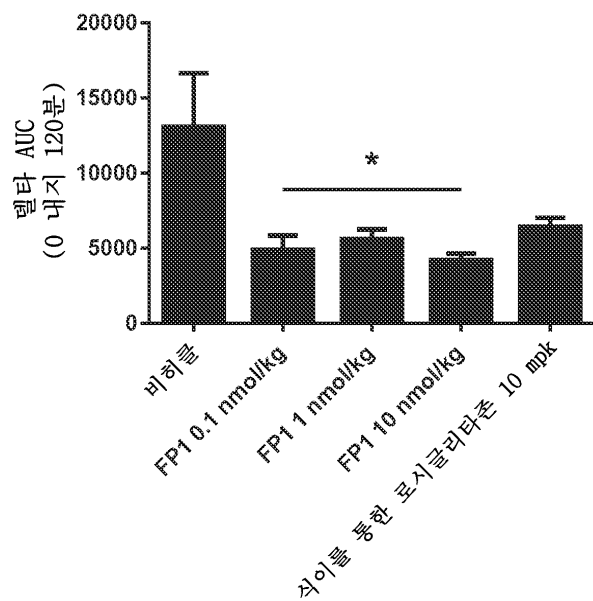
도면4



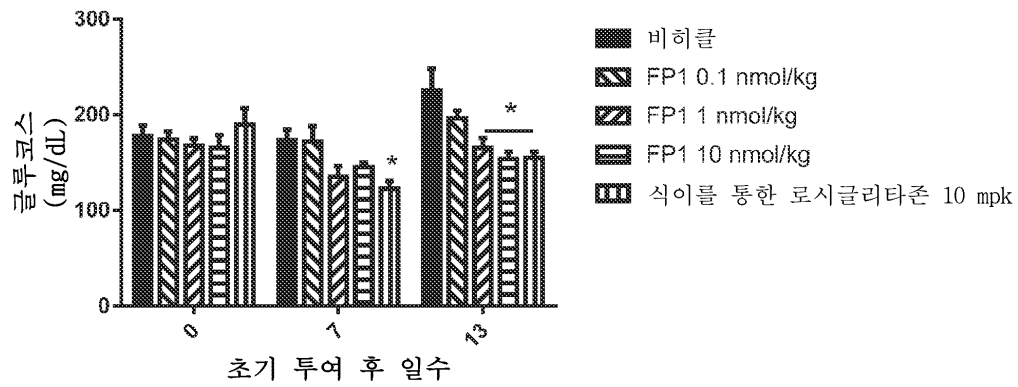
도면5a



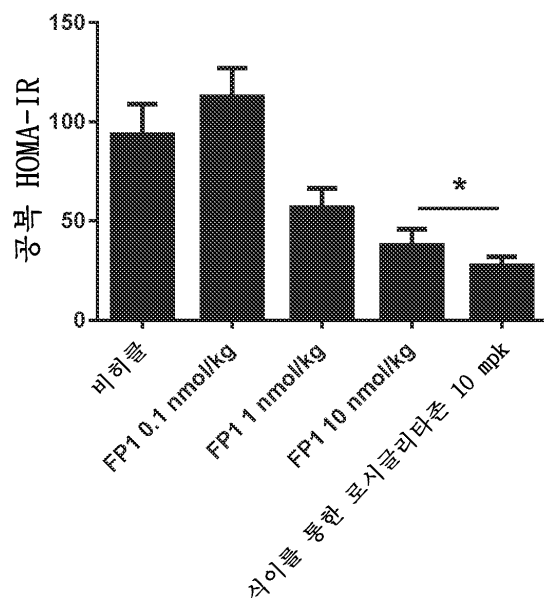
도면5b



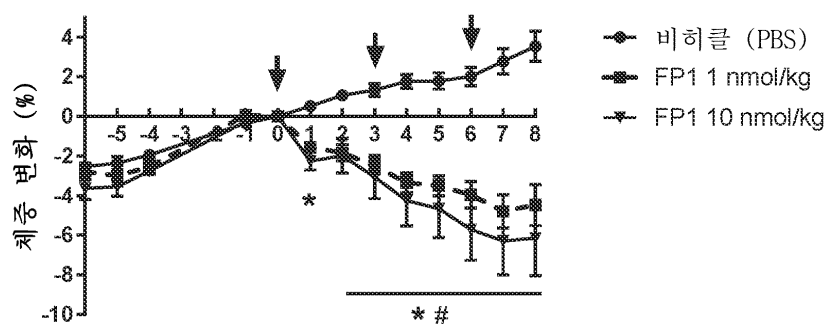
도면6



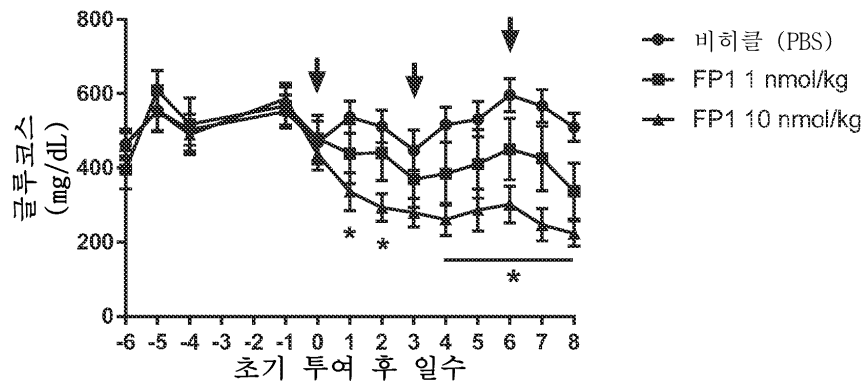
도면7



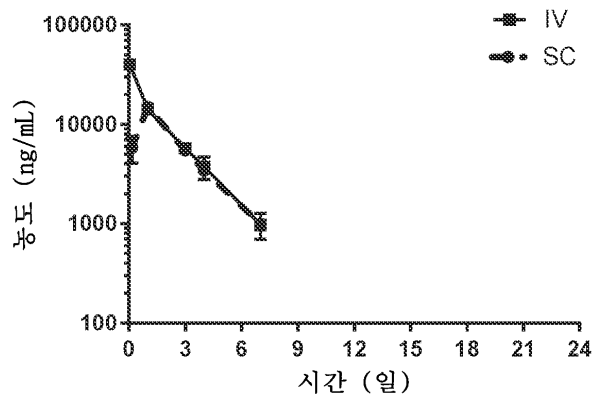
도면8



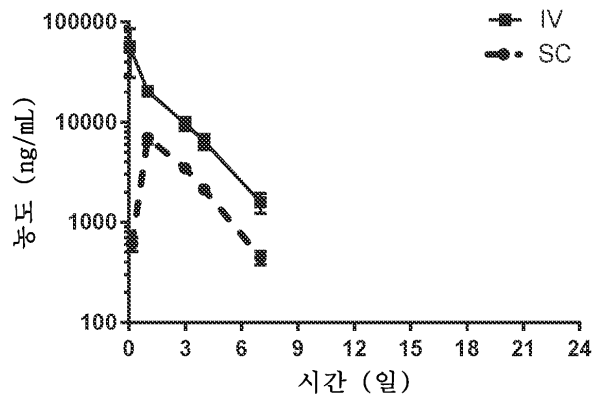
도면9



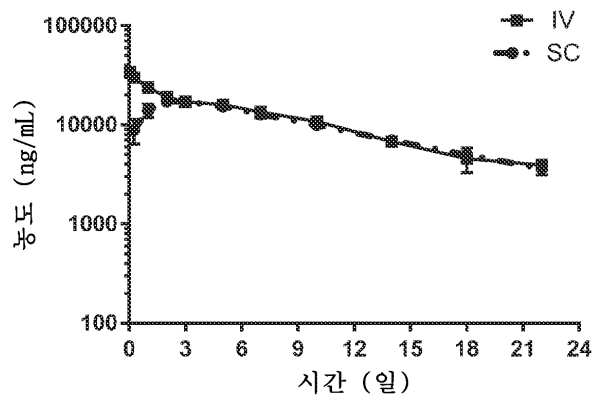
도면10



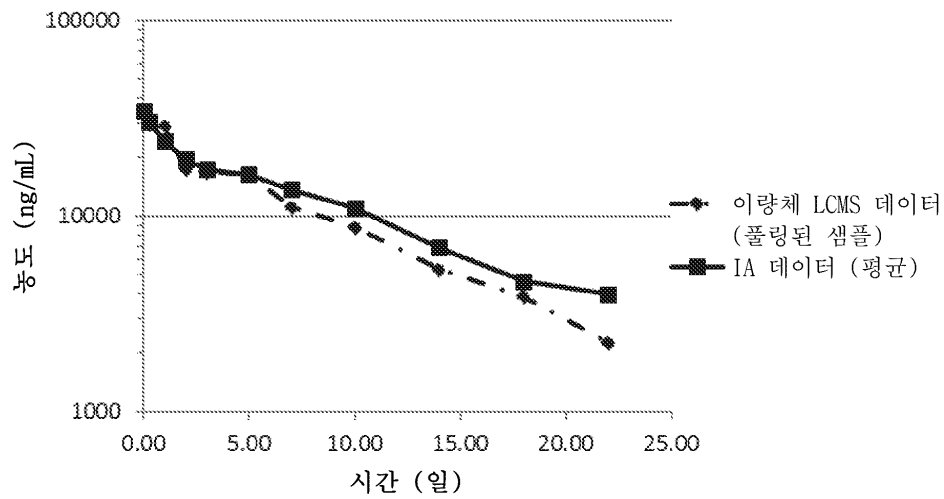
도면11



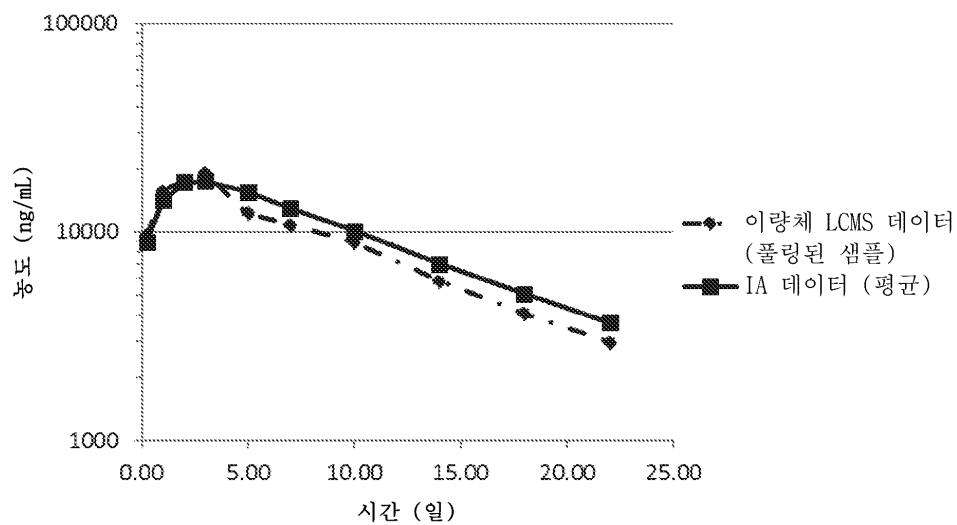
도면12



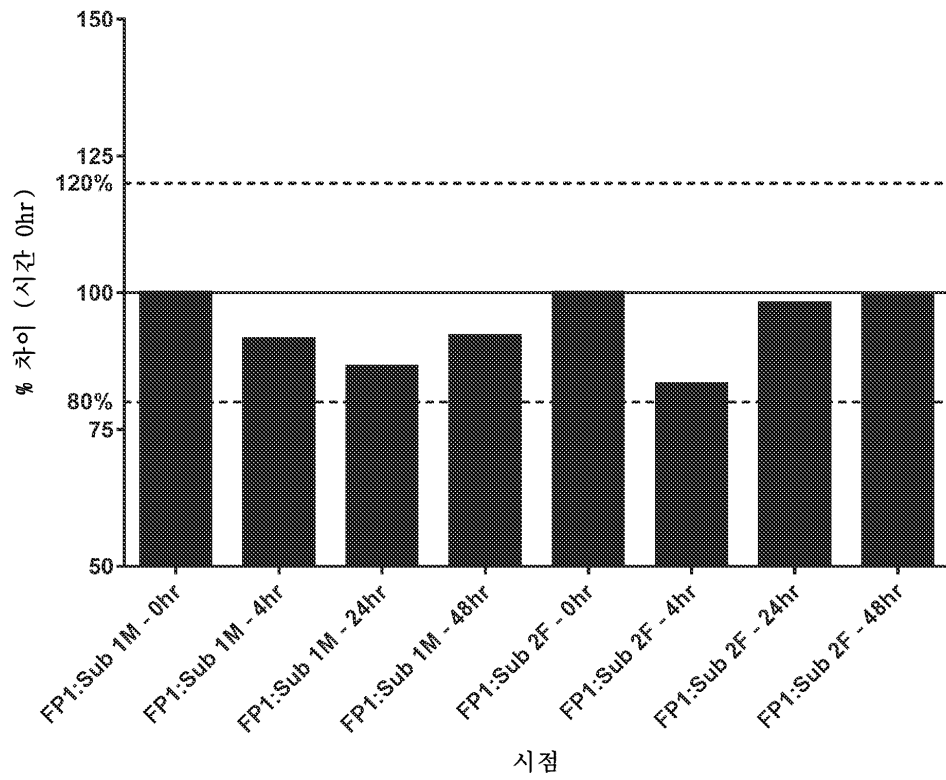
도면13



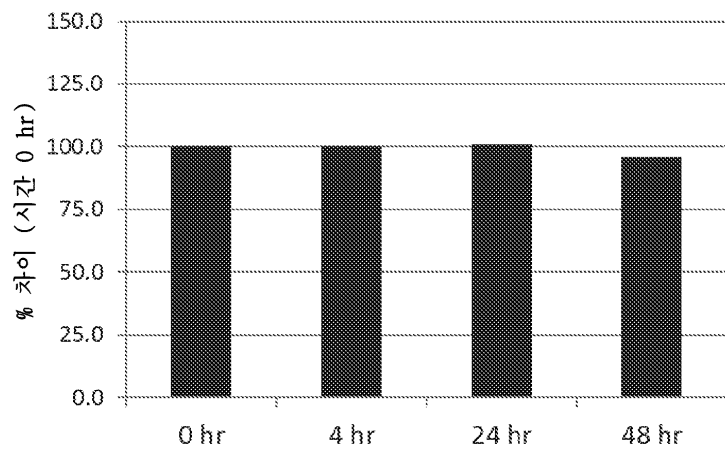
도면14



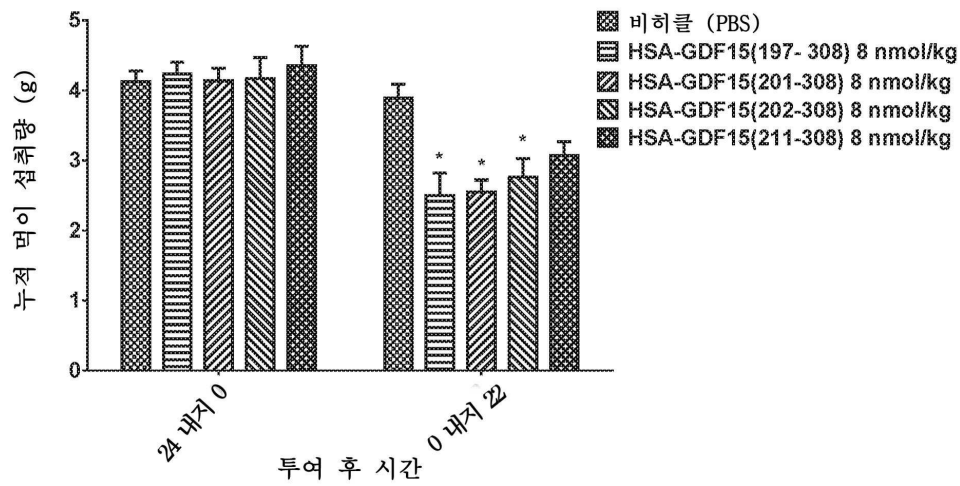
도면15



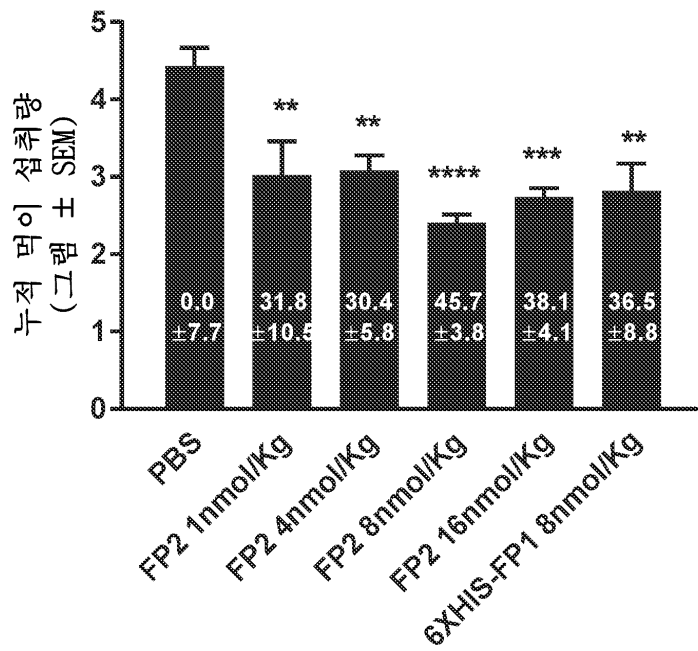
도면16



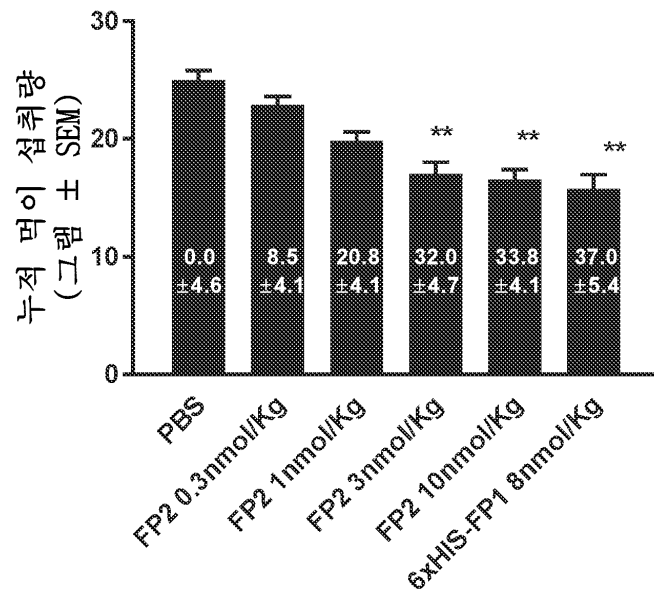
도면17



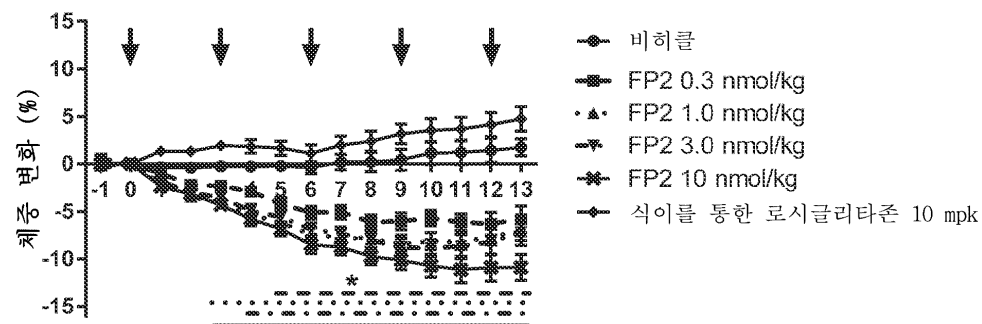
도면18



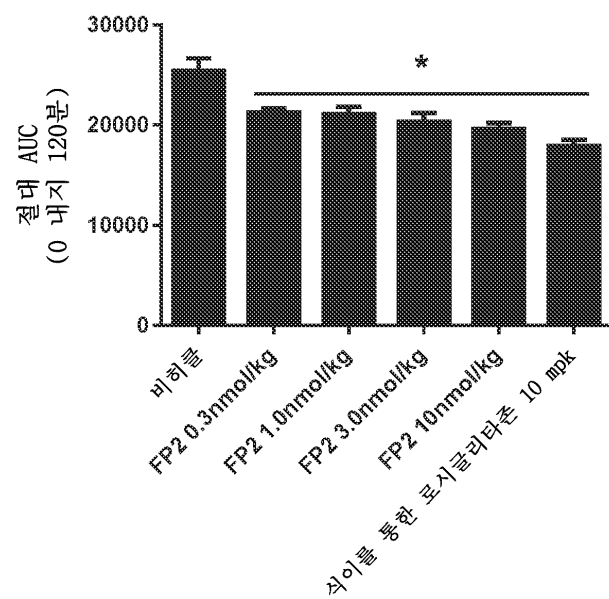
도면19



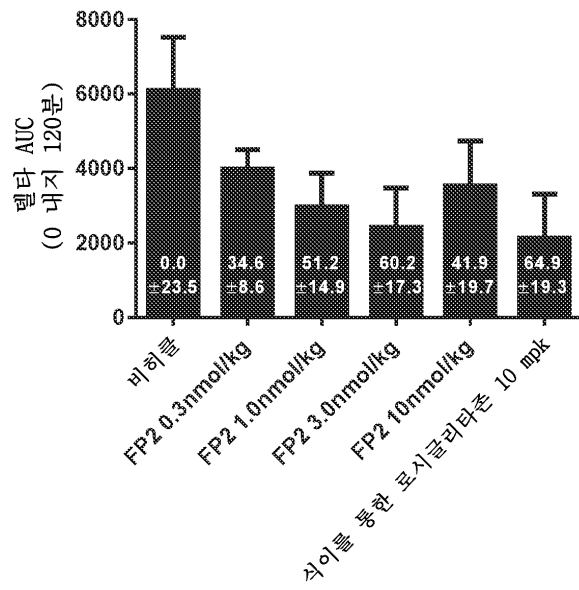
도면20



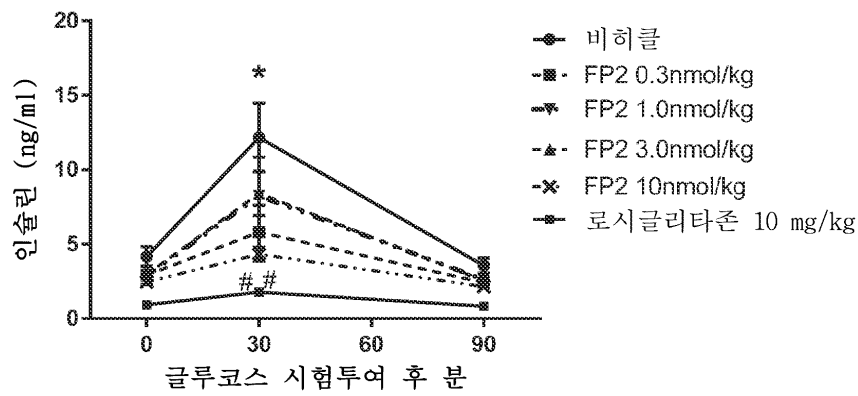
도면21a



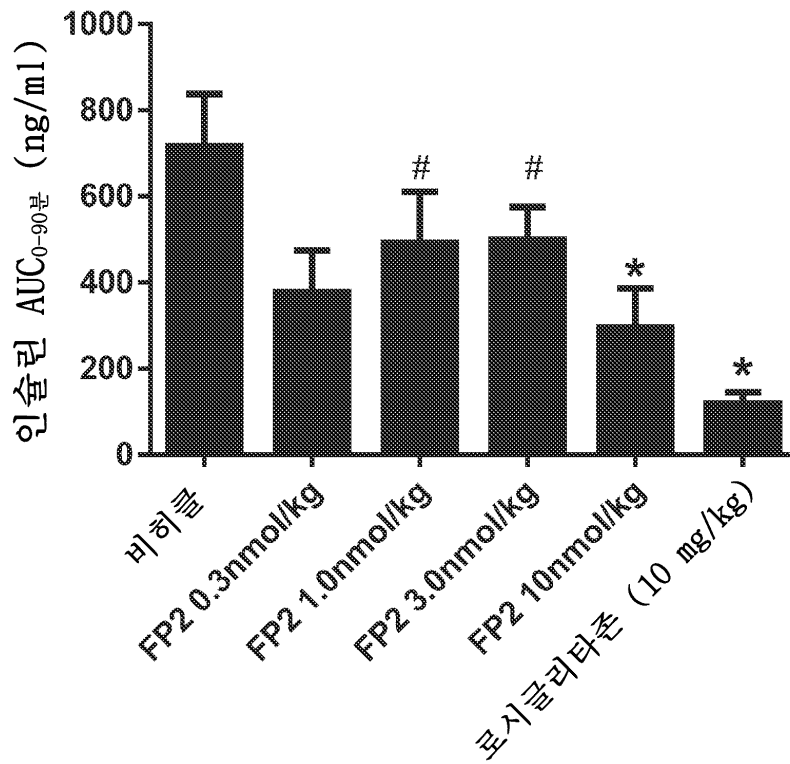
도면21b



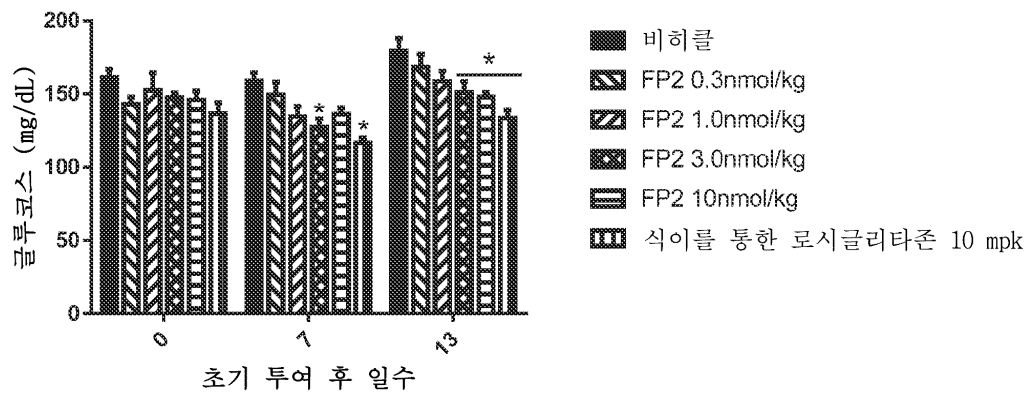
도면22a



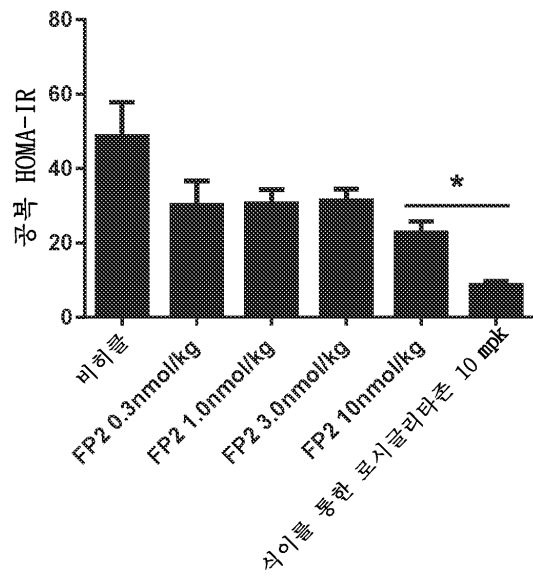
도면22b



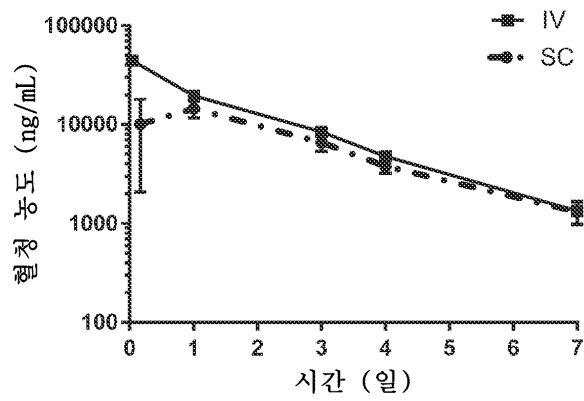
도면23



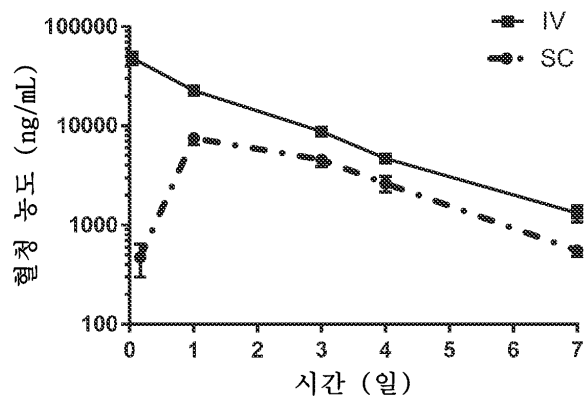
도면24



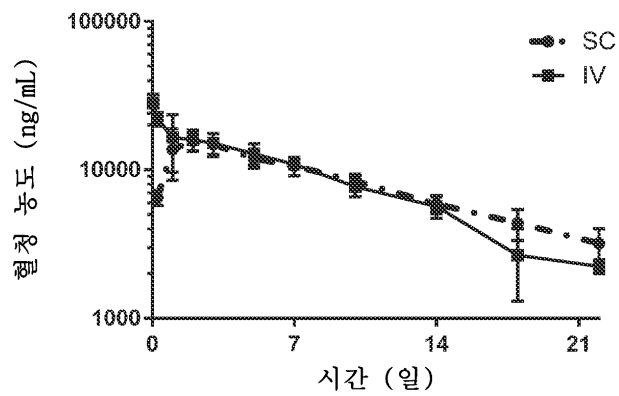
도면25



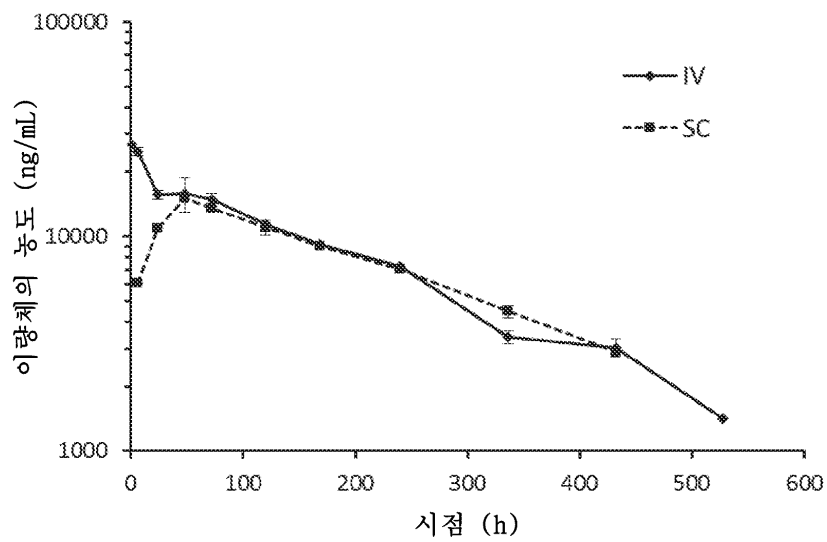
도면26



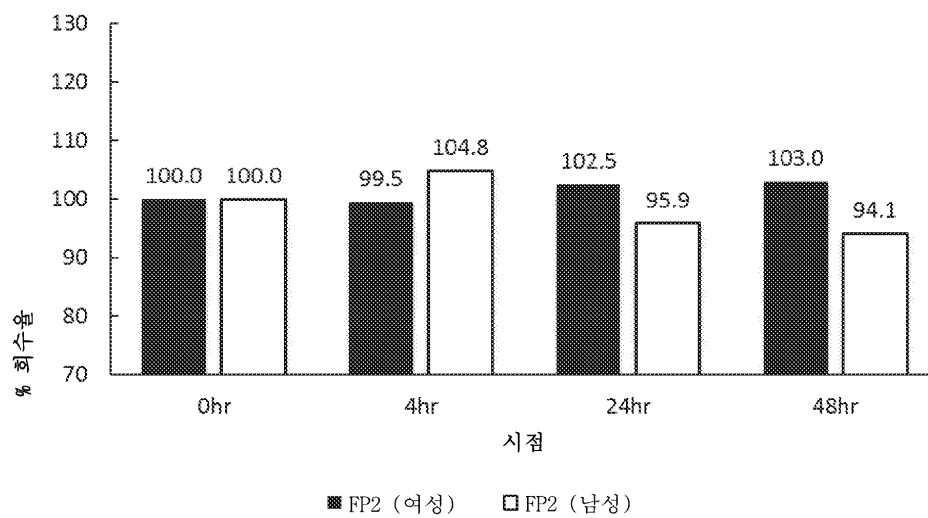
도면27



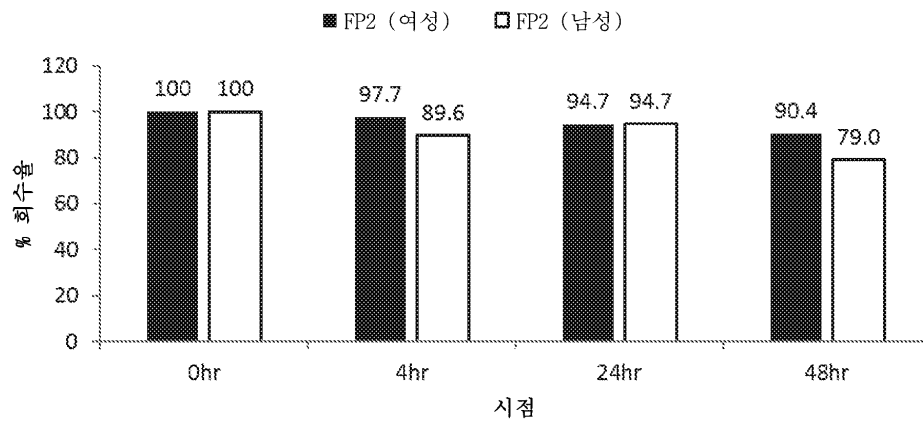
도면28



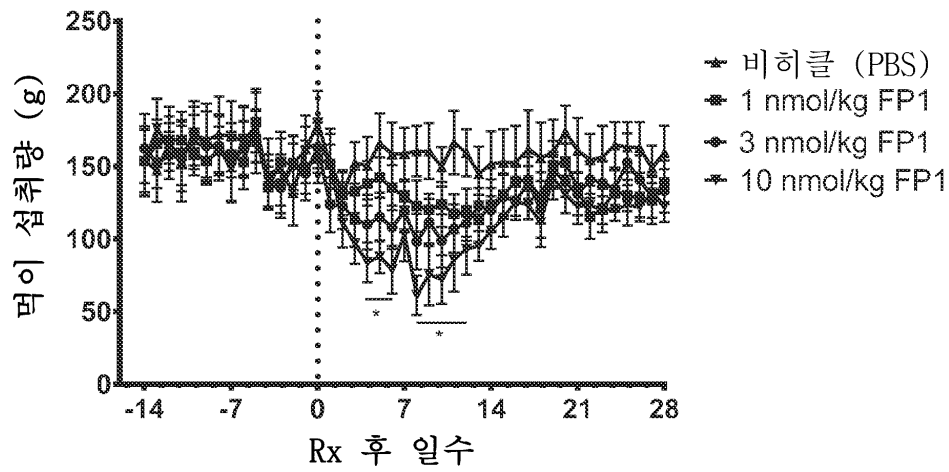
도면29



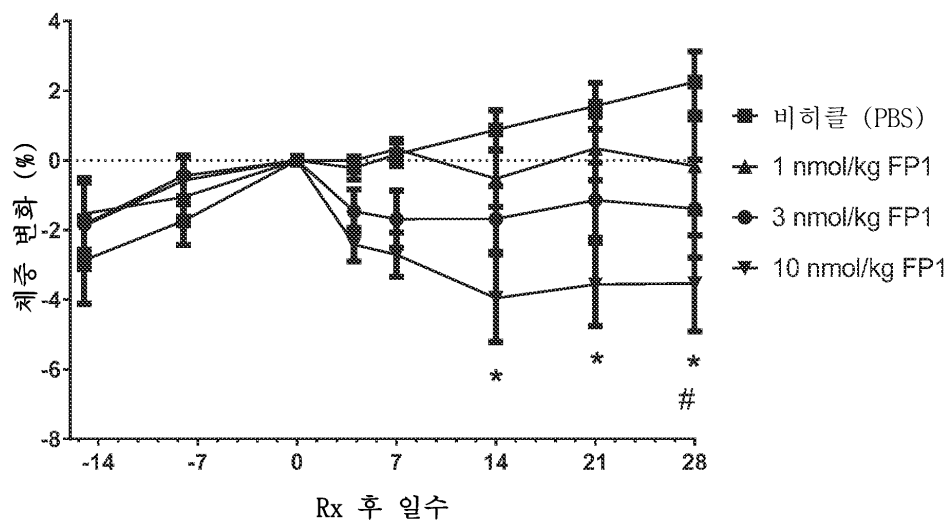
도면30



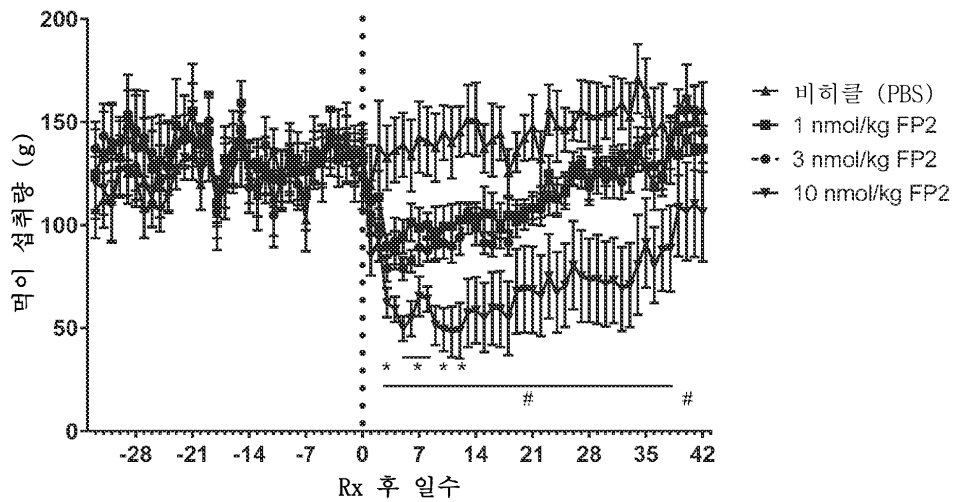
도면31



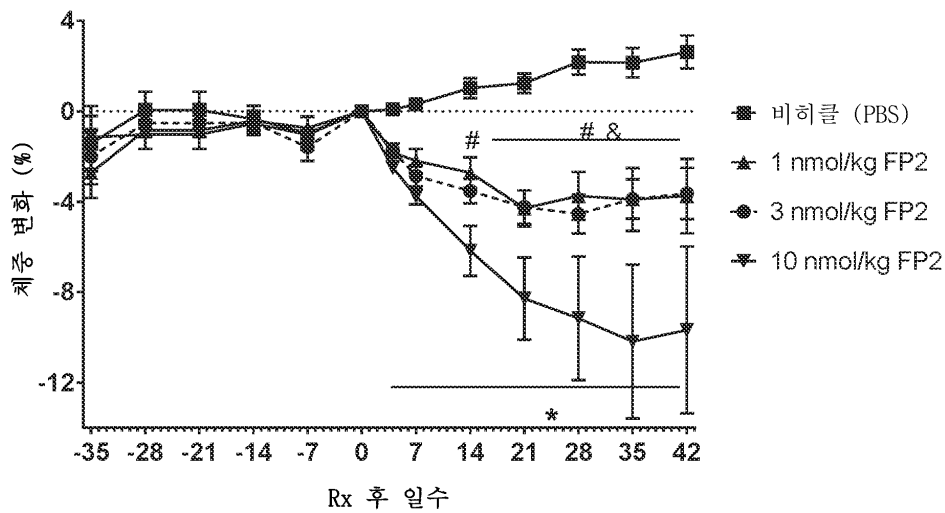
도면32



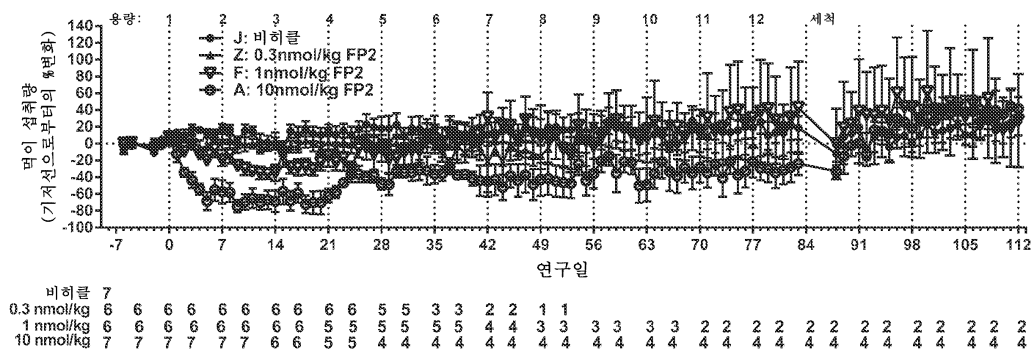
도면33



도면34



도면35



Kimko, Holly

Hermann, Robert

Fabbrini, Elisa

Stojanovic-Susulic, Vedrana

Rothenberg, Paul

<120> [0001] GDF15 analogs and methods for use in the treatment of obesity and associated comorbidities

<130> PRD3476

<160> 128

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA variant

<400> 1

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

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

35 40 45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

580 585

<210> 2

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA variant

<400> 2

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

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

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

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445

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

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

580 585

<210> 3

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA variant

<400> 3

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

580 585

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Linker

<400> 4

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 5

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 5

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

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

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

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

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

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

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

 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

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

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
625 630 635 640
Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
645 650 655
Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
660 665 670
His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
675 680 685

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
690 695 700
Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710 715

<210> 6

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 6

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

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

85 90 95
Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 7

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 9

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

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

100 105

<210> 10

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp

85 90 95

Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

100 105

<210> 11

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<

400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His

85

90

95

Cys Ile

<210> 12

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Linker

<400> 12

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

35

40

<210> 13

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Linker

<400> 13

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly

1

5

10

15

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala

20

25

30

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala

35

40

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 14

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro

20

<210> 15

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400>

15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

20

<210> 16

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 16

Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser

1 5 10 15

Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu

20 25 30

Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser

35 40 45

<210> 17

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 17

Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 18

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 18

Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 19

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 19

Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
 1 5 10 15
 Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly
 20 25 30
 Gly Ser

<210> 20

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 20

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Thr

1 5 10

<210> 21

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 21

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Thr

35 40

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 22

Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Thr

1 5 10

<210> 23

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 23

Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Thr

20

<210> 24

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 24

Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Thr

35 40

<210> 25

<211> 711

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 25

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125

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

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

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

 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

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

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

 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu
595 600 605

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu
610 615 620

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val
625 630 635 640

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
645 650 655

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
660 665 670

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
675 680 685

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
690 695 700

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710

<210> 26
<211> 741
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> fusion protein
<400> 26

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325	330	335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
340	345	350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
355	360	365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
370	375	380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
385	390	395
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
405	410	415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
420	425	430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys		
435	440	445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His		
450	455	460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser		
465	470	475
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr		
485	490	495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp		
500	505	510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala		
515	520	525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu		
530	535	540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys		
545	550	555
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val		
565	570	575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
595 600 605
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
610 615 620

Gly Gly Ser Gly Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
625 630 635 640
Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
645 650 655
Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
660 665 670
Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
675 680 685

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
690 695 700
Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
705 710 715 720
Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
725 730 735
Asp Cys His Cys Ile
740

<210> 27

<211> 711

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> fusion protein

<400> 27

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

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

 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

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

 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575

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

 Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
 645 650 655
 His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
 660 665 670
 Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
 675 680 685
 Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
 690 695 700

 Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710
 <210> 28
 <211> 721
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 28
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45

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

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

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

 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

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

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

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

 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala
580 585 590

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly
595 600 605

Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys
610 615 620

Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp
625 630 635 640

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
645 650 655

Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
660 665 670

Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val
675 680 685

Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
690 695 700

Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
705 710 715 720

Ile

<210> 29

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 29

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

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

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

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

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

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

 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

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

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

 Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
 595 600 605
 Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
 610 615 620
 Pro Ala Pro Gly Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
 625 630 635 640
 Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
 645 650 655

 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
 660 665 670
 Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
 675 680 685
 Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
 690 695 700
 Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
 705 710 715 720

 Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys

725 730 735
 Asp Cys His Cys Ile
 740
 <210> 30
 <211> 721
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 30
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30

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

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

 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180	185	190
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu		
195	200	205
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro		
210	215	220
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys		
225	230	235
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp		
245	250	255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser		
260	265	270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His		
275	280	285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser		
290	295	300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala		
305	310	315
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg		
325	330	335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr		
340	345	350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu		
355	360	365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro		
370	375	380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu		
385	390	395
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro		
405	410	415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys		
420	425	430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ser Glu Ala Ala Ala Lys
580 585 590

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Gly
595 600 605

Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys
610 615 620

Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp
625 630 635 640

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
645 650 655

Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
660 665 670

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

675 680 685
Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
690 695 700
Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
705 710 715 720
Ile

<210> 31

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 31

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

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

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

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

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

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

 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

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

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

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

 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Ser Glu Ala Ala Ala Lys
 580 585 590
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
 595 600 605
 Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala
 610 615 620
 Ala Ala Lys Gly Thr Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
 625 630 635 640

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

645 650 655
 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
 660 665 670
 Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
 675 680 685
 Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
 690 695 700

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
 705 710 715 720
 Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
 725 730 735
 Asp Cys His Cys Ile
 740

<210> 32

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 32

Ala Ser Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
 1 5 10 15

Lys Glu Ala Ala Ala Lys Gly Thr
 20

<210> 33

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 33

Ala Ser Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
 1 5 10 15

Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 20 25 30

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Gly Thr

35

40

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 34

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

10

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 35

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

1

5

10

15

<210> 36

<211> 706

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 36

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1

5

10

15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20

25

30

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

35

40

45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50

55

60

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

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

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

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305				310				315				320			
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
325				330				335							
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
340				345				350							
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
355				360				365							
Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
370				375				380							
Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
385				390				395				400			
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
405				410				415							
Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
420				425				430							
Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
435				440				445							
Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His
450				455				460							
Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser
465				470				475				480			
Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr
485				490				495							
Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp
500				505				510							
Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala
515				520				525							
Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu
530				535				540							
Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys
545				550				555				560			

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys
595 600 605

Ser Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
610 615 620

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
625 630 635 640

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
645 650 655

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
660 665 670

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
675 680 685

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
690 695 700

Cys Ile

705

<210> 37

<211> 705

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 37

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

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

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

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

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

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

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
 625 630 635 640
 Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
 645 650 655
 Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val
 660 665 670
 Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
 675 680 685

Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
 690 695 700

Ile

705

<210> 38

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 38

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 39

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 39

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 40

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 40

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125
 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

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

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

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

 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
 595 600 605
 Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu

610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu

660 665 670
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 41

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 41

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

<210> 42

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 42

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Ser

35

<210> 43

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

35 40

<210> 44

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

<210> 45

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 45

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ser
 50

<210> 46

<211> 55

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 46

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser

50

55

<210> 47

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 47

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 50 55 60
 <210> 48
 <211> 719
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 48
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125
 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

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

 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

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

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

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

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

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

 610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670

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

675 680 685
Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser

690 695 700
Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

705 710 715

<210> 49

<211> 65

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser

65

<210> 50

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 65 70

<210> 51

<211> 75

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 51

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

50 55 60
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 65 70 75

<210> 52

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 52

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

<210> 53

<211> 85

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 53

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Gly Gly Gly Gly Ser

85

<210> 54

<211> 90

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 54

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

1

5

10

15

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

20 25 30
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

35 40 45
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

85 90

<210> 55

<211> 739

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 55

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

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

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

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

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

370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

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

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

 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 610 615 620

Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg
625 630 635 640

Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp
645 650 655

Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile
660 665 670

Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile
675 680 685

Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys
690 695 700

Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp
705 710 715 720

Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys
725 730 735

His Cys Ile

<210> 56

<211> 717

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 56

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

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

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
580 585 590

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Arg Asn
595 600 605

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
610 615 620

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
625 630 635 640

Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
645 650 655

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
660 665 670

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
675 680 685

Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
690 695 700

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710 715

<210>

57

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 57

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50

55

60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65

70

75

80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85

90

95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100

105

110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115

120

125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130

135

140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145

150

155

160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165

170

175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180

185

190

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

195

200

205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260

265

270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275

280

285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

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

 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

 530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

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

 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser

 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715
 <210> 58
 <211> 719
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 58
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20	25	30	
Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu			
35	40	45	
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys			
50	55	60	
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu			
65	70	75	80
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro			
85	90	95	
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu			
100	105	110	
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His			
115	120	125	
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg			
130	135	140	
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg			
145	150	155	160
Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala			
165	170	175	
Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser			
180	185	190	
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu			
195	200	205	
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro			
210	215	220	
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys			
225	230	235	240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp			
245	250	255	
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser			
260	265	270	

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

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

515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

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

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 59

<211> 717

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 59

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

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

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

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

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

245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510

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

515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala

580 585 590

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Arg Asn

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715

<210> 60

<211> 739

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 60

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225					230								235								240						
Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp												
				245								250								255							
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser												
				260								265								270							
Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His												
				275								280								285							
Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser												
				290								295								300							
Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala												
305								310								315								320			
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg												
				325								330								335							
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr												
				340								345								350							
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu												
				355								360								365							
Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro												
370								375								380											
Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu												
385								390								395								400			
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro												
				405								410								415							
Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys												
				420								425								430							
Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys												
435								440								445											
Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His												
450								455								460											
Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser												
465								470								475								480			

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
610 615 620

Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg
625 630 635 640

Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp
645 650 655

Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile
660 665 670

Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile
675 680 685

Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys
690 695 700

Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp
705 710 715 720

Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys

725

730

735

His Cys Ile

<210> 61

<211> 95

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 62

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 62

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 65 70 75 80
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

85 90 95
 Gly Gly Gly Ser
 100

<210> 63

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> linker

<400> 63

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10

<210> 64

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 64

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

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

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
610 615 620

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
625 630 635 640

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
645 650 655

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
660 665 670

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
675 680 685

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Arg Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
690 695 700

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710 715

<210> 65

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 65

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

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

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

 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

 530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

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

 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Trp Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser

 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715
 <210> 66
 <211> 719
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 66
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

				20				25				30			
Gln	Ser	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu
35				40				45							
Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys
50				55				60							
Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu
65				70				75				80			
Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro
				85				90				95			
Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu
100				105				110							
Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His
115				120				125							
Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg
130				135				140							
Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg
145				150				155				160			
Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala
				165				170				175			
Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser
180				185				190							
Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu
195				200				205							
Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro
210				215				220							
Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys
225				230				235				240			
Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp
				245				250				255			
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
260				265				270							

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

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

515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

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

 Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Ala Ala Pro Ala Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670

 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715
 <210> 67
 <211> 719
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein
 <400> 67

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

370 375 380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510

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

515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715

<210> 68

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 68

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225					230								235								240						
Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp												
				245								250								255							
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser												
				260								265								270							
Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His												
				275								280								285							
Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser												
				290								295								300							
Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala												
305								310								315								320			
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg												
				325								330								335							
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr												
				340								345								350							
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu												
				355								360								365							
Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro												
370								375								380											
Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu												
385								390								395								400			
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro												
				405								410								415							
Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys												
				420								425								430							
Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys												
435								440								445											
Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His												
450								455								460											
Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser												
465								470								475								480			

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
610 615 620

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
625 630 635 640

Ala Ala Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
645 650 655

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
660 665 670

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
675 680 685

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ala Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
690 695 700

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710 715

<210> 69

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 69

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

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

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445

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

450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala

 595 600 605
 Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro

 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu

 660 665 670
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Ala Leu Ala Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser

 690 695 700

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

705 710 715

<210> 70

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 70

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180	185	190	
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu			
195	200	205	
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro			
210	215	220	
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys			
225	230	235	240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp			
245	250	255	
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser			
260	265	270	
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His			
275	280	285	
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser			
290	295	300	
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala			
305	310	315	320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg			
325	330	335	
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr			
340	345	350	
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu			
355	360	365	
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro			
370	375	380	
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu			
385	390	395	400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro			
405	410	415	
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys			
420	425	430	

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
610 615 620

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
625 630 635 640

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
645 650 655

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Trp Ile Lys Thr Ser Leu
660 665 670

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

675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 71

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 71

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

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

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

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

420 425 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

450 455 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

485 490 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

500 505 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

515 520 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

580 585 590
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala

595 600 605
Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu

610 615 620
His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Ala Val

625 630 635 640
Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715

<210> 72

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 72

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

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

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

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

 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
610 615 620

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

625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655

 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 660 665 670
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 73

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 73

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

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

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160
Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175
Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

195 200 205
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

225 230 235 240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

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

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

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
 595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
610 615 620
His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
625 630 635 640
Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
645 650 655
Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Ala Ile Lys Thr Ala Leu
660 665 670
His Ala Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
675 680 685
Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
690 695 700
Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710 715
<210> 74
<211> 719
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> fusion protein
<400> 74
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30
Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85

90

95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100

105

110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115

120

125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130

135

140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145

150

155

160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165

170

175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180

185

190

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

195

200

205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260

265

270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275

280

285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290

295

300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305

310

315

320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325

330

335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala
 595 600 605

Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 610 615 620
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Ala Ala Asp Trp Val
 625 630 635 640
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 645 650 655
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Ala Ala Lys Thr Ser Leu
 660 665 670

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 675 680 685
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 690 695 700
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 75

<211> 719

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 75

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

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

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

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

 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715

<210> 76

<211> 2157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 76

gacgccca agagcgaggt ggcccaccgg ttcaaggacc tggcgagga gaacttcaag 60

gccttggtgc tgatgcctt cgcccagtag ctgcagcagt ccccttcga ggaccacgtg 120

aagctggtga acgaggtgac cgagttcgcc aagacctgct tggccgacga gagcgccgag 180

aactgcgaca agagcctgca caccctgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt ggccaccctg 240

cgggagacct acggcgagat ggccgactgc tgcgccaagc aggagcccga gcggaacgag 300

tgcttcctgc agcacaagga cgacaacccc aacctgcccc ggctgggtgcg gcccagagtg	360
gacgtgatgt gcaccgcctt ccacgacaac gaggagacct tcctgaagaa gtacctgtac	420
gagatcgccc ggcggcaccc ctactttctac gcccccgagc tgctgttctt cgccaagcgg	480
tacaaggcgg ccttcaccga gtgctgccag gccgcccaga aggccgcctg cctgctgccc	540
aagctggacg agctgcggga cgagggaag gccagcagcg ccaagcagcg gctgaagtgc	600
gccagcctgc agaagttcgg cgagcgggccc ttcaaggcct gggccgtggc cgggctgagc	660
cagcggttcc ccaaggccga gttcgccgag gtgagcaagc tggtagccga cctgaccaag	720
gtgcacaccg agtgcgtcca cggcgacctg ctggagtgcg ccgacgaccg ggccgacctg	780
gccaaagtaca tctgcgagaa ccaggacagc atcagcagca agctgaagga gtgctgcgag	840
aagccccctgc tggagaagag ccactgcac gccgaggtgg agaacgacga gatgccccgc	900
gacctgcccc gcctggccgc cgacttcgtg gagagcaagg acgtgtgcaa gaactacgcc	960
gaggccaagg acgtgttctt gggcatgttc ctgtacgagt acgcccggcg gcaccccgac	1020
tacagcgtgg tgctgctgct gcggctggcc aagacctacg agaccacct ggagaagtgc	1080
tgcgccgccc ccgaccccca cgagtgtctac gccaaagtggt tcgacgagtt caagccccctg	1140
gtggaggagc cccagaacct gatcaagcag aactgcgagc tgttcgagca gctgggagcag	1200
tacaagttcc agaacgccct gctggtgcgg tacaccaaga aggtgcccc ggtgagcacc	1260
cccacccctgg tggaggtgag ccggaacctg ggcaaggtgg gcagcaagtg ctgcaagcac	1320
cccgaggcca agcggatgcc ctgcgccgag gactacctga gcgtgggtgct gaaccagctg	1380
tgctgctgc acgagaagac ccccgtagc gaccgggtga ccaagtgtg caccgagagc	1440
ctggtgaacc ggcggccctg cttcagcgcc ctggaggtgg acgagacctt cgtgccaag	1500
gagttcaacg ccgagacctt cactttccac gccgacatct gcaccctgag cgagaaggag	1560
cggcagatca agaagcagac cgccctggtg gagctggtga agcacaagcc caaggccacc	1620
aaggagcagc tgaaggccgt gatggacgac ttgcgccct tcgtggagaa gtgctgcaag	1680
gccgacgaca aggagacctg cttcgccgag gagggcaaga agctggtggc cgccagccag	1740
gccgccctgg gcctgggcag cggcggcggc ggagcggcg gcggcggatc tgggtggaggt	1800
ggcagtgag gagggggatc cgctcgcaac ggtgaccact gccctctggg tcctggtcgc	1860
tgctgccgc tgcacacctg tcgcgttct ctggaagacc tgggttgggc tgactgggtt	1920
ctgtctctc gcgaagtcca gggtaccatg tgcacgggtg cttgcccttc tcagttccgc	1980
gtgctaaca tgcacgtca gatcaaaacc tctctgcacc gcctgaaacc tgacaccgtt	2040
cctgtctctt gctgcgttcc tgcttcttac aacctatgg ttctgatcca gaaaaccgac	2100
accggtgttt ctctgcagac ctacgacgac ctgctggcta aagactgcca ctgcac	2157

<210> 77

<211> 2133

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 77

gatgctcata agtccgaagt cgccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag	60
gccctcgtgc ttatgcctt cgccaatac ctccagcagt ccccgttcga ggaccacgtg	120
aagctcgtga acgaagtgac cgagtttgcc aagacttggt tggcggtatga atccgccgag	180
aactgcgaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgtg	240
agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa	300
tgcttcctgc aacataagga cgataaccct aacttgcctc gcctgggtccg ccctgaggtc	360
gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac	420
gagattgcgc ggaggcaccc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg	480
tacaaggctg cttttaccga atgctgccag gccgccgata aggcggttg cctgctgccg	540
aagctcgacg agttgcgcga tgaggggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt	600
gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgcc ttcaaggcct gggccgtggc gcgcctgtct	660
caacggttcc cgaaggccga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa	720
gtgcacaccg aatgttgtca cggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg	780
gccaaagtaca tctgcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgctgcgaa	840
aagcccttgc tgaaaaagtc ccaactgcac gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgc	900
gacctcccgt ccttgccgcg cgatttcgtg gagtgcgaag atgtgtgcaa gaactacgca	960
gaagccaagg acgtgttctt gggaatgttt ctgtatgagt acgcccgcgc ccaccggac	1020
tactcggteg tgctcctgct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc	1080
tgcgccgcgc cggaaccgca cgagtgtctac gcaaaggtgt tcgacgagtt caagccactt	1140
gtcgaggagc ctcaaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag	1200
tacaaattcc agaacgcgtt tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact	1260
ccgaccctgg tggaagtgtc caggaacctg ggaaaggtcg gctccaagtg ttgcaagcat	1320
cccgaggcta agcgcacgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtgggtgt gaatcagctg	1380
tgctgtctcc atgaaaagac cccagtgtcc gacagagtga ccaagtgtgt taccgaatcg	1440
ctcgtgaacc ggcggccgtg cttttccgca ctggaggtgg acgaaaccta cgtgccgaag	1500

gagttcaacg cagaaacctt cactttccac gccgacatct gcactctgtc cgagaaggag 1560
 cggcagatta agaagcagac tgccttggtg gagcttgtga aacacaagcc taaggccacc 1620
 aaagagcagc tgaaggccgt catggatgat ttcgcggcct tcgtggaaaa gtgtttgtaaa 1680
 gcggacgaca aggagacttg cttcgccgaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag 1740
 gccgctctgg gcctcgctag cgggtggaggg ggcagcgggt gtggaggatc cggtagccgcg 1800
 cgcaacgggg accactgtcc gtcggggccc gggcgttgct gccgtctgca cacggtcgcg 1860

gcgtcgtctg aagacctggg ctgggccgat tgggtgctgt cgccacggga ggtgcaagtg 1920
 accatgtgca tcggcgctg cccgagccag ttccgggcgg caaacatgca cgcgcagatc 1980
 aagacgagcc tgcaccgct gaagcccgac acggtgccag cgccctgtg cgtgcccgcg 2040
 agctacaatc ccatggtgct cattcaaaag accgacaccg ggggtgtcgt ccagacctat 2100
 gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc ata 2133

<210> 78
 <211> 2223
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein coding sequence
 <400> 78

gatgctcata agtccgaagt cgcccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag 60

gccctcgtgc ttatgcctt cgccaatac ctccagcagt ccccgttcga ggaccacgtg 120
 aagctcgtga acgaagtac cgagtttgcc aagacttgtg tggcggatga atccgccgag 180
 aactgcgaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgctg 240
 agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa 300
 tgcttctgc aacataagga cgataaccct aacttgctc gcctgggtccg ccctgaggtc 360
 gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac 420
 gagattgcgc ggaggcaccc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg 480

tacaaggctg cctttaccga atgctgccag gccgccgata aggcggcttg cctgctgccg 540
 aagctcgacg agttgcgca tgaggggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt 600
 gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgcc ttcaaggcct gggcgtggc gcgcctgtct 660
 caacggttcc cgaaggccga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa 720
 gtgcacaccg aatgttgtca gggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg 780
 gccaaagtaca tctcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgctgcgaa 840

aagcccttgc tggaaaagtc ccactgcatc gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgcc 900

gacctcccg tccctggccgc cgatttcgtg gagtcgaagg atgtgtgcaa gaactacgca 960

gaagccaagg acgtgttcc tgggaatgtt ctgtatgagt acgcccgcg ccaccggac 1020

tactcggtcg tgctcctgct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc 1080

tgcgccgccg cggaccgcga cgagtgtac gcaaagggtg tcgacgagtt caagccactt 1140

gtcgaggagc ctcagaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag 1200

tacaaattcc agaacgcgt tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact 1260

ccgaccctgg tggaagtgtc caggaacctg ggaaagggtc gctccaagtg ttgcaagcat 1320

cccagggcta agcgcatgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtgggtgt gaatcagctg 1380

tgcgtgtcc atgaaaagac ccagtggtcc gacagagtga ccaagtgtg taccgaatcg 1440

ctcgtgaacc ggcgccgtg cttttccgca ctggagggtg acgaaacct cgtgccgaag 1500

gagttcaacg cagaaacctt cactttccac gccgacatct gcactctgtc cgagaaggag 1560

cggcagatta agaagcagac tgccctggtg gagcttgtga aacacaagcc taagccacc 1620

aaagagcagc tgaaggccgt catggatgat ttgcggcct tcgtggaaaa gtgttgtaaa 1680

gcggacgaca aggagacttg cttcgccgaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag 1740

gccgtcttgg gcctcgctag cggaggtggc ggatcaggtg gcggaggtag cgggtggaggc 1800

ggctctggcg gaggtggatc aggcggagga ggttccggtg gaggaggctc aggaggagga 1860

ggaagtggag gagggggatc cggatccgcg cgcaacgggg accactgtcc gctcggggcc 1920

gggctgtgt gccgtctgca cacggtccgc gcgtcgctgg aagacctggg ctgggccgat 1980

tgggtgtgt cgccacggga ggtgcaagt accatgtgca tcggcgctg cccgagccag 2040

ttccggcgcg caaacatgca cgcgcagatc aagacgagcc tgcaccgcct gaagcccgc 2100

acggtgccag cgccctgtg cgtgcccgc agctacaatc ccatggtgt cattcaaaag 2160

accgacaccg ggggtgtcgt ccagacctat gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc 2220

ata 2223

<210> 79

<211> 2133

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 79

gatgctcata agtccgaagt cgccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag 60

gccctcgtgc ttatcgctt cgccaatac ctccagcagt ccccgttcga ggaccacgtg	120
aagctcgtga acgaagtac cgagtttgcc aagacttggt tggcggtatga atccgccgag	180
aactgcgaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgtg	240
agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa	300
tgcttctgc aacataagga cgataacct aacttgctc gcctgggtccg ccctgaggtc	360
gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac	420
gagattgcgc ggaggcaccc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg	480
tacaaggtg cctttaccga atgtgccag gccgccgata aggcggttg cctgctgccg	540
aagctcgacg agttgcgca tgagggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt	600
gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgc ttcaaggcct gggccgtggc gcgcctgtct	660
caacggttcc cgaaggccga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa	720
gtgcacaccg aatgttgca cggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg	780
gccaaagta tctgcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgtgcgaa	840
aagcccttgc tgaaaaagtc ccaactgcac gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgcc	900
gacctccgt ccctggccgc cgatttcgtg gagtcgaagg atgtgtgcaa gaactacgca	960
gaagccaagg acgtgttctt gggaatgttt ctgtatgagt acgcccgcg ccaccggac	1020
tactcggtcg tgctctgtct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc	1080
tgcgccgcg cggaaccgca cgagtgtac gaaaaggtgt tcgacgagtt caagccactt	1140
gtcgaggagc ctcagaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag	1200
tacaaattcc agaacgcgtt tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact	1260
ccgaccttg tggaagtgtc caggaaactg gaaaaggtcg gctccaagt ttgcaagcat	1320
cccagggcta agcgcgtgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtgggtgt gaatcagctg	1380
tgcgtgctcc atgaaaagac ccagtgctc gacagagtga ccaagtgtg taccgaatcg	1440
ctcgtgaacc ggcgccgtg cttttccgca ctggaggtgg acgaaaccta cgtgccgaag	1500
gagttcaacg cagaaacctt cactttccac gccgacatct gactctgtc cgagaaggag	1560
cggcagatta agaagcagac tgccctggtg gagcttgtga aacacaagcc taaggccacc	1620
aaagagcagc tgaaggccgt catggatgat ttgcggcct tcgtggaaaa gtgttgtaaa	1680
gcggacgaca aggagacttg cttcgccgaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag	1740
gccgctctgg gcctcgtag cgcacctgcc ccgctccag ctctgcacc aggtaccgcg	1800
cgcaacgggg accactgtcc gctcgggcc gggcgttgct gccgtctgca cacggtccgc	1860

gcgtcgctgg aagacctggg ctgggccgat tgggtgctgt cgccacggga ggtgcaagtg 1920

accatgtgca tcggcgcgtg cccgagccag ttccgggcgg caaacatgca cgcgcagatc 1980

aagacgagcc tgcaccgcct gaagcccgac acggtgccag cgccttctg cgtgcccgcc 2040

agctacaatc ccatggtgct cattcaaaag accgacaccg ggggtgtcgt ccagacctat 2100

gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc ata 2133

<210> 80

<211> 2163

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 80

gatgctcata agtccgaagt cgcccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag 60

gccctcgtgc ttatcgctt cgccaatac ctccagcagt ccccgttcga ggaccacgtg 120

aagctcgtga acgaagtgac cgagtttgcc aagacttgtg tggcggatga atccgccgag 180

aactcgcaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgtg 240

agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa 300

tgcttctgc aacataagga cgataacct aacttgctc gcctggtcg ccctgaggtc 360

gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac 420

gagattgcgc ggaggcaccc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg 480

tacaaggctg cctttaccga atgctgccag gccgccgata aggcggcttg cctgctgccg 540

aagctcgacg agttgcgca tgagggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt 600

gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgcc ttcaaggcct gggccgtggc gcgcctgtct 660

caacggttcc cgaaggccga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa 720

gtgcacaccg aatgttgtca cggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg 780

gccaaagtaca tctgcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgctgcgaa 840

aagcccttgc tggaaaagtc ccactgcac gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgcc 900

gacctccgt ccttgccgc cgatttcgtg gagtgcgaagg atgtgtgcaa gaactacga 960

gaagccaagg acgtgttctt gggaatgttt ctgtatgagt acgcccgcg ccaccggac 1020

tactcggtcg tgctcctgct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc 1080

tgcgccgcg cggaaccgca cgagtgtac gcaaaggtgt tcgacgagtt caagccactt 1140

gtcgaggagc ctcaaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag 1200

tacaaattcc agaacgcgct tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact 1260
 ccgaccttg tggaagtgtc caggaacctg ggaaaggctg gctccaagtg ttgcaagcat 1320
 cccgaggcta agcgcatgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtggtgct gaatcagctg 1380

tgcgtgctcc atgaaaagac cccagtgtcc gacagagtga ccaagtgtg taccgaatcg 1440
 ctctgaacc ggcgccgtg cttttccgca ctggaggagg acgaaacctg cgtgccgaag 1500
 gaggtaacg cagaaacctt cactttccac gccgacatct gcactctgtc cgagaaggag 1560
 cggcagatta agaagcagac tgccttggtg gagcttgtga aacacaagcc taaggccacc 1620
 aaagagcagc tgaaggccgt catggatgat ttgcggcct tcgtggaaaa gtgttgtaaa 1680
 gcggacgaca aggagacttg cttgccgaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag 1740
 gccgctctgg gcctcgttag cgcacctgcc cccgtccag caccgcccc agcccctgct 1800

cccgaccag ctctgcacc aggtaccgt cgcaacggtg accactgccc tctgggtcct 1860
 ggtcgtgct gccgctgca caccgttcgc gcttctctgg aagacctggg ttgggtgac 1920
 tgggttctgt ctctcgcga agttcaggtt accatgtgca tcggtgcttg cccttctcag 1980
 ttccgcgtg ctaaatgca cgctcagatc aaaacctctc tgcaccgct gaaacctgac 2040
 accgttctg ctcttgctg cgttctgct tcttacaacc ctatggttct gatccagaaa 2100
 accgacaccg gtgtttctct gcagacctac gacgacctgc tggctaaaga ctgccactgc 2160
 atc 2163

<210> 81

<211> 2223

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 81

gatgtcata agtccgaagt cgccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag 60
 gccctcgtgc ttatgcctt cgccaatac ctccagcagt cccggttga ggaccacgtg 120
 aagctcgtga acgaagtac cgagtttgc aagacttgtg tggcggatga atccgccgag 180
 aactgcgaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgtg 240
 agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa 300
 tgcttctcgc aacataagga cgataacct aacttgctc gcctgggtccg ccctgaggtc 360

gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac 420
 gagattgcgc ggaggcacc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg 480

tacaaggctg cctttaccga atgctgccag gccgccgata aggcggcttg cctgctgccg 540
aagctcgacg agttgcgcga tgagggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt 600
gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgcc ttcaaggcct gggccgtggc gcgcctgtct 660
caacggttcc cgaaggccga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa 720
gtgcacaccg aatgttgtca cggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg 780

gccaagtaca tctgcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgctgcgaa 840
aagcccttgc tggaaaagtc ccactgcacg gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgcc 900
gacctcccg ccttggccgc cgatttcgtg gagtcgaagg atgtgtgcaa gaactacgca 960
gaagccaagg acgtgttctt gggaatgttt ctgtatgagt acgcccgcg ccaccggac 1020
tactcggtcg tgctcctgct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc 1080
tgcgccgcg cggaaccgca cgagtgtac gcaaagggtg tcgacgagtt caagccactt 1140
gtcgaggagc ctcagaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag 1200

tacaaattcc agaacgcgt tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact 1260
ccgaccttg tggaaagtgc caggaacctg ggaaaggctg gctccaagt ttgcaagcat 1320
cccgaggcta agcgcacgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtggtgct gaatcagctg 1380
tgctgtctcc atgaaaagac cccagtgtcc gacagagtga ccaagtgtg taccgaatcg 1440
ctcgtgaacc ggccggccgtg cttttccgca ctggaggtgg acgaaacct cgtgccgaag 1500
gagttcaacg cagaacctt cactttccac gccgacatct gcactctgtc cgagaaggag 1560
cggcagatta agaagcagac tgccctggtg gagcttgtga aacacaagcc taaggccacc 1620

aaagagcagc tgaaggccgt catggatgat ttccggcct tcgtggaaaa gtgttgtaaa 1680
gcggacgaca aggagacttg cttcgcgcaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag 1740
gccgtcttg gccctgctag cgcacctgcc cccgtccag cccagctcc tgcacctgt 1800
ccagcaccag ctctgcacc agctccagcc cctgcacctg caccgctcc agccccagct 1860
cctgcacctg ctccagcacc aggtaccgcg cgcaacgggg accactgtcc gctcggggcc 1920
gggcgttgt gccgtctgca cacggtccgc gcgtcgtgg aagacctggg ctgggccgat 1980
tgggtgtgt cgccacggga ggtgcaagt accatgtgca tcggcgcgtg cccgagccag 2040

ttccggggcg caaacatgca cgcgcagatc aagacgagcc tgcaccgct gaagcccagc 2100
acggtgccag cgccctgtg cgtgcccgc agctacaatc ccatggtgt cattcaaaag 2160
accgacaccg ggggtgtcgt ccagacctat gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc 2220
ata 2223

<210> 82

<211> 2163

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 82

gatgctcata agtccgaagt cgccacaga ttcaaggacc tcggagaaga aaattttaag	60
gccctcgtgc ttatcgctt cgccaatac ctccagcagt ccccgttcga ggaccacgtg	120
aagctcgtga acgaagtgc cgagtttgcc aagacttgtg tggcggatga atccgccgag	180
aactgcgaca agagcctcca cacgtgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt cgccacgtg	240
agagaaactt acggagagat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagccgga acggaacgaa	300
tgcttctgc aacataagga cgataaccct aacttgctc gcctgggtccg ccctgaggtc	360
gacgtgatgt gcaccgcgtt ccacgacaac gaggaaacct ttcttaagaa gtacctgtac	420
gagattgcgc ggaggcaccc ttatttctac gccccgaac tgttgttctt cgccaagcgg	480
tacaaggctg cttttaccga atgctgccag gccgccgata aggcggttg cctgctgccg	540
aagctcgacg agttgcgca tgagggaag gcgtcctccg ctaagcagcg gctgaaatgt	600
gcgagcctcc agaagttcgg ggagcgcgcc ttcaaggcct gggccgtggc gcgcctgtct	660
caacggttcc cgaaggcga gttcgccgaa gtgtcgaagc tggtcaccga cctgacgaaa	720
gtgcacaccg aatgttgta cggcgatctg ctggaatgcg ccgatgacag agccgatttg	780
gccaaagta tctgcgaaaa ccaggacagc atttcgtcaa agctgaagga atgctgcgaa	840
aagcccttgc tggaaaagtc ccactgcac gcggaagtgg agaacgacga gatgcccgcc	900
gacctccgt cctggccgc cgatttcgtg gagtcaagg atgtgtgcaa gaactacgca	960
gaagccaagg acgtgttctt gggaatgttt ctgtatgagt acgcccgcg ccaccggac	1020
tactcgtcgc tgctcctgct gcgactggca aagacctacg aaaccactct ggagaagtgc	1080
tgcgccgccg cggaccgcga cgagtgtac gcaaagggtg tcgacgagtt caagccactt	1140
gtcgaggagc ctcagaacct gatcaagcag aactgcgaac tgttcgagca gctgggagag	1200
tacaaattcc agaacgcgtt tctcgtgcgc tacaccaaga aggtcccca ggtgtccact	1260
ccgaccttgg tggaaagtgc caggaaactg ggaaaggctg gctccaagt ttgcaagcat	1320
cccagggcta agcgcgtgcc ctgcgccgag gactacttgt ccgtgggtgt gaatcagctg	1380
tgcgtgctcc atgaaaagac ccagtgctc gacagagtga ccaagtgtg taccgaatcg	1440
ctcgtgaacc ggcgccgtg cttttccgca ctggaggtgg acgaaacct cgtgccgaag	1500
gagttcaacg cagaaacctt cactttccac gccgacatct gcactctgtc cgagaaggag	1560

cggcagatta agaagcagac tgccctgggtg gagcttgtga aacacaagcc taaggccacc 1620
 aaagagcagc tgaaggccgt catgatgat ttcgcgccct tcgtggaaaa gtgttgtaaa 1680
 gcggacgaca aggagacttg cttcgccgaa gaaggaaaga agctcgtggc agcgtcacag 1740
 gccgctctgg gcctcgctag cgaagcagca gccaaagaag cagccgcaaa agaagcagcc 1800

 gctaaggagg ccgagcaaaa gggtaccgcg cgcaacgggg accactgtcc gtcggggccc 1860
 gggcgttgct gccgtctgca caccgtccgc gcgtcgctgg aagacctggg ctgggccgat 1920
 tgggtgctgt gccacggga ggtgcaagt accatgtgca tcggcgcgtg cccgagccag 1980
 ttccggcgga caaacatgca cgcgcatgc aagacgagcc tgcaccgcct gaagcccgc 2040
 acggtgccag cgccctgctg cgtgcccgc agctacaatc ccatggtgct cattcaaaag 2100
 accgacaccg ggggtgctgct ccagacctat gatgacttgt tagccaaaga ctgccactgc 2160
 ata 2163

<210> 83

<211> 2157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 83

gacgcccaca agagcgaggt ggcccaccgg ttcaaggacc tgggcgagga gaacttcaag 60
 gccctgggtg tgatgcctt cgcccagtag ctgcagcagt ccccttcga ggaccacgtg 120
 aagctggtga acgaggtgac cgagttcgcc aagacctgcg tggccgacga gagcgccgag 180
 aactgcgaca agagcctgca caccctgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt ggccaccctg 240
 cgggagacct acggcgagat ggccgactgc tgcgccaagc aggagcccga gcggaacgag 300
 tgcttctgc agcacaagga cgacaacccc aacctgcccc ggctgggtgc gcccgaggtg 360

 gacgtgatgt gcaccgcctt ccacgacaac gaggagacct tctgaagaa gtacctgtac 420
 gagatcgccc ggcggcaccc ctacttctac gccccgagc tgcgttctt cgccaagcgg 480
 tacaaggccg ccttcaccga gtgctgccag gccgcccaga aggcgcctg cctgctgccc 540
 aagctggacg agctgcggga cgagggaag gccagcagcg ccaagcagcg gctgaagtgc 600
 gccagcctgc agaagttcgg cgagcgggccc ttcaaggcct gggcctggc cggctgagc 660
 cagcggttcc ccaaggccga gttcgccgag gtgagcaagc tggtgaccga cctgaccaag 720
 gtgcacaccg agtctgcca cggcgacctg ctggagtgcg ccgacgaccg ggccgacctg 780

 gccaaagtaga tctgcgagaa ccaggacagc atcagcagca agctgaagga gtgctgcgag 840

aagccccctgc tggagaagag ccactgcatc gccgaggtgg agaacgacga gatgccccgcc 900

gacctgcccc gcctggccgc cgacttcgtg gagagcaagg acgtgtgcaa gaactacgcc 960

gaggccaagg acgtgttcct gggcatgttc ctgtacgagt acgcccggcg gcaccccgac 1020

tacagcgtgg tgctgctgct gcggctggcc aagacctacg agaccaccct ggagaagtgc 1080

tgcgcgcgcg ccgaccccca cgagtgtctac gccaaaggtgt tcgacgagtt caagccccctg 1140

gtggaggagc cccagaacct gatcaagcag aactgcgagc tgttcgagca gctgggcgag 1200

tacaagtacc agaacgccct gctggtgcgg tacaccaaga aggtgcccc ggtgagcacc 1260

ccccacctgg tggaggtgag ccggaacctg ggcaaggtgg gcagcaagtg ctgcaagcac 1320

cccaggccca agcggatgcc ctgcgccgag gactacctga gcgtggtgct gaaccagctg 1380

tgcgtgctgc acgagaagac ccccgtagc gaccgggtga ccaagtgtg caccgagagc 1440

ctggtgaacc ggcgccctg cttcagcgcc ctggaggtgg acgagacct cgtgccccag 1500

gagttcaacg ccgagacctt cacctccac gccgacatct gcaccctgag cgagaaggag 1560

cggcagatca agaagcagac cgccctggtg gagctggtga agcacaagcc caaggccacc 1620

aaggagcagc tgaaggccgt gatggacgac ttgccgcct tcgtggagaa gtgctgcaag 1680

gccgacgaca aggagacctg cttgcccgag gagggcaaga agctggtggc cgccagccag 1740

gccgccctgg gcctgggcag cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggatc tggtagggt 1800

ggcagtggag gagggggatc cgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccgggcgt 1860

tgctgccgtc tgcacacggt ccgcgcgtcg ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg 1920

ctgtgccac gggaggtgca agtgaccatg tgcacggcg cgtgcccag ccagttccgg 1980

gcggcaaaca tgcacgcga gatcaagacg agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg 2040

ccagcgcct gctgcgtgcc cgccagctac aatccatgg tgctcattca aaagaccgac 2100

accggggtgt cgtccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcata 2157

<210> 84

<211> 2217

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 84

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagg cccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaacagag actcaagtg	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaa	720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctggaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tgaaaaaat ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgca aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatctgat	1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgtg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcaaatat aatcaacaa aattgtgagc tttttagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
ccaactcttg tagaggtctc aagaaacct a gaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat	1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggtcct gaaccagtta	1380
tgtgtgttgc atgagaaaa gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc	1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaaacata cgttccaaa	1500
gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag	1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca	1620
aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag	1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa	1740
gctgccttag gcttaggcag cggcgccggc ggcagcggcg gcggcggatc tggtaggagt	1800
ggcagtggag gagggggatc cggcgccggc ggcagcggcg gcggcggatc tggtaggagt	1860
ggcagtggag gagggggatc cgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccggcgt	1920

tgctgccgtc tgcacacggt ccgcgcgtcg ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg	1980
ctgtcgccac gggaggtgca agtgaccatg tgcacggcg cgtgcccag ccagttccgg	2040
gcggcaaaca tgcacgcgca gatcaagacg agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg	2100
ccagcgccct gctgcgtgcc cgccagctac aatcccatgg tgctcattca aaagaccgac	2160
accggggtgt cgctccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcata	2217
<210> 85	
<211> 2151	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> fusion protein coding sequence	
<400> 85	
gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagg cccatttga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgtttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gacttgcttt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaaa atacttatat	420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttgagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgccct cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260

ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctt ggaaggtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320

ctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560

agacaaatca agaacaacac tgcaacttgt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740

gctgccttag gcttagcacc tgccccgct ccagcaccgc cccagcccc tgctcccgca 1800

ccagctcctg caccagcgcg caacggggac cactgtccgc tcgggcccgg gcgttgctgc 1860

cgtctgcaca cggctccgcg gtcgtggaa gacctgggct gggccgattg ggtgctgtcg 1920

ccacgggagg tgcaagtgc catgtgcac ggcgctgcc cgagccagtt cgggcccggca 1980

aacatgcacg cgcagatcaa gacgagcctg caccgcctga agcccacac ggtgccagcg 2040

ccctgtctgcg tgcccgccag ctacaatccc atggtgtca ttcaaaagac cgacaccggg 2100

gtgtcgtcc agacctatga tgacttgta gccaaagact gccactgcat a 2151

<210> 86

<211> 2157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 86

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat ctacagcagt cccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt 360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat tttgaaaaa atacttatat 420

gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccgaac tccttttctt tgctaaaagg 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600

gccagctctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaagtata tcigtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
gacttgcctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
tgtgccgtg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
gtggaagagc ctcaaatat aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttggagag 1200

tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaacctta ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaacat 1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380
tgtgtgttgc atgagaaaa gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaacata cgttcccaaa 1500
gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
agacaaatca agaacaaca tgcaattgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
gtgacgata aggagacctg ctttcccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa 1740
gtcgccttag gcttaggcag cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggatc tggtaggagt 1800
ggcagtggag gagggggatc cgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccgggcgt 1860
tgctgccgtc tgcacacggt ccgcgcgtcg ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg 1920
ctgtgccac gggagggtgca agtgaccatg tgcacggcg cgtgcccag ccagttccgg 1980
gcggcaaaca tgcacgcga gatcaagacg agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg 2040

ccagcgccct gctgcgtgcc cgccagctac aatcccatgg tgctcattca aaagaccgac 2100
accggggtgt cgctccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcata 2157

<210> 87
<211> 2157
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 87

gacgcccaca agagcgaggt ggcccacaga ttcaaggacc tgggcgagga aaacttcaag	60
gcccttggtgc tgatgcctt cccccagtag ctgcagcaga gccccttcga ggaccacgtg	120
aagctggtca acgaagtgc cgagttcgcc aagacctgcg tggccgacga gagcgccgag	180
aactgcgaca agagcctgca caccctgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt ggccaccctg	240
cgggaaacct acggcgagat ggccgactgc tgcgccaagc aggaacccga gcggaacgag	300
tgcttctctgc agcacaagga cgacaacccc aacctgcca gactcgtgcg gcccagagtg	360
gacgtgatgt gcaccgcctt ccacgacaac gaggaaacct tctgaagaa gtacctgtac	420
gagatcgcca gacggcaccc ctacttctac gcccccgagc tgcgtttctt cgccaagcgg	480
tacaaggcgg ccttcaccga gtgctgccag gccgcccata agggccgctg cctgctgccc	540
aagctggacg agctgagaga tgagggaag gccagctccg ccaagcagcg gctgaagtgc	600
gccagcctgc agaagttcgg cgagcgggccc ttttaaggctt gggctgtggc ccggctgagc	660
cagagattcc ccaaggccga gtttgccgag gtgtccaagc tggtcaccga cctgaccaag	720
gtgcacaccg agtgtttgca cggcgacctg ctggaatgcg ccgacgacag agccgacctg	780
gccaagtaca tctgcgagaa ccaggacagc atcagcagca agctgaaaga gtgctgcgag	840
aagccccctg tggaaaagag ccaactgtatc gccgaggtgg aaaacgacga gatgcccgt	900
gacctgcccc gectggccgc cgacttcgtg gaaagcaagg acgtgtgcaa gaactacgcc	960
gaggccaagg atgtgttctt gggcatgttc ctgtatgagt acgcccgcag acaccccgac	1020
tacagcgtgg tgctgctgct gcggctggcc aagacctacg agacaaccct ggaaaagtgc	1080
tgccgctg cgcaccccca cgagtgtac gccaaagtgt tcgacgagtt caagcctctg	1140
gtggaagaac cccagaacct gatcaagcag aactgcgagc tgttcgagca gctgggcgag	1200
tacaagttcc agaagccctt gctcgtgcgg tacaccaaga aagtgcccc ggtgtccacc	1260
cccacctgg tcgaagtgtc ccggaacctg ggcaaatgg gcagcaagtg ctgcaagcac	1320
cctgaggcca agcggatgcc ctgcgccgag gactacctgt ccgtggtgct gaaccagctg	1380
tgctgtctgc acgagaaaa ccccggtgtc gacagagtga ccaagtgtg taccgagagc	1440
ctggtcaaca gacggccctg cttcagcgcc ctggaagtgg acgagacata cgtgccc aaa	1500
gagttcaacg ccgagacatt caccttccac gccgacatct gcacctgag cgagaaagag	1560
cggcagatca agaagcagac cgccctggtc gagctggtca agcacaagcc caaggccacc	1620
aaagaacagc tgaaggccgt gatggacgac ttccgccctt tcgtcgagaa gtgttgcaag	1680
gccgacgaca aagagacatg cttcgccgaa gagggcaaga aactggtggc cgcctctcag	1740
gccgcccctgg gactgggacg tggcgccgga ggaagcggag gcggaggatc tgggggaggc	1800

ggctctggcg gagggggatc cgccagaaat ggcgaccact gtccctggg ccctggccgg 1860
 tgttcgacag tgcacacagt gcgggccagc ctggaagatc tgggctgggc cgattgggtg 1920

ctgagcccca gagaagtga ggtcacaatg tgcacggcg cctgccccag ccagttcaga 1980
 gccgccaaca tgcacgcca gatcaagacc agcctgcacc ggctgaagcc cgacaccgtg 2040
 cctgccccctt gttgcgtgcc cgccagctac aaccccatgg tgcgtattca gaaaaccgac 2100
 accggcgtgt ccctgcagac ctacgacgat ctgctggcca aggactgcca ctgcac 2157

<210> 88
 <211> 2157
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein coding sequence
 <400> 88

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60
 gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagg ccccatTTga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180
 aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240
 cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300
 tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtag accagaggtt 360
 gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat 420
 gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccgaac tccttttctt tgctaaaagg 480
 tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600
 gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
 cagagatttc ccaaagctga gtttgagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
 gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780
 gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
 aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
 gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020
 tactctgtcg tgcgtctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
 tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200
tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc 1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcceaaa 1500
gagtttaatg ctgaaacatt caccitccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620
aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttgttgc tgcaagtcaa 1740
gctgccttag gcttaggcag cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggatc tggtagaggt 1800

ggcagtgagg gagggggatc cgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccgggcgt 1860
tgctgccgtc tgcacacggt ccgcgcgtcg ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg 1920
ctgtcgccac gggaggtgca agtgaccatg tgcacggcg cgtgcccag ccagttccgg 1980
gcggcaacaa tgcacgcga gatcaagacg agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg 2040
ccagcgcctt gctgcgtgcc cgccagctac aatcccatgg tgctcattca aaagaccgac 2100
accgggggtg cgtccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcata 2157

<210> 89
<211> 2151
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 89

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60
gccttgggtg tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatgtga agatcatgta 120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt 360

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat 420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccgaac tccttttctt tgctaaaagg 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
cagagatttc ccaaagctga gtttgacaga gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
gacttgccctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
tgtgccgctg cagatctcca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaaa aattgtgagc tttttgagca gcttggagag 1200

tacaaattcc agaatgcgtt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaattg ttgtaaacat 1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc 1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaaacata cgttcccaaa 1500
gagtttaagt ctgaaacatt caccitccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgtt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740
gctgccttag gcttagcacc tgccccctgt ccagcacccg cccagcccc tgctcccga 1800
ccagctcctg caccagcgcg caacggggac cactgtccgc tcgggccccg gcgttgctgc 1860
cgtctgcaca cggtccgccc gtcgtggaa gacctgggct gggccgattg ggtgctgtcg 1920
ccacgggagg tgcaagtgc catgtgcac ggccgctgcc cgagccagtt ccgggcggca 1980
aacatgcacg cgagatcaa gacgagcctg caccgcctga agcccgacac ggtgccagcg 2040

ccctgtgtcg tgccccccag ctacaatccc atggtgtctc ttcaaaagac cgacaccggg 2100
gtgtcgtccc agacctatga tgacttgtaa gccaaagact gccactgcat a 2151

<210> 90

<211> 2217

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 90

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatTTga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgTgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgca aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcaaatTT aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaaacct a ggaaggtgg gcagcaaag ttgtaaacat	1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta	1380
tgtgtgttgc atgagaaaa gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc	1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa	1500
gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag	1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca	1620
aaagagcaac tgaaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag	1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740

gctgccttag gcttaggcag cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggatc tggaggaggt 1800

ggcagtgag gagggggatc cggcggcggc ggcagcggcg gcggcggatc tggaggaggt 1860

ggcagtgag gagggggatc cgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccggcggt 1920

tgctgccgtc tgcacacggt ccgcgcgctc ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg 1980

ctgtcgccac gggagggtga agtgacatg tgcacggcg cgtgcccag ccagttccgg 2040

gcggcaaaca tgcacgcga gatcaagac agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg 2100

ccagcgccct gctcgctgc ccagcgtac aatcccatgg tgctcattca aaagaccgac 2160

accggggtgt cgctccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcata 2217

<210> 91

<211> 2157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 91

gacgcccaca agagcgaggt ggcccaccgg ttcaaggacc tgggcgagga gaacttcaag 60

gccctggtgc tgatgcctt cgcccagtac ctgcagcagt ccccttcga ggaccacgtg 120

aagctggtga acgaggtgac cgagttcgcc aagacctgcg tggccgacga gagcgccgag 180

aactgcgaca agagcctgca caccctgttc ggcgacaagc tgtgcaccgt ggccaccctg 240

cgggagacct acggcgagat ggccgactgc tgcgccaagc aggagcccga gcggaacgag 300

tgcttctgc agcacaagga cgacaacccc aacctgcccc ggctggtgcg gcccaggtg 360

gacgtgatgt gcaccgcctt ccacgacaac gaggagacct tcctgaagaa gtacctgtac 420

gagatcgccc ggcggcaccc ctacttctac gcccccgagc tgctgttctt cgccaagcgg 480

tacaaggccg ctttaccga gtgctgccag gccgccgaca aggccgcctg cctgctgccc 540

aagctggacg agctgcggga cgagggaag gccagcagcg ccaagcagcg gctgaagtgc 600

gccagcctgc agaagttcgg cgagcgggccc ttcaaggcct gggccgtggc ccggctgagc 660

cagcggttcc ccaaggccga gttcgcccag gtgagcaagc tggtagaccga cctgaccaag 720

gtgcacaccg agtgcctcca cggcgacctg ctggagtgcg ccgacgaccg ggccgacctg 780

gccaagtaca tctgcgagaa ccaggacagc atcagcagca agctgaagga gtgctgcgag 840

aagccctgc tggagaagag ccaactgcac gccgaggtgg agaacgacga gatccccgcc 900

gacctgcccc gcctggccgc cgacttcgtg gagagcaagg acgtgtgcaa gaactacgcc 960

gaggccaagg acgtgttctt gggcatgttc ctgtacgagt acgcccggcg gcaccccgac 1020
 tacagcgtgg tgctgtctgt gcggctggcc aagacctacg agaccaccct ggagaagtgc 1080
 tgcgccgccc ccgaccccca cgagtgttac gccaaggtgt tcgacgagtt caagcccctg 1140
 gtggaggagc cccagaacct gatcaagcag aactgcgagc tgttcgagca gctgggagcag 1200
 tacaagtacc agaagccctt gctggtgcgg tacaccaaga aggtgcccc ggtgagcacc 1260
 cccaccctgg tggaggtgag ccggaacctg ggcaaggtgg gcagcaagtg ctgcaagcac 1320

 cccgaggcca agcggatgcc ctgcccag gactacctga gcgtggtgct gaaccagctg 1380
 tgctgtctgc acgagaagac cccgtgagc gaccgggtga ccaagtgtg caccgagagc 1440
 ctggtgaacc ggcggccctg cttcagcgcc ctggaggtgg acgagacctt cgtgcccaag 1500
 gatttaacg ccgagacctt caccitccac gccgacatct gcaccctgag cgagaaggag 1560
 cggcagatca agaagcagac cgccctggtg gagctggtga agcacaagcc caaggccacc 1620
 aaggagcagc tgaaggccgt gatggacgac ttccgcccct tcgtggagaa gtgctgcaag 1680
 gccgacgaca aggagacctg cttcggcag gagggcaaga agctggtggc cgccagccag 1740

 gccgccctgg gcctgggcag cggcggcggc ggagcggcg gcggcgatc tgggtggaggt 1800
 ggagtgagg gagggggatc cgctcgcaac ggtgacctt gccctctggg tctgtgtcgc 1860
 tgctgccgc tgcacaccgt tcgcgttct ctggaagacc tgggttgggc tgactgggtt 1920
 ctgtctctc gcgaagtta gggtaccatg tgcacggtg cttgcccttc tcagttccgc 1980
 gctgctaaca tgcacgttg gatcaaac tctctgcacc gcctgaaacc tgacaccgtt 2040
 cctgtctctt gctgcgttcc tgcctcttac aacctatgg ttctgatcca gaaaaccgac 2100
 accggtgttt ctctgcagac ctacgacgac ctgctggcta aagactgcca ctgcatc 2157

<210> 92

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 92

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80
 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110

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

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

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

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560

 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 610 615 620

 Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 625 630 635 640
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 645 650 655
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 660 665 670
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 675 680 685

 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 690 695 700
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 705 710 715 720
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 725 730 735

 <210> 93
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein coding sequence
 <400> 93

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

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

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

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

				245				250				255			
Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser
260				265				270							
Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His
275				280				285							
Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser
290				295				300							
Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala
305				310				315				320			
Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg
325				330				335							
Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr
340				345				350							
Tyr	Glu	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu
355				360				365							
Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro
370				375				380							
Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu
385				390				395				400			
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro
405				410				415							
Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys
420				425				430							
Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys
435				440				445							
Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His
450				455				460							
Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser
465				470				475				480			
Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr
485				490				495							

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
610 615 620

Gly Gly Ser His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
625 630 635 640

Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
645 650 655

Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
660 665 670

Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His
675 680 685

Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
690 695 700

Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu
705 710 715 720

Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
725 730

<210> 94

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 94

Glu Phe His His His His His Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala

1 5 10 15

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu

20 25 30

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val

35 40 45

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp

50 55 60

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp

65 70 75 80

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala

85 90 95

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln

100 105 110

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val

115 120 125

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys

130 135 140

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro

145 150 155 160

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys

165 170 175

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu

180 185 190

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

195 200 205

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val

210 215 220

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser

225 230 235 240

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly

245 250 255

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile

260 265 270

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu

275 280 285

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp

290 295 300

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser

305 310 315 320

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys

355 360 365

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu

370 375 380

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys

385 390 395 400

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu

405 410 415

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

420 425 430

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His

435 440 445

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

450 455 460
 Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg

 465 470 475 480
 Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe

 485 490 495
 Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala

 500 505 510
 Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu

 515 520 525
 Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys

 530 535 540
 Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
 545 550 555 560
 Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe

 565 570 575
 Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly

 580 585 590
 Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

 595 600 605
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro Ala
 610 615 620
 Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 625 630 635 640
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val

 645 650 655
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro

 660 665 670
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu

 675 680 685
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala

 690 695 700

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 705 710 715 720
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

725 730 735

<210> 95

<211> 2205

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 95

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatTTga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat	420
gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttgcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg ctgaaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaaat ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacctgat	1020
tactctgtcg tgetgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcaaatTT aatcaacaaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtacccta agtgtcaact	1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaggtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttg atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440

ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaaacata cgttcccaaa 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccctccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560

agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680

gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740

gtgccttag ggcttggaag cggcggaggg ggagtggtgc gcggtggctc cggggggggc 1800

ggatccggcg gagggggcag cgggggtgga ggagtggtgc ggggaggatc agggggagga 1860

ggatcaggag ggggcggaag tgatcattgc cctctcgggc ccggacggtg ttgccgcctc 1920

cacactgtga gggcttcact tgaagacctt ggatgggccc actgggtgct gtccccaaga 1980

gaggtacaag tcacaatgtg tattggcgcc tgccccagcc agtttcgcgc cgctaacatg 2040

cacgcccaga taaaaccacg cctgcaccgc ctgaagcccg acacggtgcc agcgccctgc 2100

tgcgtgcccc ccagctacaa tcccatggtg ctcatcaaa agaccgacac cgggggtgctg 2160

ctccagacct atgatgactt gttagccaaa gactgccact gcata 2205

<210> 96

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 96

ggggaccact gtccgctcgg gcccgggctg tctgcccgtc tgcacacggt ccgcgcgtcg 60

ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg ctgtcgccac gggaggtgca agtgaccatg 120

tgcatcggtg cgtgcccag ccagttccgg gcggcaaaac tgcacgcgca gatcaagacg 180

agcctgcacc gcctgaagcc cgacacggtg ccagcgccct gctgcgtgcc cgccagctac 240

aatccatgg tgctcattca aaagaccgac accgggggtg cgctccagac ctatgatgac 300

ttgttagcca aagactgcca ctgcata 327

<210> 97

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 97

gaccactgtc cgctcgggcc cgggcgttgc tgccgtctgc acacggtccg cgcgtcgtg	60
gaagacctgg gctgggccga ttgggtgctg tcgccacggg aggtgcaagt gaccatgtgc	120
atcggcgcgt gcccagacca gtccggggcg gcaaacatgc acgcgcagat caagacgagc	180
ctgcaccgcc tgaagccga cagggtgcca gcgccctgct gcgtgcccgc cagctacaat	240
cccatggtgc tcattcaaaa gaccgacacc ggggtgtcgc tccagaccta tgatgacttg	300
ttagccaaag actgccactg cata	324

<210> 98

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 98

gatcattgcc ctctcgggcc cggacgggtg tgccgcctcc aactgtgag ggcttcactt	60
gaagaccttg gatgggccga ctgggtgctg tccccagag aggtacaagt cacaatgtgt	120
attggcgctt gcccagacca gtctcgcgcc gctaacatgc acgcccagat aaaaaccagc	180
ctgcaccgcc tgaagccga cagggtgcca gcgccctgct gcgtgcccgc cagctacaat	240
cccatggtgc tcattcaaaa gaccgacacc ggggtgtcgc tccagaccta tgatgacttg	300
ttagccaaag actgccactg cata	324

<210> 99

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 99

gatcattgtc cccttgacc gggtagatgc tgcgcctgc acactgtgc ggcttcactg	60
gaggacctcg gctgggtga ctgggtgctg tccccacggg aggtgcaagt gaccatgtgc	120
atcggcgcct gtccttcgca attccgggcc gcgaatatgc acgcccagat caagacctcc	180
ctgcacgcc tcaagccga cactgtgctt gctccatgct gtgtgccgc ctcctataac	240
cccatggtgc tgatccagaa aaccgatacc ggcgtcagcc tgcagacgta tgatgatctg	300
ctggccaagg actgccattg catc	324

<210> 100
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GDF15 variant
 <400> 100
 cactgtccgc tcgggcccg gcggttgctgc cgtctgcaca cgggccgcgc gtcgctggaa 60
 gacctgggct ggcccgattg ggtgctgtcg ccacgggagg tgcaagtac catgtgcatc 120

 ggcgctgcc cgagccagtt ccggggcgca aacatgcacg cgcagatcaa gacgagcctg 180
 caccgcctga agcccgacac ggtgccagcg ccctgctgcg tgcccgccag ctacaatccc 240
 atggtgctca ttcaaaagac cgacaccggg gtgtcgtcc agacctatga tgacttgta 300
 gccaaagact gccactgcat a 321
 <210> 101
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GDF15 variant
 <400> 101
 cattgcctc tcgggcccg acggtgttgc cgctccaca ctgtgagggc ttcacttgaa 60
 gaccttggat ggcccgactg ggtgctgtcc ccaagagagg tacaagtcac aatgtgtatt 120

 ggcgctgcc ccagccagtt tcgcgccgt aacatgcacg ccagataaa aaccagcctg 180
 caccgcctga agcccgacac ggtgccagcg ccctgctgcg tgcccgccag ctacaatccc 240
 atggtgctca ttcaaaagac cgacaccggg gtgtcgtcc agacctatga tgacttgta 300
 gccaaagact gccactgcat a 321
 <210> 102
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GDF15 variant
 <400> 102
 cattgtccc ttggaccggg tagatgctgt cgctgcaca ctgtgcgggc ttcactggag 60
 gacctcggct gggtgactg ggtgctgtcc ccacgggagg tgcaagtac catgtgcatc 120

ggcgctgtc cticgcaatt ccgggccg aatatgcacg ccagatcaa gacctccctg 180
catcgctca agcccgacac tgtgctgtc ccatgctgtg tgccggcctc ctataacccc 240
atggtgctga tccagaaaac cgataccggc gtcagcctgc agacgtatga tgatctgtg 300
gccaaggact gccattgcat c 321

<210> 103
<211> 318
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> GDF15 variant
<400> 103

tgtccgtcg ggcccggcg ttgctgccgt ctgcacacgg tccgcgcgtc gctggaagac 60
ctgggctggg ccgattgggt gctgtcgcca cgggaggtgc aagtgacat gtgcatcggc 120

gcgtgcccga gccagttccg ggccgcaaac atgcacgcgc agatcaagac gacgtgcac 180
cgctgaagc ccgacacggt gccagcgccc tgtgctgtgc ccgccagcta caatcccatg 240
gtgctcattc aaaagaccga caccgggggtg tcgctccaga cctatgatga ctgtttagcc 300
aaagactgcc actgcata 318

<210> 104
<211> 318
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> GDF15 variant
<400> 104

tgccctctcg ggcccggacg gtgttgccgc ctccacactg tgagggttc acttgaagac 60
cttgatggg ccgactgggt gctgtcccca agagaggtac aagtcacaat gtgtattggc 120

gcctgcccc gccagtttcg cgccgctaac atgcacgccc agataaaaac cagcctgcac 180
cgctgaagc ccgacacggt gccagcgccc tgtgctgtgc ccgccagcta caatcccatg 240
gtgctcattc aaaagaccga caccgggggtg tcgctccaga cctatgatga ctgtttagcc 300
aaagactgcc actgcata 318

<210> 105
<211> 318
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> GDF15 variant

<400> 105

tgtcccttg gaccgggtag atgtgtcgc ctgcacactg tgcgggcttc actggaggac 60

ctcggtctggg ctgactgggt gctgtcccca cgggaggtgc aagtgaccat gtgcatcggc 120

gcctgtcctt cgcaattccg ggccgcgaat atgcacgccc agatcaagac ctccctgcat 180

cgcctcaage ccgacactgt gcctgtcca tctgtgtgc cgccctcta taaccccatg 240

gtgtgatcc agaaaaccga taccggcgtc agcctgcaga cgtatgatga tctgtggcc 300

aaggactgcc attgcatc 318

<210> 106

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 106

tgccgtctgc acacggtccg gcgctcgtg gaagacctgg gctgggccga ttgggtgctg 60

tcgccacggg aggtgcaagt gaccatgtgc atcggcgcgt gcccagacca gtccgggcg 120

gcaaacatgc acgcgcagat caagacgagc ctgcaccgcc tgaagcccga cacggtgcca 180

gcgcctgct gcgtgccgc cagctacaat cccatggtgc tcattcaaaa gaccgacacc 240

ggggtgtcgc tccagaccta tgatgacttg ttagccaaag actgccactg cata 294

<210> 107

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 107

tgccgcctcc aactgtgag ggcttcactt gaagaccttg gatgggccga ctgggtgctg 60

tccccagag aggtacaagt cacaatgtgt attggcgctt gcccagacca gtctcgcc 120

gctaacaatgc acgcccagat aaaaaccagc ctgcaccgcc tgaagcccga cacggtgcca 180

gcgcctgct gcgtgccgc cagctacaat cccatggtgc tcattcaaaa gaccgacacc 240

ggggtgtcgc tccagaccta tgatgacttg ttagccaaag actgccactg cata 294

<210> 108

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GDF15 variant

<400> 108

tgtcgcctgc acactgtgcg ggcttcactg gaggacctcg gctgggctga ctgggtgctg	60
tccccacggg aggtgcaagt gaccatgtgc atcggcgctt gtccttcgca attccgggcc	120
gcgaatatgc acgcccagat caagacctcc ctgcatcgcc tcaagcccga cactgtgcct	180
gtcccatgct gtgtgccggc ctctataac cccatgggtg tgatccagaa aaccgatacc	240

ggcgtcagcc tgcagacgta tgatgatctg ctggccaagg actgccattg catc	294
---	-----

<210> 109

<211> 2217

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 109

gatgcgacac agtcggaagt ggcccatcgc ttttaaggacc tgggagaaga gaacttcaag	60
gccctgggtc tgatcgctt cgcccagtag ctccagcagt ccccgtttga ggaccacgtc	120
aagcttctga acgaagtgc cgagttcgca aagacttgtg tggccgatga gtccgccgaa	180
aactgcgaca agtccctgca cactttgttc ggagacaagc tgtgcaccgt cgcgactttg	240
cgggagactt acggcgaaat ggccgactgc tgcgcaaagc aggagcccga aaggaacgag	300

tgcttcctgc aacacaagga cgacaacccg aaccttccga gactcgtgcg gcctgaggtc	360
gacgtgatgt gactgcatt ccatgataac gaagaaacat tcctgaagaa gtacctgtat	420
gaaattgccg gacgccacc gtacttctac gccccgaac tgctgttctt cgccaagaga	480
tacaaggccg cttttaccga atgttgtcaa gccgccgata aggcagcgtg cctgctgccg	540
aagttggacg agctcaggga cgaaggaaag gcctcgtccg ccaagcagag gctgaagtgc	600
gcgtcgctcc agaagtttgg agagcgggct ttttaaggcct gggcagtggc taggttgagc	660
cagaggttcc ccaaggcgga gtttgccgaa gtgtccaagc tcgtgactga cctgactaaa	720

gtccataccg aatgctgccg cggcgatctg ctgcaatgcg cagatgaccg ggcggatttg	780
gccaaagtaca ttitcgaaaa ccaagactcc ataagctcca agctgaagga gtgctgtgaa	840
aagcctctgc tcgagaagtc ccactgtatc gccgaggtgg agaacgacga aatgccggca	900
gacctcccta gcctggcagc cgacttcgtc gaatccaagg acgtgtgcaa gaactacgcc	960
gaagcgaagg acgtgttctt gggaatgttc ctgtacgagt acgccagacg gcattccagac	1020
tactccgtgg tgcttctctt gcggctggcc aagacttatg aaacgaccct ggagaaatgt	1080

tgcgctgctg ctgacccaca cgagtgttac gccaaagtgt tcgacgagtt taagcctctc 1140

 gttgaggaac cccagaacct catcaagcag aactgcgaac ttttcgagca gctcggggag 1200
 tacaagttcc aaaacgcgct gcttgtccgc tacaccaaga aagtgccgca agtgtccaca 1260
 ccgacctctg tggaagtgtc caggaacctg ggcaaagtgc gaagcaaagt ttgcaagcac 1320
 cccgaagcca agcgcgatgc gtgcgcagag gactaccttt cgggtggtgtt gaaccagctc 1380
 tgcgtcctgc acgaaaagac cccggtgtca gaccgcgtga ccaagtgtg taccgaaagc 1440
 ctctgaatc ggcgccccctg cttctcggcc ctggagggtg acgaaactta cgtgccgaaa 1500
 gatttcaacg cggaacacct cacttttcat gccgatattc gcacctgtc cgagaaggag 1560

 cggcagatca agaagcagac cgccctgggtg gagcttgtga aacacaagcc gaaggccact 1620
 aaggaacagc tgaaggccgt catggacgat ttcgtgcct tcgtcgagaa gtgctgcaag 1680
 gccgacgaca aggagacttg cttcgtgaa gaagggaaga agcttgtggc cgctagccag 1740
 gctgcactgg gactgggtag cgggtggaggg ggatcagggg gtggtggatc gggaggagga 1800
 ggatcaggag gtggcggtc aggaggaggc ggatcaggcg gtggaggatc cggaggcgga 1860
 ggatcggtg gaggaggctc agcgaggaaac ggggatcatt gtcaccttgg accgggtaga 1920
 tgctgtcgcc tgcacactgt gcgggcttca ctggaggacc tcggctgggc tgactgggtg 1980

 ctgtccccac gggagggtgca agtgaccatg tgcacggcg cctgtccttc gcaattccgg 2040
 gccgcgaata tgcacgcca gatcaagacc tcctgcatc gcctcaagcc cgacactgtg 2100
 cctgtccat gctgtgtgcc ggcctcctat aacccatgg tgctgatcca gaaaaccgat 2160
 accggcgta gctgcagac gtatgatgat ctgctggcca aggactgcca ttgcatc 2217

 <210> 110
 <211> 2205
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> fusion protein coding sequence
 <400> 110

 gatgcgaca agtcggaagt ggcccatgc ttttaaggacc tgggagaaga gaacttcaag 60
 gccctggtcc tgatcgctt cgcccagtag ctccagcagt ccccgtttga ggaccacgtc 120

 aagcttgtga acgaagtgc cgagtgcga aagacttgtg tggccgatga gtccgcca 180
 aactgcgaca agtccctgca cacttgttc ggagacaagc tgtgcaccgt cgcgactttg 240
 cgggagactt accgcaaat ggcggactgc tgcgcaaagc aggagcccga aaggaacgag 300
 tgcttctgc aacacaagga cgacaaccg aaccttccga gactcgtgcg gcctgaggtc 360

gacgtgatgt gcactgcatt ccatgataac gaagaaacat tcctgaagaa gtacctgtat	420
gaaattgcc a gacgccccc gtacttctac gccccgaac tgctgttctt cgccaagaga	480
tacaaggccg cctttaccga atgttgtcaa gccgccgata aggcagcgtg cctgctgccg	540
aagttggacg agctcaggga cgaaggaaag gcctcgtccg ccaagcagag gctgaagtgc	600
gcgtcgtcc agaagtttgg agagcgggct ttttaaggcct gggcagtggc taggttgagc	660
cagaggttcc ccaaggcgga gtttccgaa gtgtccaagc tcgtgactga cctgactaaa	720
gtccataccg aatgctgcc a ggcgatctg ctgcaatgcg cagatgaccg ggcggatttg	780
gccaagtaca tttcgaaaa ccaagactcc ataagctcca agctgaagga gtgctgtgaa	840
aagcctctgc tcgagaagtc ccactgtatc gccgaggtgg agaacgacga aatgccggca	900
gacctcccta gcctggcagc cgacttcgtc gaatccaagg acgtgtgcaa gaactacgcc	960
gaagcgaagg acgtgttctt gggaaatgtt ctgtacgagt acgccagacg gcattccagac	1020
tactccgtgg tgcttctctt gcggctggcc aagacttatg aaacgaccct ggagaaatgt	1080
tgcgctgctg ctgaccaca cgagtgtac gccaaagtgt tcgacgagtt taagcctctc	1140
gtggaggaac ccagaacct catcaagcag aactgcgaac ttttcgagca gctcggggag	1200
tacaagttcc aaaacgcgt gcttgtccgc tacaccaaga aagtgccgca agtgtccaca	1260
ccgaccctcg tggaagtgtc caggaacctg ggcaaagtgc gaagcaaatg ttgcaagcac	1320
cccgaagcca agcgcagtgc gtgcgcagag gactaccttt cgggtggtgtt gaaccagctc	1380
tgctcctgc acgaaaagac cccggtgtca gaccgcgtga ccaagtgtg taccgaaagc	1440
ctcgtgaatc ggcgcccctg ctctcggcc ctggaggtgg acgaaactta cgtgccgaaa	1500
gagttcaacg cgaaacctt cacctttcat gccgatatct gcaccctgtc cgagaaggag	1560
cggcagatca agaagcagac gcacctggtg gagcttgtga aacacaagcc gaaggccact	1620
aaggaacagc tgaaggccgt catggacgat ttcgctgcct tcgtcgagaa gtgctgcaag	1680
gccgacgaca aggagacttg ctctcgtgaa gaagggaaga agcttgtggc cgctagccag	1740
gctgcactgg gactgggtag cgggtggaggg ggatcagggg gtggtggatc gggaggagga	1800
ggatcaggag gtggcggtc aggaggaggc ggatcaggcg gtggaggatc cggaggcgga	1860
ggatcgggtg gaggaggctc agatcattgt ccccttggac cgggtagatg ctgtcgcctg	1920
cacactgtgc gggcttcact ggaggacctc ggtgggctg actgggtgct gtccccacgg	1980
gaggtgcaag tgacatgtg catcgcgcc tgccttcgc aattccgggc cgcaatatg	2040
cacgcccaga tcaagacctc cctgcatcgc ctcaagccc acactgtgcc tgctccatgc	2100
tgtgtgccgg cctcctataa ccccatggtg ctgatccaga aaaccgatac cggcgtcagc	2160

ctgcagacgt atgatgatct gctggccaag gactgccatt gcatc

2205

<210> 111

<211> 734

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 111

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

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

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 610 615 620
 Gly Gly Ser His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His

 625 630 635 640
 Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
 645 650 655
 Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
 660 665 670
 Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His
 675 680 685

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

690

695

700

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

705

710

715

720

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

725

730

<210> 112

<211> 725

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 112

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1

5

10

15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20

25

30

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

35

40

45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50

55

60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65

70

75

80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85

90

95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100

105

110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115

120

125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130

135

140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

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

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

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

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

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

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

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

 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 610 615 620
 Gly Gly Ser Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
 625 630 635 640
 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys

690 695 700

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys

705 710 715 720

Asp Cys His Cys Ile

725

<210> 113

<211> 733

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 113

His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn

1 5 10 15

Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser

20 25 30

Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala

35 40 45

Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu

50 55 60

His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu

65 70 75 80

Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg

85 90 95

Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg

100 105 110

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

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

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

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

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

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

 Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys
 500 505 510
 Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val
 515 520 525
 Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala
 530 535 540
 Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp
 545 550 555 560

 Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala
 565 570 575
 Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 595 600 605

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
610 615 620

Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
625 630 635 640
Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
645 650 655
Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
660 665 670
Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
675 680 685

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
690 695 700
Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
705 710 715 720
Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
725 730

<210> 114

<211> 2199

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 114

cacaagagtg aggttgctca tcggtttaaa gatttgggag aagaaaattt caaagccttg 60

gtgttgattg cctttgctca gtatcttcag cagtccecat ttgaagatca tgtaaaatta 120

gtgaatgaag taactgaatt tgcaaaaaca tgtgttgctg atgagtcagc tgaaaattgt 180

gacaaatcac ttcatacct ttttgagac aaattatgca cagttgcaac tcttcgtgaa 240

acctatggtg aaatggctga ctgctgtgca aaacaagaac ctgagagaaa tgaatgcttc 300

ttgcaacaca aagatgacaa cccaaacctc ccccgattgg tgagaccaga ggttgatgtg 360

atgtgactg cttttcatga caatgaagag acatttttga aaaaatactt atatgaaatt 420

gccagaagac atccttactt ttatgccccg gaactccttt tctttgctaa aaggatataa 480

gctgctttta cagaatgttg ccaagctgct gataaagctg cctgcctgtt gccaaagctc 540

gatgaacttc gggatgaagg gaaggcttcg tctgccaac agagactcaa gtgtgccagt 600

ctccaaaaat ttggagaaag agctttcaaa gcatgggcag tagctgcct gagccagaga 660

tttcccaaag ctgagtttgc agaagtttcc aagttagtga cagatcttac caaagtccac 720

acggaatgct gccatggaga tctgcttgaa tgtgctgatg acagggcgga ccttgccaag 780

tatatctgtg aaaaatcaaga ttcgatctcc agtaaaactga aggaatgctg tgaaaaacct 840

ctgttggaag aatcccactg cattgccgaa gtggaaaatg atgagatgcc tgctgacttg 900

ccttcattag ctgctgattt tgttgaaagt aaggatgttt gcaaaaacta tgctgaggca 960

aaggatgtct tcttgggcat gtttttgtat gaatatgcaa gaaggcatcc tgattactct 1020

gtcgtgctgc tgctgagact tgccaagaca tatgaaacca ctctagagaa gtgctgtgcc 1080

gctgcagatc ctcatgaatg ctatgcaaaa gtgttcgatg aatttaaacc tcttgtggaa 1140

gagcctcaga atttaaatcaa acaaaattgt gagctttttg agcagcttgg agagtacaaa 1200

ttccagaatg cgctattagt tctttacacc aagaaagtac cccaagtgtc aactccaact 1260

cttgtagagg tctcaagaaa cctaggaaaa gtgggcagca aatgttgtaa acatcctgaa 1320

gcaaaaagaa tgcctgtgc agaagactat ctatccgtgg tctgaacca gttatgtgtg 1380

ttgatgaga aaacgccagt aagtacaga gtcaccaaat gctgcacaga atccttggtg 1440

aacagcgac catgcttttc agctctggaa gtcgatgaaa catacgttcc caaagagttt 1500

aatgtgaaa cattcacctt ccatgcagat atatgcacac tttctgagaa ggagagacaa 1560

atcaagaaac aaactgact tgttgagctc gtgaaacaca agcccaagc aacaaaagag 1620

caactgaaag ctgttatgga tgatttcgca gctttttagt agaagtgtg caaggctgac 1680

gataaggaga cctgctttgc cgaggagggt aaaaaacttg ttgctgcaag tcaagctgcc 1740

ttagggttg gaagcggcgg aggggggagt ggcggcgggtg gctccggggg gggcggtacc 1800

ggcggagggg gcagcggggg tggagggagt ggcgggggag gatcaggggg aggaggatca 1860

ggagggggcg gaagtgaatc ttgccctctc gggcccgac ggtgttgccg cctccacact 1920

gtgagggtt cacttgaaga ccttggtatg gccgactggg tgcgtcccc aagagaggta 1980

caagtacaa tgtgtattgg cgctgcccc agccagtctc gcgcgctaa catgcacgcc 2040

cagataaaaa ccagcctgca ccgcctgaag cccgacacgg tgccagcgcc ctgctgcgtg 2100

cccgcagct acaatccat ggtgtctatt caaaagaccg acaccgggtg gtcgtccag 2160

acctatgatg acttgtagc caaagactgc cactgcata 2199

<210> 115

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 115

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

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

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445

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

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

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

 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
 580 585 590
 Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly

 610 615 620
 Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 625 630 635 640
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 645 650 655
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 660 665 670
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu

 675 680 685
 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 690 695 700
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 705 710 715 720

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

725

730

735

<210> 116

<211> 2205

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 116

gatgcacaca agagtgaagt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60
gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt cccatttga agatcatgta 120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttga aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180
aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa 300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt 360

gatgtgatgt gacttgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaataa atacttatat 420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccgaac tccttttctt tgctaaaagg 480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660
cagagatttc ccaaagctga gtttgagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttacaaa 720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatctgat 1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080
tgtgccgctg cagatctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttggagag 1200

tacaaattcc agaatgcgct attagttcgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260
ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaag ttgtaaacat 1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440
 ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtcg atgaacata cgttcccaaa 1500
 gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
 agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620

aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
 gctgacgata aggagacctg ctttcccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740
 gctgccttag ggcttggtgc tggaggaggc ggggcgggcg gcgggggtgc cgggtgggggt 1800
 ggcgaggagg gaggtggtgc ggggtggtgt ggggctggtg ggggaggtgc aggcggtggc 1860
 ggtgccgggg ggggtggcgc ggatcattgc cctctcgggc ccggacggtg ttgccgcctc 1920
 cacactgtga gggcttcaact tgaagacctt ggatgggccc actgggtgct gtccccaaga 1980
 gaggtacaag tcacaatgtg tattggcgcc tgccccagcc agtttcgcgc cgctaacatg 2040

cacgcccaga taaaaccag cctgcaccgc ctgaagccc acacggtgcc agcgccctgc 2100
 tgcgtgccc ccagctacaa tcccatggtg ctattcaaa agaccgacac cgggggtgtcg 2160
 ctccagacct atgatgactt gttagccaaa gactgccact gcata 2205

<210> 117

<211> 713

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 117

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

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

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

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

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

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

530 535 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala

580 585 590
Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys

595 600 605
Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser

610 615 620
Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val

625 630 635 640
Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala

645 650 655
Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp

660 665 670
Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val

675 680 685
Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp

690 695 700
Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

705 710

<210> 118

<211> 2139

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 118

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttgggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatattga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattgggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgccca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg ctggaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgccctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatctcca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaaaccta ggaaaagtgg gcagcaaagt ttgtaaacat	1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta	1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaagtctg cacagaatcc	1440
ttggtgaaca ggcgaccatg cttttcagct ctggaagtgc atgaaacata cgttcccaaa	1500
gagttaaatg ctgaaacatt caccitccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag	1560
agacaaatca agaacaacac tgcacttgtt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca	1620
aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttgcgagctt ttgtagagaa gtgctgcaag	1680
gctgacgata aggagacctg ctttgccgag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa	1740
gctgccttag ggettgacc agcccctgcc cctgcacctg cacctgctcc cgcaccggt	1800
ccagccccag ctccgcatca ttgccctctc gggcccggaac ggtgttgccg cctccacact	1860
gtgagggctt cacttgaaga ccttgatgg gccgactggg tgctgtcccc aagagaggta	1920
caagtcacaa tgtgtattgg cgctgcccc agccagtctt gcgcccgtaa catgcacgcc	1980
cagataaaaa ccagcctgca ccgcctgaag cccgacacgg tgccagcgcc ctgctgcgtg	2040
cccgccagct acaatccat ggtgtctcatt caaaagaccg acaccggggt gtgctccag	2100
acctatgatg acttgtagc caaagactgc cactgcata	2139
<210> 119	
<211> 717	
<212> PRT	

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 119

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

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

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445

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

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

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

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

 610 615 620
 Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
 625 630 635 640
 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
 645 650 655
 Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
 660 665 670
 Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr

 675 680 685
 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
 690 695 700
 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 705 710 715

<210> 120

<211> 2151

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 120

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt cccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtag accagaggtt 360

gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaataa atacttatat 420

gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660

cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720

gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840

aaacctctgt tggaataatc ccaatgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900

gacttgctt cattaactgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat 1020

tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080

tgtgccgtg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200

tacaaattcc agaatgcgt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ccaaatgctg cacagaatcc 1440

ttggtgaaca ggcgacctg cttttcagct ctggaagtgc atgaacata cgttcccaaa 1500

gagtttaatg ctgaaacatt caccttccat gcagatatat gcacactttc tgagaaggag 1560
 agacaaatca agaacaacac tgcacttggt gagctcgtga aacacaagcc caaggcaaca 1620
 aaagagcaac tgaagctgt tatggatgat ttcgcagctt ttgtagagaa gtgctgcaag 1680
 gctgacgata aggagacctg ctttcccag gagggtaaaa aacttggtgc tgcaagtcaa 1740

gctgccttag ggcttgacc agccccgcc cctgcacctg cacctgctcc cgcaccggct 1800
 ccagccccag ctccggctcc agctcctgat cattgccctc tcgggcccgg acggtgttgc 1860
 cgcctccaca ctgtgagggc ttcacttgaa gaccttggat gggccgactg ggtgctgtcc 1920
 ccaagagagg tacaagtcac aatgtgtatt ggcgctgcc ccagccagtt tcgcgccgt 1980
 aacatgcacg cccagataaa aaccagcctg caccgcctga agcccagacac ggtgccagcg 2040
 ccctgctgcg tgcccgcag ctacaatccc atggtgctca ttcaaaagac cgacaccggg 2100
 gtgtcgtcc agacctatga tgacttgta gccaaagact gccactgcat a 2151

<210> 121

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 121

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160
Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175
Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

195 200 205
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

210 215 220
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

225 230 235 240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

340 345 350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

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

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

 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
 580 585 590
 Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
 595 600 605

Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys

705 710 715 720

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys

725 730 735

Asp Cys His Cys Ile

740

<210> 122

<211> 2223

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 122

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa 60

gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt cccatttga agatcatgta 120

aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa 180

aatttgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt 240

cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa 300

tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt 360

gatgtgatgt gcactgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaaa atacttatat 420

gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg 480

tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca 540

aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt 600

gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc 660

cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa 720

gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt 780

gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa 840

aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct 900

gacttgccctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct 960

gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcacccgat 1020

tactctgtcg tgcgtctgtg gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc 1080

tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt 1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200

tacaaattcc agaatgcgtt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaatg ttgtaacat 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca caaatgctg tactgagagc 1440

ttggtcaaca ggcggccgtg cttcagcgcc ctgaggtgg atgagactta tgtccaaag 1500

gagtttaatg cgaaaacttt tactttccac gcagacattt gcaccttgc tgaagaggaa 1560

agacagatta agaaacagac tgctcttctg gaactggtaa aacataaacc aaaagctacg 1620

aaggagcagc ttaaggctgt tatggatgat ttgccgcgt ttgtcgagaa gtgctgcaaa 1680

gcggacgata aggaaacttg ctttcagag gaaggtaaga aactcgtagc ggcaagtcag 1740

gctgcgcttg gccttgagg cagtgaaggc aaatcctctg ggagtggtc tgaagtaaa 1800

tccaccgagg gcaaatccag tggatctggg tctgaatcta agtctaccga ggggaagtct 1860

tctggcagtg ggtcagaatc taaatctaca ggcggctctg accattgccc gttgggacca 1920

ggacgtgct gtcgccttca tacagtgcga gcgagtttg aagacctggg ctgggctgac 1980

tgggtgctta gccctcggga ggtccaggtc acaatgtgca ttggcgctg tcccagtcaa 2040

tttagagcag caaatatgca cgcccaata aaaacctccc tgcataggct taagccagat 2100

actgtccccg caccatgctg tgtgcctgct tcttacaatc ctatggtact catccagaag 2160

accgacacgg gagttagcct ccagacttat gacgacctct tggctaaaga ttgccattgt 2220

att 2223

<210> 123

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 123

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

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

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

 Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly Gly Gly Ser Pro Gly
 610 615 620
 Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 625 630 635 640
 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 645 650 655
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 660 665 670

 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 675 680 685

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 690 695 700
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 705 710 715 720
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 725 730 735

<210> 124

<211> 2205

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 124

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatTTga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccaactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtgc tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140

gtggaagagc ctcagaattt aatcaaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag 1200

tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact 1260

ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaagagtg gcagcaaatg ttgtaaacat 1320

cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta 1380

tgtgtgttgc atgagaaaaa gccagtaagt gacagagtca cgaaatgttg cacagagtca 1440

ctgggtcaaca ggagaccttg cttctccgct cttgaggttg acgaaacgta tgtcccaaaa 1500

gagttcaacg ccgaaacgtt tacgtttcat gcggacatat gcactctcag tgagaaggag 1560

cgacaaatca aaaaacagac tgctcttgta gagttggtaa aacacaaacc taaagcaaca 1620

aaagagcaat tgaaagctgt gatggacgat tttgcagctt tcgtagaaaa gtgctgcaag 1680

gccgacgata aagaaacctg tttcgtgaa gaaggcaaaa aacttggtgc ggcactctcag 1740

gccgctcttg gacttgggag cccgggtggc ggttctccag gcggaggctc tccgggaggga 1800

ggtagtcccg gagggggtag tccgggaggc ggttctccag gtggaggctc tcctggtggt 1860

ggcagtcctg gcggaggatc tgatcactgt ccccttgggc ccgggagggtg ctgccgactt 1920

catacagttc gcgccagcct tgaagatttg ggttgggccc actgggtgtt gagcccgaga 1980

gaggtccaag tcacgatgtg tattggagcc tgcctctc aattccgagc cgcaaatatg 2040

catgcgcaaa taaagacgag tctccatcgg ttgaagcctg atactgtccc agctccgtgc 2100

tgcgtccccg cgagttataa tcccatggc cttatacaga aaacagacac tgggtgcagc 2160

cttcagacgt atgacgattt gcttgctaaa gactgtcatt gtatt 2205

<210> 125

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 125

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

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

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

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

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

 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

545 550 555 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser
 580 585 590
Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala

 595 600 605
Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gly Ser Ala Gly
 610 615 620
Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
625 630 635 640
His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 645 650 655
Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro

 660 665 670
Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 675 680 685
His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 690 695 700
Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
705 710 715 720
Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile

 725 730 735

<210> 126

<211> 2205

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 126

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt cccatttga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180

aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gacttgcttt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcc aagacatcc ttacttttat gccccgaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttacaaa	720
gtccacacgg aatgctgcc tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tgaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgca aaactatgct	960
gaggcaaagg atgtcttctt gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtcg tgctgctgct gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcaaatat aatcaacaa aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgt attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
ccaactcttg tagaggtctc aagaaacctt ggaagtgg gcagcaaatg ttgtaaacat	1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta	1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca ctaaatgttg taccgagtct	1440
cttgttaata ggcggccatg cttcagtgc tttggaagtc acgaaacctt tgtaccaaag	1500
gagttcaacg cagaacatt tacattccat gctgatctct gcacattgag cgagaaagag	1560
agacagatta agaaacagac agcgcttgtt gaactgttta aacacaaacc aaaagctacc	1620
aaggagcagc ttaaggcagt aatggatgac ttcgcggcct ttgtcgagaa atgttgtaaa	1680
gcggatgata aagagacatg cttcgccgaa gagggcaaaa aactttagtc ggcaagccag	1740
gccgactgg gtctcgtag tgcggcggt ggttcagcgg ggggaggatc tgcagtggt	1800
ggctcagcgg gtggcgtag cgctgggggg ggctccgag gtgggggatc agcaggcggc	1860
ggatcagccg gcggtggatc cgaccactgt cctctcgggc ctggtcgggt ttgccgcctc	1920

catactgtgc gcgcgtctct tgaggatctg gggtaggctg attgggttct ctctccccgc 1980

gaagtgcagg tgaccatgtg tatttgtgct tgcccaagtc aattccgagc agctaacatg 2040

cacgcccaga tcaagactag cctgcacgg ctttaagcccg aactgttcc tgccccttgc 2100

tgtgttctg catcttataa tccaatggc ctgatccaga aaaccgatac ggggtgtatca 2160

ttgcaaacat acgacgactt gcttgccaaa gattgccatt gcatt 2205

<210> 127

<211> 727

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein

<400> 127

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

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

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

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

 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

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

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

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

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

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
660 665 670
His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
675 680 685
Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
690 695 700
Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
705 710 715 720

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
725

<210> 128

<211> 2181

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> fusion protein coding sequence

<400> 128

gatgcacaca agagtgaggt tgctcatcgg tttaaagatt tgggagaaga aaatttcaaa	60
gccttggtgt tgattgcctt tgctcagtat cttcagcagt ccccatattga agatcatgta	120
aaattagtga atgaagtaac tgaatttgca aaaacatgtg ttgctgatga gtcagctgaa	180
aattgtgaca aatcacttca tacccttttt ggagacaaat tatgcacagt tgcaactctt	240
cgtgaaacct atggtgaaat ggctgactgc tgtgcaaaac aagaacctga gagaaatgaa	300
tgcttcttgc aacacaaaga tgacaacca aacctcccc gattggtgag accagaggtt	360
gatgtgatgt gcaactgctt tcatgacaat gaagagacat ttttgaaaa atacttatat	420
gaaattgcca gaagacatcc ttacttttat gccccggaac tccttttctt tgctaaaagg	480
tataaagctg cttttacaga atgttgccaa gctgctgata aagctgcctg cctgttgcca	540
aagctcgatg aacttcggga tgaagggaag gcttcgtctg ccaaacagag actcaagtgt	600
gccagtctcc aaaaatttgg agaaagagct ttcaaagcat gggcagtagc tcgcctgagc	660
cagagatttc ccaaagctga gtttcagaa gtttccaagt tagtgacaga tcttaccaaa	720
gtccacacgg aatgctgcca tggagatctg cttgaatgtg ctgatgacag ggcggacctt	780
gccaaagtata tctgtgaaaa tcaagattcg atctccagta aactgaagga atgctgtgaa	840
aaacctctgt tggaaaaatc ccactgcatt gccgaagtgg aaaatgatga gatgcctgct	900
gacttgctt cattagctgc tgattttgtt gaaagtaagg atgtttgcaa aaactatgct	960

gaggcaaagg atgtcttcct gggcatgttt ttgtatgaat atgcaagaag gcatcctgat	1020
tactctgtcg tgctgtctgt gagacttgcc aagacatatg aaaccactct agagaagtgc	1080
tgtgccgctg cagatcctca tgaatgctat gccaaagtgt tcgatgaatt taaacctctt	1140
gtggaagagc ctcagaattt aatcaaaca aattgtgagc tttttgagca gcttgagag	1200
tacaaattcc agaatgcgct attagtctgt tacaccaaga aagtaccca agtgtcaact	1260
ccaactcttg tagaggcttc aagaaacctt ggaaaagtgg gcagcaaattg ttgtaaacat	1320
cctgaagcaa aaagaatgcc ctgtgcagaa gactatctat ccgtggctct gaaccagtta	1380
tgtgtgttgc atgagaaaac gccagtaagt gacagagtca cgaaatgctg tacagaatcc	1440
ctcgtgaata gaaggccctg cttctctgcc cttgaggtgg acgagactta cgtccctaag	1500
gagtttaacg ccgagacctt tacttttcat gctgatattt gcaccctttc cgaaaaggag	1560
cggcagatca agaaacaaac agccttggtg gaactcgtaa aacataaacc caaagccacc	1620
aaggaacaac ttaaagctgt tatggatgac ttcgcagcct tcgtcgagaa atgttgcaag	1680
gcggatgata aggaaacgtg ttttgctgag gaagggaaga agttggttgc tgcctctcaa	1740
gcggctctgg ggcttgccgg atcagagggg aagtcctccg ggtccggtag cgagtccaaa	1800
tctacggaag ggaagtcac cggttctggg tcagagtcca aatccacagg aggatcagac	1860
cattgcccatt tgggaccagg acgatgttgt cgcctgcata cggttaagagc gtctctggag	1920
gatctcggct gggccgattg ggttctctca ccacgagaag tacaggtcac aatgtgcata	1980
ggagcttgtc cgagccaatt ccgggcggct aatatgcacg cacagatcaa gacctctttg	2040
caccgcttga agcccgatc cgtgccagca ccgtgttgcg tcccagcacc ttacaaccct	2100
atggttttga tacagaaaac tgacacaggt gtgagcctcc agacatatga tgatttgctg	2160
gctaaggatt gccactgtat a	2181