



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년02월26일

(11) 등록번호 10-1952453

(24) 등록일자 2019년02월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 14/50 (2006.01) A61K 38/18 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01) C07K 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-7012353

(22) 출원일자(국제) 2010년10월15일

심사청구일자 2015년10월15일

(85) 번역문제출일자 2012년05월14일

(65) 공개번호 10-2012-0095392

(43) 공개일자 2012년08월28일

(86) 국제출원번호 PCT/US2010/052852

(87) 국제공개번호 WO 2011/047267

국제공개일자 2011년04월21일

(30) 우선권주장

61/252,074 2009년10월15일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

JBC VOL.282(40):29069-29072(2007. 10. 05.)

JBC Vol.283(48):33304-33309(2008. 11. 28.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

제넨테크, 임크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

(72) 발명자

소노다, 주니치로

미국 94401 캘리포니아 샌 마테오 크리크사이드
레인 29

(74) 대리인

양영준, 위혜숙

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 수용체 특이성이 변경된 키메라 섬유모세포 성장 인자

(57) 요 약

본 발명은 신규 키메라 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 폴리펩티드, 키메라 FGF 폴리펩티드를 코딩하는 신규 DNA, 및 키메라 FGF 폴리펩티드의 재조합 생산, 및 대사 관련 장애 및 기타 상태의 치유적 치료를 위해, 그리고 대사 관련 장애 및 기타 상태의 치료와 관련된 것들이 포함되는 치료적 및 약리학적 특성을 지니는, 키메라 FGF 폴리펩티드를 포함하는 제약상 활성인 조성물을 생산하기 위해 키메라 FGF 폴리펩티드를 사용하는 방법, 조성물 및 검정에 관한 것이다.

명세서

청구범위

청구항 1

서열 74 또는 241의 아미노산 서열에 대해 95% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 서열 74의 아미노산 서열에 대해 95% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 3

제2항에 있어서, 서열 74의 아미노산 서열을 포함하는 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 4

제1항에 있어서, 서열 241의 아미노산 서열에 대해 95% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 5

제4항에 있어서, 서열 241의 아미노산 서열을 포함하는 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 6

제1항에 있어서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 제2 폴리펩티드에 융합되고, 제2 폴리펩티드가 이谬노글로불린의 Fc 부분 및 이谬노글로불린의 Fc 부분의 하나 이상의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 7

제6항에 있어서, 이谬노글로불린이 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2, IgE, IgD 및 IgM으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 8

제6항에 있어서, Fc 부분이 인간의 또는 인간화된 것인 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 9

제6항에 있어서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단이 제2 폴리펩티드의 N-말단에 융합되는 것인 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 10

제9항에 있어서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단이 링커를 통해 제2 폴리펩티드의 N-말단에 융합되고, 링커가 [Gly]_n 링커, [Gly₃Ser]_m 링커 및 [Gly₄Ser]_m 링커 (식중, n은 1-30의 정수이고, m은 1-6의 정수임)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 키메라 FGF19 폴리펩티드.

청구항 11

(a) 치료 유효량의 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 키메라 FGF19 폴리펩티드; 및

(b) 허용되는 제약 담체를 포함하는 제약 조성물로서, 상기 제약 조성물은 비만, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 고혈당, 대사 증후군, 아테롬성동맥경화증, 고콜레스테롤혈증, 뇌졸중, 골다공증, 골관절염, 퇴행성 관절 질환, 근육 위축, 근육감소증, 제지방 체중 감소, 탈모증, 심장 기능 감소, 면역계 기능이상, 암, 파킨슨 질환, 노인

성 치매, 알츠하이머 질환 또는 인지 기능 감소 중 하나 이상을 치료하기 위한 것인 제약 조성물.

청구항 12

서열 74 또는 241의 아미노산 서열에 대해 95% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분자를 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 13

제12항에 있어서, 코딩되는 폴리펩티드가 이뮤노글로불린의 Fc 부분에 상응하는 아미노산 잔기를 추가로 포함하는 것인 단리된 핵산 분자.

청구항 14

제12항의 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 15

제14항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 16

제12항의 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포.

청구항 17

제15항 또는 제16항의 숙주 세포를 코딩되는 폴리펩티드의 발현에 적절한 조건 하에 배양하는 단계; 및 코딩되는 폴리펩티드를 세포 배양물로부터 회수하는 단계
를 포함하는, 단리된 폴리펩티드를 생산하는 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2009년 10월 15일에 출원된 미국 가출원 일련 번호 61/252,074를 우선권으로 청구하며, 이의 전문은 본원에 참고로 포함된다.

발명의 분야

[0004] 일반적으로 본 발명은 본원에서 키메라 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 폴리펩티드로 칭해지는 신규 폴리펩티드, 키메라 FGF 폴리펩티드를 코딩하는 신규 DNA, 및 키메라 FGF 폴리펩티드의 재조합 생산, 및 대사 관련 장애 및 기타 상태의 치유적 치료를 위해, 그리고 대사 관련 장애 및 기타 상태의 치료와 관련된 것들이 포함되는 치료적 및 약리학적 특성을 지니는, 키메라 FGF 폴리펩티드를 포함하는 제약상 활성인 조성물을 생산하기 위해 키메라 FGF 폴리펩티드를 사용하는 방법, 조성물 및 검정에 관한 것이다.

배경 기술

발명의 배경

[0006] 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 패밀리에는 인간 FGF21, FGF23 및 FGF19 및 마우스 FGF15로 이루어지는 FGF19 서브패밀리가 포함된다. 전형적으로 자신의 기원 조직에 주변분비 방식으로 작용하는 FGF 패밀리의 다른 구성원들은 달리, FGF19 서브패밀리의 구성원들은 특정한 원위 조직에 내분비 방식으로 작용한다. FGF 패밀리 구성원의 효과는 FGF 수용체 티로신 키나제 (FGFR) 패밀리의 하나 이상의 구성원에 이들이 혼화된 의존적으로 결합함의 결과이다. 이러한 수용체 패밀리에는 각각 티로신 키나제 도메인이 있는 4개의 구성원인 FGFR1, FGFR2,

FGFR3 및 FGFR4, 뿐만 아니라 FGFR1, FGFR2 및 FGFR3 각각의 2개의 스플라이스(splice) 변이체가 포함된다. FGFR1, FGFR2 및 FGFR3의 엑손 3에서 발생하는 이러한 스플라이스 변이체들은 "b" 및 "c" 변이체 (즉, 각각 FGFR1(III)b, FGFR2(III)b, FGFR3(III)b, FGFR1(III)c, FGFR2(III)c 및 FGFR3(III)c로 또한 공지된 FGFR1b, FGFR2b, FGFR3b, FGFR1c, FGFR2c 및 FGFR3c)로 지정된다.

[0007] FGF19 서브페밀리의 구성원들은 포유동물에서 다양한 조직-특이적 대사 과정을 조절하는 것에 관련되었다. FGF19가 특히 흥미로운데, 이는 지방세포 및 간세포 양쪽을 표적으로 하여 이들에 대해 효과를 갖는 것으로 나타났다. 예를 들어, 재조합 인간 FGF19 (rhFGF19)로 처리된 마우스는, 고지방 식이 중임에도 불구하고, 증가된 대사율, 증가된 지질 산화, 더 낮은 호흡 지수 및 체중 감소를 나타낸다. 또한, 이같은 마우스는 식욕 감소 없이 고지방 식이에도 불구하고 더 낮은 혈청 수준의 렙틴, 인슐린, 콜레스테롤 및 트리글리세리드, 및 정상 수준의 혈당을 나타냈다. 렙틴이 없지만 FGF19 트랜스진(transgene)을 포함한 비만 마우스는 체중 감소, 저하된 콜레스테롤 및 트리글리세리드를 나타냈고, 당뇨병이 발달되지 않았다. 렙틴이 없는 당뇨병 비만 마우스는, rhFGF19가 주사되었을 때, 체중 감소 및 저하된 혈당의 형태로 이의 대사 특성의 반전을 나타냈다. (문헌 [Fu, L. et al., Endocrinology 145(6), 2594-2603 (2004)]; [Tomlinson, E. et al., Endocrinology 143(5), 1741-1747 (2002)]).

[0008] FGF19 서브페밀리의 또 다른 구성원인 FGF21은 간에 의해 주로 발현되고, 지방 조직에 대한 이의 효과를 통한 증가된 대사, 체중 감소, 저하된 혈당 수준, 및 비만 및 당뇨병에 대한 저항성과 같은, FGF19와 유사한 대사 효과를 지닌다. (문헌 [Kharitonov, A. et al., J Clin Invest 115(6), 1627-1635 (2005)]). FGF21-트랜스제닉(transgenic) 마우스는 식이-유도 비만에 대해 또한 저항성이었다. 또한, 당뇨병 설치류 모델에서, FGF21 투여는 혈당 및 트리글리세리드 수준을 저하시켰다.

[0009] FGF21은 성장 호르몬 (GH) 경로를 조절하는 것에서의 역할이 있는 것으로 또한 나타났다. GH의 동화성 효과는 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF-1)에 의해 매개되고, 이는 주로 간에 의해 생성된다. GH는 GH 수용체에 의한 야누스(Janus) 키나제 2 (JAK2)의 활성화를 통해 IGF-1 전사를 유도함으로써, 이의 순환 수준을 증가시킨다. 활성화된 JAK2는 신호 변환기 및 전사 활성화제 (STAT: signal transducers and activators of transcription) 패밀리의 구성원을 인산화시키고, 이는 인산화되는 경우 핵 전위를 거쳐 표적 유전자의 조절 요소 (IGF-1의 조절 요소 포함)에 결합한다. 특히, STAT5가, 이의 인산화 형태에서, 이러한 반응에서 주요한 역할을 하는 것으로 나타났다.

[0010] 더 낮은 수준의 IGF-1 전사 및 순환 IGF-1를 초래하는 상태인 기아 또는 단식이 IGF-1 수준에 대한 GH의 효과를 거스르는 것으로 보인다. (문헌 [Thissen, J.P. et al., Endocr. Rev. 15, 80-101 (1994)]). IGF-1에 대한 이러한 효과는 감소된 수준의 인산화된 STAT5에 기인할 수 있다. 특히, GH를 주사한 단식시킨 래트는 단식시키지 않은 래트보다 간의 인산화된 STAT5 수준이 더 낮았다. (문헌 [Beaujoue, V. et al., Endocrinology 143, 792-800 (2002)]). 기아 또는 단식 상태 하에 간에서 유도되는 FGF21이 이러한 효과를 매개할 수 있다. FGF21-트랜스제닉 마우스에서는 IGF-1 및 인산화된 STAT5의 수준이 저하된 것으로 나타났다. (문헌 [Inagaki, T. et al., Cell Metabolism 8, 77-83 (2008)]).

[0011] FGF19 및 FGF21의 대사 효과는 FGFR1c, FGFR2c 및 FGFR3c 수용체에 대한 이들의 결합을 통해 달성되고, 이 중에서 FGFR1c 및 FGFR2c에 대한 결합이 가장 유의하다. 또한, 이러한 수용체들에 대한 FGF19 및 FGF21의 결합은 공동-수용체 클로토(Klotho)-베타를 요구한다. 이러한 FGFR 수용체들의 만연에도 불구하고, FGF19 및 FGF21의 대사 효과는 조직-특이적 국소화가 있는 클로토-베타 공동-수용체에 대한 이러한 요구로 인해 지방세포-특이적 이게 된다.

[0012] FGF19는 FGF21과 구별되는 효과가 있는 것으로 또한 나타났다. 예를 들어, FGF19는 이의 간-특이적 효과를 통해 간에 의한 담즙 생산을 조절하는 것으로 나타났다. 식후 담즙-생산에 반응하여, 담즙산 합성에서의 속도 제한 효소인 콜레스테롤 7-알파-히드록실라제 유전자 (CYP7A1)의 전사를 억제함으로써, 그리고 담낭을 채우는 것을 자극함으로써 FGF19는 담즙 생산을 음성적으로 조절한다. 또한, FGF19는 FGF21과 관련하여 관찰되지 않는 간 분열촉진 효과가 있는 것으로 보인다. 예를 들어, FGF19 트랜스제닉 마우스에서 간세포의 증가된 증식 및 형성이상으로 인해 간 선암종이 발달되고, rhFGF19로 처리된 마우스는 간세포들의 간세포 증식을 나타낸다. (문헌 [Nicholes, K. et al., Am J Pathol 160, 2295-2307 (2000)].)

[0013] FGF19의 이러한 추가적인 활성을 FGFR4에 대한 이의 결합을 통해 매개되는 것으로 보인다. FGF19는 클로토-베타 의존적 방식 및 비의존적 방식 양쪽 모두로 FGFR4에 결합할 수 있다. FGF21 또한 클로토-베타 의존적 방식으로 FGFR4에 결합하는 것으로 나타났지만, FGFR4에 대한 FGF21의 결합으로부터 효율적인 신호전달이 초래되지

않는다.

[0014] 대사-관련 장애 예컨대 당뇨병, 비만, 고혈당, 및 기타 관련 장애의 치료를 위한 신규 치료법을 개발하는 것이 요구된다. 이같은 치료법의 바람직하지 않은 성장 또는 증식 잠재력 (예를 들어, 종양형성성 잠재력)이 제거 또는 감소된, 이러한 대사-관련 장애를 위한 신규 치료법을 개발하는 것이 또한 요구된다. 이같은 치료법의 성장 호르몬 저항성에 대한 잠재력이 제거 또는 감소된, 상기와 같은 대사-관련 장애를 위한 신규 치료법을 개발하는 것이 또한 요구된다.

발명의 내용

발명의 개요

[0016] 첫 번째 측면에서, 본 발명은 키메라 인간 섬유모세포 성장 인자 19 (hFGF19) 폴리펩티드를 제공한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 이러한 키메라 폴리펩티드의 서열은 hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함하는 C-말단 부분, 및 hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하는 N-말단 부분을 포함한다. 특정 실시양태에서, hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 잔기 약 45개 내지 약 185개의 길이이고, hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 잔기 약 7개 내지 약 140개의 길이이다.

[0017] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드의 서열이 hFGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함하는 C-말단 부분, 및 hFGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하는 N-말단 부분을 포함하는 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 제공된다. 일부 실시양태에서, hFGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 잔기 약 8개 내지 약 145개의 길이이고, hFGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 잔기 약 45개 내지 약 175개의 길이이다.

[0018] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 키메라 폴리펩티드의 서열이 hFGF19 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 서열을 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드 서열의 일부분이 hFGF21 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환되어, 제1 폴리펩티드 서열의 치환된 부분이 잔기 약 3개 내지 약 185개의 길이이도록 하는 것인 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 제공된다.

[0019] 본 발명의 일부 실시양태에서, 키메라 폴리펩티드의 서열이 hFGF19 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 서열을 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드 서열의 일부분이 hFGF21 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 서열의 1개 초과의 부분으로 치환된 것인 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 제공된다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 β -1- β 2 루프(loop), 제2 폴리펩티드의 β 10- β 12 절편 및/또는 제2 폴리펩티드의 상응하는 서열 GQV로의 제1 폴리펩티드의 β 1- β 2 루프의 치환, 제1 폴리펩티드의 β 10- β 12 절편의 치환 및/또는 제1 폴리펩티드의 5개 잔기 WGDPI의 치환을 포함한다.

[0020] 본 발명의 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 이하의 서열을 포함한다.

HPIPSSPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVAL
RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS
SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSMDPFGLVVTGL
EAVRSPSFEK (서열 5).

[0022] 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드에 융합되고, 제2 폴리펩티드는 이뮤노글로불린의 Fc 부분, 이뮤노글로불린의 Fc 부분의 유사체 및 이뮤노글로불린의 Fc 부분의 하나 이상의 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 이뮤노글로불린은 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2, IgE, IgD 및 IgM으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, Fc 부분은 인간의 Fc 부분 또는 인간화된 Fc 부분이다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단이 제2 폴리펩티드의 N-말단에 융합된다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단이 링커를 통해 제2 폴리펩티드의 N-말단에 융합되고, 링커는 [Gly]_n 링커, [Gly₃Ser]_m 링커 및 [Gly₄Ser]_m 링커 [식중, n은 1-30의 정수이고, m은 1-6의 정수이다]로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0023] 본 발명은 생리학적 반감기가 적어도 또는 대략적으로 천연 hFGF19와 동일한 키메라 hFGF19 폴리펩티드를 포함한다. 본 발명은 생리학적 반감기가 적어도 또는 대략적으로 천연 hFGF21과 동일한 키메라 hFGF19 폴리펩티드를 포함한다.

- [0024] 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 FGFR4를 클로토-베타 비의존적 또는 클로토-베타 의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 FGFR1c를 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시킨다.
- [0025] 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 제지방 체중을 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 제지방 체중을 실질적으로 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 골밀도를 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 골밀도를 실질적으로 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 심장 능력을 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체의 심장 능력을 실질적으로 감소시키지 않는다.
- [0026] 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 생체 내에서 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 개체에서 감소되지만, 이러한 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양은 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양보다 더 크다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양은 이같은 투여가 없는 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 100% 내지 5%, 100% 내지 10%, 100% 내지 20%, 100% 내지 30%, 100% 내지 40%, 100% 내지 50%, 100% 내지 60%, 100% 내지 70%, 100% 내지 80%, 100% 내지 90% 또는 100% 내지 95% 중 임의의 것이다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소는 천연 hFGF21 투여 시의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소보다 더 적다. 예를 들어, 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 감소는 천연 hFGF21 투여 시의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소의 0% 내지 5%, 0% 내지 10%, 0% 내지 20%, 0% 내지 30%, 0% 내지 40%, 0% 내지 50%, 0% 내지 60%, 0% 내지 70%, 0% 내지 80%, 0% 내지 90% 또는 0% 내지 95% 중 임의의 것이다.
- [0027] 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 생체 내에서 순환 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF-1)의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 개체에게 투여되는 경우 개체 내의 순환 IGF-1의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 순환 IGF-1의 양이 감소되지만, 이러한 순환 IGF-1의 양은 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 순환 IGF-1의 양보다 더 크다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 순환 IGF-1의 양은 이같은 투여가 없는 개체 내의 순환 IGF-1의 양의 100% 내지 5%, 100% 내지 10%, 100% 내지 20%, 100% 내지 30%, 100% 내지 40%, 100% 내지 50%, 100% 내지 60%, 100% 내지 70%, 100% 내지 80%, 100% 내지 90% 또는 100% 내지 95% 중 임의의 것이다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 순환 IGF-1의 양의 감소는 천연 hFGF21 투여 시의 순환 IGF-1의 양의 감소보다 더 적다. 예를 들어, 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 순환 IGF-1의 감소는 천연 hFGF21 투여 시의 순환 IGF-1의 양의 감소의 0% 내지 5%, 0% 내지 10%, 0% 내지 20%, 0% 내지 30%, 0% 내지 40%, 0% 내지 50%, 0% 내지 60%, 0% 내지 70%, 0% 내지 80%, 0% 내지 90% 또는 0% 내지 95% 중 임의의 것이다.
- [0028] 또 다른 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 키메라 hFGF19 폴리펩티드, 및 허용되는 제약 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0029] 또 다른 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 비만, 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 고혈당, 대사 증후군, 아테롬성동맥경화증, 고콜레스테롤혈증, 뇌졸중, 골다공증, 골관절염, 퇴행성 관절 질환, 근육 위축, 근육감소증, 제지방 체중 감소, 탈모증, 주름, 피로 증가, 원기 감소, 심장 기능 감소, 면역계 기능이상, 암, 파킨슨 질환, 노인성 치매, 알츠하이머 질환 및 인지 기능 감소 중 하나 이상을 나타내는 개체를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0030] 또 다른 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 혈당 저하를 필요로 하는 개체의 혈당을 저하시키는 방법을 제공한다.
- [0031] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열 5의 아미노산 잔기 약 1 내지 약 190을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 분

자 또는 이의 상보물에 대한 서열 동일성이 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 99% 이상인 DNA를 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다.

[0032] 또 다른 측면에서, 본 발명은 이하의 서열 또는 그의 일부분을 포함하는 단리된 핵산 분자를 제공한다.

```
CACCCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTGGGGCCAAGTCCGGCAGCGG  
TACCTCTACACCTCCGGCCCCCACGGGCCTCTCCAGCTGCTTCCTGCGCATCCGTGCCG  
ACGGCGTCGTGGACTGCGCGGGCCAGAGCGCGCACAGTTGCTGGAGATCAAG  
GCAGTCGCTCTCGGGACCGTGGCATCAAGGGCTGACAGCGTGCAGGTACCTCTGC  
ATGGGCGCCGACGGCAAGATGCAGGGCTGCTTCAGTACTCGGAGGAAGACTGTGC  
TTTCGAGGAGGAGATCCGCCAGATGGCTACAATGTGTACCGATCCGAGAACGACCG  
CCTCCCGGTCTCCCTGAGCAGTGCAAACAGCGGAGCTGTACAAGAACAGAGGCTT  
TCTTCCACTCTCTCATTTCCTGCCATGCTGCCATGGTCCCAGAGGAGCCTGAGGAC  
CTCAGGGCCACTTGAATCTGACATGTTCTCTICGCCCTGGAGACCGACAGCATG  
GACCCATTGGCTTGTACCGGACTGGAGGCCGTGAGGAGTCCCAGCTTGAGAAG
```

(서열 7)

[0034] 특정 실시양태에서, 본 발명의 단리된 핵산은 이뮤노글로불린의 Fc 부분에 상응하는 아미노산 잔기를 코딩하는 서열을 추가로 포함한다.

[0035] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 발현 시스템을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 발현 시스템 또는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0036] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 핵산 분자에 의해 코딩되는 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

[0037] 또 다른 측면에서, 본 발명은 코딩되는 폴리펩티드의 발현에 적절한 조건 하에 본 발명의 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 코딩되는 폴리펩티드를 세포 배양물로부터 회수하는 단계를 포함하는, 단리된 폴리펩티드를 생산하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생산된 단리된 폴리펩티드를 제공한다.

도면의 간단한 설명

도면의 간단한 설명

[0038] 도 1은 인간 FGF19 폴리펩티드 (서열 1) 및 인간 프리(pre)-FGF19 폴리펩티드 (서열 3)의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 2는 인간 FGF21 폴리펩티드 (서열 2) 및 인간 프리-FGF21 폴리펩티드 (서열 4)의 아미노산 서열을 나타낸다.

도 3은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 수용체 결합 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 4는 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 수용체 결합 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 5는 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 간-특이적 유전자 발현 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 6은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 지방세포-특이적 유전자 발현 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 7은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 혈당 저하 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 8은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 내당능 검사 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 9는 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 이뮤노글로불린 Fc 융합물을 사용하는 활성 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 10-14는 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 수용체 특이성 검정의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 15는 인산화된 Stat5 단백질 수준에 대한 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 것의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 16은 세포의 총 대사 활성에 대한 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 것의 예시적인 결과를 나타낸다.

도 17은 FGFR4가 담즙산 ("BA") 조절에 필요했지만, FGF19에 의한 내당능의 개선에 대해서는 그렇지 않았음을 나타낸다. 도 17a는 내당능 검사에서의 FGF19 또는 PBS로 처리된 야생형 ("WT") 및 FGFR4 녹아웃(knockout) ("KO") 마우스의 글루코스 수준을 나타낸다. *p<0.05. **p<0.01. 곡선하 면적 (AUC)에 대한 p 값은 p<0.02 (WT) 및 p<0.005 (KO)였다. N=6~8. 도 17b는 제7일에 안락사된 FGF19 또는 PBS로 처리된 WT 및 FGFR4 KO 마우스에서의 다양한 대사 파라미터 (체중 (g), 간/BW 비율 (%), 혈청 인슐린 (ng/ml), 혈청 베타-히드록시부티레이트 ("BHB") (mg/l), 혈청 락테이트 (mg/dl), 및 혈청 트리글리세리드 (mg/dl))를 나타낸다. 마우스를 안락사시키고, 3시간 후 혈청을 제조하였다. N=6~8. 도 17c는 FGF19 또는 PBS로 처리된 WT 및 FGFR4 KO 마우스에서의 혈청 BA 조성 분석을 나타낸다. 주요 BA 종만 제시된다. CA: 콜산, DCA: 테옥시콜산, MCA: 뮤리콜산, T-: 타우린접합. 도 17d는 실시간 qPCR에 의해 결정된 FGF19 또는 PBS로 처리된 WT 및 FGFR4 KO 마우스에서의 다양한 간 유전자 (Egr-1, c-Fos, AFP, Cyp7a1, Cyp8b, Cyp27a1, Cyp7b, 및 GK)의 상대적인 발현을 나타낸다. N=6~8. 도 17b-17d에 대한 p 값은 <0.05, **<0.005 (PBS 대 FGF19), #<0.05, ##<0.005 (WT 대 FGFR4KO)이다.

도 18은 FGFR4 활성이 감소된 FGF19 변이체의 확인을 나타낸다. 도 18a는 KLB 및 FGFR1c 또는 FGFR4로 형질감염되고 증가되는 농도의 FGF19 (O) 또는 FGF21(▲)을 함유하는 배지와 함께 인큐베이션된 래트 L6 세포를 사용하는 GAL-E1k1 루시퍼라제(luciferase) 검정으로부터의 레닐라(renilla) 루시퍼라제 활성에 의해 표준화된 상대적인 반딧불이 루시퍼라제 활성 (상대적인 루시퍼라제 유닛 ("RLU")으로 표시됨)을 나타낸다. 도 18b는 왼쪽의 아미노산 조성을 지니는 FGF19 (최상부), FGF21 (최하부) 및 다양한 키메라 단백질의 도면 (일정 비례 조정)을 나타낸다. 도 18c에 제시된 GAL-E1k1 검정의 결과를 기초로, 각각의 키메라가 오른쪽에 지시된 바와 같이 클래스 (I), (II) 또는 (III)으로 분류되었다. 조건화 배지가 사용되었을 때 FGF21 또는 FGF19에 대한 등가의 FGFR1c 활성을 나타내지 않은 키메라는 여기에서 제시되지 않는다. 도 18c는 KLB 및/또는 FGFR (FGFR1c 또는 FGFR4)로 공동-형질감염되고, 다양한 FGF 구축물 (사용된 FGF 구축물들의 아미노산 조성에 대해서는 도 18b 참조)로 일시적으로 형질감염된 293 세포로부터의 조건화 배지와 함께 인큐베이션된 L6 세포를 사용하는 GAL-E1k-1 검정에서의 FGFR1c 또는 FGFR4의 활성화를 나타낸다. 결과는 모조 형질감염된 세포로 조건화된 대조군 배지에 대한 유도 배수로서 제시된다. 도 18d는 FGFR1c, FGFR4 + KLB, 또는 FGFR4로 형질감염되고 증가되는 농도의 정제된 FGF19 (O) 또는 FGF19v (▼) (도 18b 및 18c에서의 구축물 #4)를 함유하는 배지와 함께 인큐베이션된 래트 L6 세포를 사용하는 GAL-E1k1 루시퍼라제 검정에서의 FGFR 활성화의 유도 배수를 나타낸다. 도 18e는 Fc 단편에 융합된 FGFR4에 대한 FGF19 및 FGF19v의 고체상 결합 검정 결과를 나타낸다. 실험 개략도가 오른쪽에 제시된다. 도 18f는 도 18e에서 사용된 항-FGF19 항체가 구별불가능한 친화력으로 FGF19 및 FGF19v를 인식하였음을 나타낸다 (대조군 ELISA 실험). 실험 개략도가 오른쪽에 제시된다.

도 19는 KLB 및 FGFR2c 또는 FGFR3c로 형질감염되고 증가되는 농도의 FGF19 (O) 또는 FGF21(▲)을 함유하는 배지와 함께 인큐베이션된 래트 L6 세포에서의 GAL-E1k1 루시퍼라제 검정에서의 RLU를 나타낸다. L6 세포를 GAL-E1k1, SV40-레닐라 루시퍼라제, 및 Gal-반응성 루시퍼라제 리포터와 함께 KLB 및 표시된 FGFR에 대한 발현 벡터들로 공동-형질감염시켰다. 루시퍼라제 검정 전에, 형질감염된 세포를 증가되는 농도의 FGF19 또는 FGF21을 함유하는 배지와 함께 6시간 동안 인큐베이션하였다. 레닐라 루시퍼라제 활성에 의해 표준화되고 상대적인 루시퍼라제 유닛 (RLU)으로 표현되는 상대적인 루시퍼라제 활성에 의해 전사 활성화를 평가하였다. 이 도면은 FGF21 및 FGF19가 KLB의 존재 하에 FGFR2c 및 FGFR3c를 활성화하였음을 나타낸다.

도 20은 KLB 및/또는 FGFR (FGFR1c 또는 FGFR4)로 공동-형질감염되고, X축에 제시된 다양한 FGF 구축물 (사용된 FGF 구축물들의 아미노산 조성에 대해서는 도 18b 참조)로 일시적으로 형질감염된 293 세포로부터의 조건화 배지와 함께 인큐베이션된 L6 세포를 사용하는 GAL-E1k-1 검정에서의 FGFR1c 또는 FGFR4의 활성화를 나타낸다. 결과는 모조 형질감염된 세포로 조건화된 대조군 배지에 대한 유도 배수로서 제시된다. X축에 표시된 번호매김은 도 18b에서 제시된 구축물의 번호매김에 상응한다.

도 21은 먹이를 급식한 마우스에서의 FGF19의 효과를 나타낸다. 도 21a는 1 mg/kg의 FGF21, FGF19, 또는 FGF19v 또는 PBS 대조군이 (꼬리 정맥을 통해) 주사된 FVB 마우스에서의 다양한 유전자 (c-Fos, Egr-1, GK, SHP, 및 Cyp7a1)의 상대적인 발현을 나타낸다. p 값: *<0.05, **<0.01, ***<0.001 (PBS에 대해). 주사하고 나서 4시간 후, 각각의 마우스로부터 간 mRNA를 준비하고, 지시된 유전자에 대한 실시간 qPCR 분석에 적용하였다. 도 21b는 1 mg/kg의 FGF21 또는 FGF19 또는 PBS 대조군이 복강내 주사된 WT 또는 FGFR4 KO (KO) 마우스 (N=5-7)에서의 다양한 유전자 (c-Fos, Egr-1, GK, SHP, 및 Cyp7a1)의 상대적인 발현을 나타낸다. 밤새 단식시킨 마우스에게 FGF 단백질 또는 PBS 대조군을 복강내 주사하였다. 주사하고 나서 4시간 후, 각각의 마우스로부터 간 mRNA를 준비하고, 지시된 유전자에 대한 실시간 qPCR 분석에 적용하였다. p 값: *<0.05, **<0.01, ***<0.001. 도 21c는 부착 비의존적 세포 성장 검정에서 형광 강도 ($\times 10^5$)에 의해 측정된, 다양한 농도 (10

ng/ml, 60 ng/ml, 및 200 ng/ml)의 FGF21, FGF19, 또는 FGF19v로 처리된 HepG2 세포의 증식을 나타낸다. 비-형광 지시 염료인 레사주린(Resazurin) (알라마 블루(Alamer Blue))의 레소루핀(resorufin)으로의 변환을 기초로 연질 한천에서의 HepG2 세포의 증식을 추정하였다. 도 21d는 FGF19 또는 FGF19v가 주입된 FVB 마우스에서의 BrdU⁺ 간세포의 변화 배수를 나타낸다. N=6, *p<0.01, ***p<5E-5 (PBS에 대해), #p<0.0002 (FGF19에 대해). FVB 마우스에 삼투 펌프를 이식하여, 지시된 FGF 단백질을 1 ng/hr (약 0.8 mg/kg/일)로 지속적으로 주입하였다 (제0일). 제1일에 시작하여, 매일 1 mg/kg/일 FGF 단백질 (q.d.) 및 30 mg/kg/일 BrdU (b.i.d.)의 주사를 마우스에게 또한 제공하였다. 제7일에, 간을 절제하고, 항-BrdU 염색에 적용하였다. 결과는, 분석된 면적 당 BrdU 양성 간세포의 개수에 대해 모조 처리된 동물에 대한 유도 배수로서 제시된다. 도 21e는 도 21c에 제시된 연구에 대한 대표적인 영상을 나타낸다. 도 21f는 도 21d 및 21e에서 사용된 마우스에서의 다양한 유전자 (c-Fos, Egr-1, AFP, GK, Cyp7a1 및 Cyp8b)의 상대적인 발현을 나타낸다. N=6. *p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001 (PBS에 대해), #p<0.05, ##p<0.005 (FGF19에 대해).

도 22는 FGF19v 및 FGF21이 ob/ob 마우스에서 유사한 대사 효과를 나타내고 고혈당증을 완화한다는 것을 나타낸다. 11주령 ob/ob 마우스에게 삼투 펌프를 피하 이식하여, 1 ng/hr FGF 단백질 (0.4 mg/kg/일) 또는 PBS 대조군을 주입하였다 (N=7). 도 22a는 삼투 펌프에 의해 1 ng/hr FGF21 또는 FGF19v (0.4 mg/kg/일) 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스에서의 체중 (g) 및 혈당 (mg/dl)을 나타낸다 (N=7). 제0일에 삼투 펌프를 이식하였다. 도 22b는 무작위 급식 상태 및 밤새 단식 후의 FGF21, FGF19v 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스에서의 혈당 수준 (mg/dl)을 나타낸다. 도 22c는 FGF21, FGF19v 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스에서의 제8일의 혈청 비-에스테르화 지방산 ("NEFA") 수준을 나타낸다. 도 22d는 FGF21, FGF19v 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스에서 수행된 제6일의 내당능 검사 결과를 나타낸다. 마우스를 밤새 단식시키고, t=0에 1 g/kg 글루코스을 복강내 주사하였다. 도 22e는 FGF21, FGF19v 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스에서의 제8일의 기관/체중 비율 (%)을 나타낸다. 도 22f는 qPCR에 의해 결정된 FGF21, FGF19v 또는 PBS 대조군이 주입된 ob/ob 마우스 내의 다양한 조직 (간, 갈색 지방 조직 ("BAT"), 및 백색 지방 조직 ("WAT"))으로부터의 다양한 유전자 (AFP, IGFBP2, SCD-1, Cyp7A, Cyp8B, UCP-1, MCAD, 및 SREBP-1c)의 상대적인 발현을 나타낸다. p 값: *p<0.05, **p<0.005, ***p<0.0005 (PBS 대조군에 대해).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 발명의 상세한 설명

본 발명은 신규 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제공한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 일부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 일부분을 포함한다. 특정한 바람직한 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드는 서열 1에 정의된 서열을 갖는 프로세싱된 인간 FGF19 (hFGF19) 폴리펩티드이다. 특정한 바람직한 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드는 서열 2에 정의된 서열을 갖는 프로세싱된 인간 FGF21 (hFGF21) 폴리펩티드이다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 이뮤노글로불린 도메인, 예컨대 Fc 도메인에 추가로 융합된 신규 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제공한다.

또 다른 측면에서, 본 발명은 수용체 특이성이 변경된 신규 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제공한다. 특정한 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시킨다.

일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드에는 하기의 유리한 특징들 중 하나 이상이 있을 수 있다: 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 간세포 증식을 실질적으로 유도하지 않음, 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 성장 호르몬 저항성을 실질적으로 유도하지 않음, 폴리펩티드가 집단 내에서 다형성인 잔기를 포함하지 않음, 폴리펩티드의 생체내 생리학적 반감기가 적어도 또는 대략적으로 천연 FGF19 폴리펩티드 (예컨대 천연 hFGF19 폴리펩티드)와 동일함, 폴리펩티드의 생체내 생리학적 반감기가 적어도 또는 대략적으로 천연 FGF21 폴리펩티드 (예컨대 천연 hFGF21 폴리펩티드)와 동일함, 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 제지방 체중을 실질적으로 감소시키지 않음, 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 골밀도를 실질적으로 감소시키지 않음, 및 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 심장 능력을 실질적으로 감소시키지 않음.

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 추가적인 유리한 특징에는 하기의 것들 중 하나 이상이 포함될 수 있다: 폴리펩티드가 혈당 저하 치료를 필요로 하는 개체에서 혈당을 저하시킴; 폴리펩티드가 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시킴; 폴리펩티드가 FGFR4를 클로토-베타 의존적 방

식으로 실질적으로 활성화시키지 않음; 폴리펩티드가 FGFR4를 클로토-베타 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않음; 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않음; 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우, 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 감소되지만, 이러한 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양은 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양보다 더 큼; 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우, 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소는 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소보다 더 적음; 투여 시 폴리펩티드가 개체에서 순환 IGF-1 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않음; 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우, 개체 내의 순환 IGF-1의 양이 감소되지만, 이러한 순환 IGF-1의 양은 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 순환 IGF-1의 양보다 더 큼; 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우, 개체 내의 순환 IGF-1의 양의 감소가 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 순환 IGF-1의 양의 감소보다 더 적음; 및 폴리펩티드가 정상 또는 초정상의 GH 양을 가진 개체에서 순환 IGF-1 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않음.

[0044] 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시키는 유리한 특징이 있고, FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시키는 유리한 특징이 있고, FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않으며, 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지만 이러한 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양보다 더 크다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시키는 유리한 특징이 있고, FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않으며, 집단 내에서 다형성인 잔기를 포함하지 않는다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시키는 유리한 특징이 있고, FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않으며, 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지만 이러한 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양보다 더 크고, 집단 내에서 다형성인 잔기를 포함하지 않는다.

[0045] 또 다른 측면에서, 본 발명은 수용체 특이성이 변경된 신규한 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제공한다. 특정한 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR4를 클로토-베타 의존적 또는 비의존적 방식으로 실질적으로 활성화시키지 않는다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR1c, FGFR2c 또는 FGFR3c 중 하나 이상을 클로토-베타 의존적 방식으로 활성화시킨다.

[0046] 또 다른 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF21에 의해 초래되는 성장 호르몬 저항성에 비해 개체에서 성장 호르몬 저항성 활성을 초래하지 않는다. 또 다른 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF21에 의해 초래되는 성장 호르몬 저항성에 비해 개체에서 실질적인 성장 호르몬 저항성 활성을 초래하지 않는다. 특정 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 개체 내의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 개체에서 감소되지만, 이러한 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양이 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양보다 더 크다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소가 천연 hFGF21 투여 시의 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양의 감소보다 더 적다. 특정 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 순환 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF-1)의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 순환 IGF-1의 양이 감소되지만, 이러한 순환 IGF-1의 양이 천연 hFGF21을 개체에게 투여하는 경우의 순환 IGF-1의 양보다 더 크다. 키메라 hFGF19 폴리펩티드가 개체에게 투여되는 경우의 특정 실시양태에서, 순환 IGF-1의 양의 감소가 천연 hFGF21 투여 시의 순환 IGF-1의 양의 감소보다 더 적다.

[0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 서열을 갖는 신규한 단리된 핵산분자, 본 발명의 핵산 분자를 포함하는 신규한 발현 시스템, 및 본 발명의 핵산 분자 또는 본 발명의 발현 시스템을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0048] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드에 특이적으로 결합할 수 있는 항체를 포함한

다.

[0049] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드, 또는 이의 적절한 제약 제제를 투여함으로써 대사 관련 장애에 대해 개체를 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 혈당 저하, 비만 감소, 대사율 증가, 지질 산화 증가, 체중 감소, 더 낮은 혈청 수준의 글루코스, 렙틴, 인슐린, 콜레스테롤 및/또는 트리글리세리드, 당뇨병 치료, 및 기타 대사 효과 중 적어도 하나 이상을 개체에서 초래하는 방법이고, 이 때 이같은 효과가 개체에게 치료량의 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 제제를 투여하는 것에 의해 이루어지는 것인 방법을 제공한다.

I. N-말단 FGF21 폴리펩티드 서열을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드

[0052] 본 발명의 한 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열은 C-말단 부분 및 N-말단 부분을 포함한다. 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하고, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다. 상술된 것의 일부 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분이 연속적으로 연결된다. 상술된 것의 일부 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분이 상기 두 부분 사이에 1개, 2개, 3개 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 중첩시킴으로써 연속적으로 연결된다. 일부 별법적인 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 아미노 잔기의 개재 스페이서(spacer)를 갖는다.

[0053] 특정한 바람직한 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드는 서열 1 (도 1)에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF19 (hFGF19) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 표 1에 제시된 hFGF19 C-말단 부분의 서열 길이를 특히 포함하여, 잔기 약 45개 내지 약 185개의 길이이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 hFGF19 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드는 자신의 신호 서열을 포함하고 서열 3 (도 1)에 정의된 서열을 갖는 예비-프로세싱된 인간 FGF19 (hFGF19) 폴리펩티드이다.

[0054] 특정한 바람직한 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드는 서열 2 (도 2)에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF21 (hFGF21) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 표 2에 제시된 hFGF21 N-말단 부분의 서열 길이를 특히 포함하여, 잔기 약 7개 내지 약 140개의 길이이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 hFGF21 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드는 자신의 신호 서열을 포함하고 서열 4 (도 2)에 정의된 서열을 갖는 예비-프로세싱된 인간 FGF21 (hFGF21) 폴리펩티드이다.

[0055] 본원에서 사용된, 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분, N-말단 부분, 치환된 부분 또는 치환 부분, 예컨대 hFGF19 또는 hFGF21 폴리펩티드 서열의 이러한 부분은 제1 위치 및 최종 위치를 갖는다. 이러한 위치들은 이러한 부분이 참조하는 폴리펩티드 서열 내의 위치에 상응한다. 따라서, 정의된 부분의 서열은 제1 위치에 상응하는 폴리펩티드 서열 내의 위치 또는 대략적인 이러한 위치에서 시작하여 최종 위치에 상응하는 폴리펩티드 서열 내의 위치 또는 대략적인 이러한 위치에서 끝나는 아미노산들의 연속적인 서열이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드의 C-말단 부분의 최종 위치는 폴리펩티드의 최종 잔기 또는 대략적인 이러한 잔기에 상응한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드의 N-말단 부분의 제1 위치는 폴리펩티드의 제1 잔기 또는 대략적인 이러한 잔기에 상응한다.

[0056] 본 발명에서 언급되는 hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분의 예로는, 비제한적으로, 서열 1의 위치 10, 11, 25, 26, 27, 28, 30, 33, 35, 37, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 72, 73, 74, 79, 80, 81, 143, 144, 145 또는 146 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 제1 위치를 갖는 것들이 포함된다. 각각의 예시적인 C-말단 부분은 서열 1의 위치 194 또는 대략적인 이러한 위치에 상응하는 최종 위치를 또한 갖는다. 표 1은 hFGF19의 예시적인 C-말단 부분의 폴리펩티드 서열을 나타낸다. hFGF19의 기타 유사한 부분도 본원에서 또한 고려된다.

표 1hFGF19 폴리펩티드 서열의 예시적인 C-말단 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -C10	PHVHYGWGDPIRLRLHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKA VALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYR SEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMF SSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	8
hFGF19 -C11	HVHYGWGDPIRLRLHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAV ALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSE KHLRPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSS PL ETDSMDPFGLVTLGEAVRSPSFEK	9
hFGF19 -C25	LYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQR QLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVT GLEAVRSPSFEK	10
hFGF19 -C26	YTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQRQ LYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPL ETDSMDPFGLVTLGEAVRSPSFEK	11
hFGF19 -C27	TSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQRQ LYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPL ETDSMDPFGLVTLGEAVRSPSFEK	12
hFGF19 -C28	SGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQRQ LYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPL ETDSMDPFGLVTLGEAVRSPSFEK	13
hFGF19 -C30	PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQRQLYK NRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVT GLEAVRSPSFEK	14
hFGF19 -C33	LSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSV YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSAKQRQLYK NRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVT GLEAVRSPSFEK	15

[0057]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -C35	SCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGK MQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFE K	16
hFGF19 -C37	FLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM QGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPL SHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFE K	17
hFGF19 -C40	IRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL LQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHF LPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	18
hFGF19 -C41	RADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	19
hFGF19 -C42	ADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL YSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	20
hFGF19 -C43	DGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL SEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM LPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	21
hFGF19 -C44	GVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL EEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM PMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	22
hFGF19 -C45	VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL EDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML MVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	23
hFGF19 -C52	QSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL IRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPED LRGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	24
hFGF19 -C53	SAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL YSEEDCAFEEE RPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDL RGHLESDFSSPLETDSMDPFLVTGLEAVRSPSFEK	25

[0058]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -C54	AHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	26
hFGF19 -C56	SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	27
hFGF19 -C57	LLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	28
hFGF19 -C58	LEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	29
hFGF19 -C59	EIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	30
hFGF19 -C72	GVHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	31
hFGF19 -C73	VHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	32
hFGF19 -C74	HHSVRYLCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	33
hFGF19 -C79	LCMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	34
hFGF19 -C80	CMGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	35
hFGF19 -C81	MGADGKMQGLQQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	36

[0059]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	LEAVRSPSFEK	
hFGF19 -C143	FLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	37
hFGF19 -C144	LPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	38
hFGF19 -C145	PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	39
hFGF19 -C146	MLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	40

[0060]

[0061]

본 발명에서 언급되는 hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분의 예로는, 비제한적으로, 서열 2의 위치 7, 8, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 29, 31, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 66, 67, 68, 73, 74, 75, 135, 136, 137 및 138 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 최종 위치를 갖는 것들이 포함된다. 각각의 예시적인 N-말단 부분은 서열 2의 위치 1 또는 대략적인 이러한 위치에 상응

하는 제1 위치를 또한 갖는다. 표 2는 hFGF21의 예시적인 N-말단 부분의 목록을 나타낸다. hFGF21의 기타 유사한 부분도 본원에서 또한 고려된다.

표 2

hFGF21 폴리펩티드 서열의 예시적인 N-말단 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-N7	HPIPDSS	41
hFGF21-N8	HPIPDSSP	42
hFGF21-N20	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRY	43
hFGF21-N21	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYL	44
hFGF21-N22	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLY	45
hFGF21-N23	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYT	46
hFGF21-N25	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDD	47
hFGF21-N27	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ	48
hFGF21-N29	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT	49
hFGF21-N31	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT	50
hFGF21-N34	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT	51

[0062]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-N35	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEI	52
hFGF21-N36	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIR	53
hFGF21-N37	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIRE	54
hFGF21-N38	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIRED	55
hFGF21-N39	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDG	56
hFGF21-N46	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAAD	57
hFGF21-N47	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQ	58
hFGF21-N48	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS	59
hFGF21-N50	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PE	60
hFGF21-N51	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PES	61
hFGF21-N52	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESL	62
hFGF21-N53	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLL	63
hFGF21-N66	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQIL	64
hFGF21-N67	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILG	65
hFGF21-N68	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGV	66
hFGF21-N73	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRF	67
hFGF21-N74	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFL	68
hFGF21-N75	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLC	69
hFGF21-N135	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDP EACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPAR	70

[0063]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-N136	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDP EACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARF	71
hFGF21-N137	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDP EACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFL	72
hFGF21-N138	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDTVGGAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDP EACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLP	73

[0064]

[0065]

본원에서 정의된 폴리펩티드 서열의 C-말단, N-말단 또는 임의의 기타 부분이 정의된 제1 위치 또는 최종 위치에서 1개 내지 5개 또는 그 초과의 추가적인 잔기 또는 더 적은 잔기를 독립적으로 및 임의적으로 포함할 수 있

는 것으로 의도된다. 예를 들어, 잔기 100에 또는 대략적인 이러한 잔기에 제1 위치가 있는 폴리펩티드의 C-말단 부분이, 독립적으로, (i) 임의적으로 위치 100의 잔기에 대해 N-말단인 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 추가적인 잔기를 포함할 수 있거나, (ii) 임의적으로 최종 잔기에 대해 C-말단인 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 추가적인 잔기를 포함할 수 있거나, (iii) 임의적으로 위치 100의 잔기에 대해 C-말단인 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 추가적인 잔기 위치에서 시작할 수 있거나, 또는 (iv) 임의적으로 최종 잔기에 대해 N-말단인 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 잔기 위치에서 끝날 수 있다. 존재하는 경우, 추가적인 잔기 중 하나 이상은 폴리펩티드 내의 상응하는 위치에서의 잔기와 동일할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다.

[0066]

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 일부 실시양태에서, 이의 서열의 N-말단 부분은 표 2에 열거된 hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분들로부터 선택되는 서열을 포함하고, 이의 서열의 C-말단 부분은 표 1에 열거된 hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분들 중에서 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선택된 hFGF21 N-말단 부분 및 선택된 hFGF19 C-말단 부분은 서로에 대해 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, hFGF21 N-말단 서열 부분 및 hFGF19 C-말단 서열 부분은 N-말단 서열 부분의 C-말단 및 C-말단 서열 부분의 N-말단 끝부분이 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 갖도록 선택된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분이 이들 사이의 개재 아미노산 없이 연속적인 서열을 포함한다. 상술된 것의 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분이 상기 두 부분 사이에 1개, 2개, 3개 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 중첩시킴으로써 연속적으로 연결된 서열을 포함한다. 일부 별법적인 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하고 이들 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 아미노 잔기의 개재 스페이서를 추가로 포함하는 서열을 포함한다.

[0067]

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 예시적인 서열이 표 3에서 제시되며, 여기서 이의 N-말단 부분은 hFGF21 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하고, 이의 C-말단 부분은 hFGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다.

표 3

예시적인 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
cFGF21/19-1	HPIPDS PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSA HSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCA FEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFE K	74
cFGF21/19-2	HIPDSSPLLQFGGQVRQR LYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIK GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEK HRLPVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMVPEEPEDLRGHLE SDMFSSPL ETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	5
cFGF21/19-3	HIPDSSPLLQFGGQVRQRLYTDD PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHS VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPL VSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMVPEEPEDLRGHLESDMF SSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK	75
cFGF21/19-4	HIPDSSPLLQFGGQVRQRLYTDDAQ LSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRY LCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSL	76

[0068]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	SSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSP LETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	
cFGF21/19-5	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT SCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLC MGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSS AKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLE TDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	77
cFGF21/19-6	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT FLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCM GADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAK QRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETD SMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	78
cFGF21/19-7	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT IRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGAD GKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQ LYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMD PFGLVTGLEAVRSPSFEK	79
cFGF21/19-8	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT TEAHLE DGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGK MQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLY KNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDP FGLVTGLEAVRSPSFEK	80
cFGF21/19-9	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT AAD TEAHLEIREDTVGG QSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEE DCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSH FLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	81
cFGF21/19-10	HPIPDSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT AADQSPE TEAHLEIREDTVGG SLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM	82

[0069]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	LPMPPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	
cFGF21/19-11	HPIPDSPLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVHSVRYLCMGADGKMQGLQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	83
cFGF21/19-12	HPIPDSPLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLCMGADGKMQGLQYSEEDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	84
cFGF21/19-13	HPIPDSPLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK	85

[0070]

II. C-말단 FGF21 폴리펩티드 서열을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드

[0071]

본 발명의 두 번째 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열은 C-말단 부분 및 N-말단 부분을 포함한다. 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하고, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다. 상술된 것의 일부 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 연속적으로 연결된다. 상술된 것의 일부 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 상기 두 부분 사이에 1개, 2개, 3개 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 중첩시킴으로써 연속적으로 연결된다. 일부 별법적인 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분 및 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 아미노 잔기의 개체 스페이서를 갖는다.

[0072]

특정한 바람직한 실시양태에서, FGF19 폴리펩티드는 서열 1에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF19 (hFGF19) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hFGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 표 4에 제시된 hFGF19 N-말단 부분의 서열 길이를 특히 포함하여, 잔기 약 45개 내지 약 175개의 길이이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분은 hFGF19 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함한다.

[0073]

특정한 바람직한 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드는 서열 2에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF21 (hFGF21) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, hFGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 표 5에 제시된 hFGF21 C-말단 부분의 서열 길이를 특히 포함하여, 잔기 약 8개 내지 약 145개의 길이이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분은 hFGF21 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다.

[0074]

본 발명에서 언급되는 hFGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분의 예로는, 비제한적으로, 서열 1의 위치 9, 10, 24, 25, 26, 27, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 71, 72, 73, 78, 79, 80, 142, 143, 144 및 145 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 최종 위치를 갖는 것들이 포함된다. 각각의 예시적인 N-말단 부분은 서열 1의 위치 1 또는 대략적인 이러한 위치에 상응하는 최종 위치를 또한 갖는다. 표 4는 hFGF19의 예시적인 N-말단 부분의 폴리펩티드 서열을 나타낸다. hFGF19의 기타 유사한 부분도 본원에서 또한 고려된다.

표 4

hFGF19 폴리펩티드 서열의 예시적인 N-말단 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -N9	RPLAFSDAG	86
hFGF19 -N10	RPLAFSDAGP	87
hFGF19 -N24	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRH	88
hFGF19 -N25	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHL	89

[0076]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -N26	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLY	90
hFGF19 -N27	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYT	91
hFGF19 -N39	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLR	92
hFGF19 -N40	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRI	93
hFGF19 -N41	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIR	94
hFGF19 -N42	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRA	95
hFGF19 -N43	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRAD	96
hFGF19 -N44	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG	97
hFGF19 -N51	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG	98
hFGF19 -N52	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ	99
hFGF19 -N53	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQS	100
hFGF19 -N55	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAH	101
hFGF19 -N56	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHS	102
hFGF19 -N57	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL	103
hFGF19 -N58	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLL	104
hFGF19 -N71	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIK	105

[0077]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19 -N72	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKG	106
hFGF19 -N73	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGV	107
hFGF19 -N78	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRY	108
hFGF19 -N79	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYL	109
hFGF19 -N80	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLC	110
hFGF19 -N142	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEI RPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSH	111
hFGF19 -N143	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEI RPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHF	112
hFGF19 -N144	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEI RPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL	113
hFGF19 -N145	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEI RPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP	114

[0078]

[0079]

본 발명에서 언급되는 hFGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분의 예로는, 비제한적으로, 서열 2의 위치 8, 9, 21, 22, 23, 24, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 67, 68, 69, 146, 147, 148 및 149 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 최종 위치를 갖는 것들이 포함된다. 각각의 예시적인 C-말단 부분은 서열 2의 위치 181 또는 대략적인 이러한 위치에 상응하는 최종 위치를 또한 갖는다. 표 5는 hFGF21의 예시적인 C-말단 부분의 목록을 나타낸다. hFGF21의 기타 유사한 부분도 본원에서 또한 고려된다.

표 5hFGF21 폴리펩티드 서열의 예시적인 C-말단 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-C8	PLLFQGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	115
hFGF21-C9	LLQFQQVQRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	116
hFGF21-C21	LYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	117
hFGF21-C22	YTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	118
hFGF21-C23	TDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	119
hFGF21-C24	DDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	120
hFGF21-C35	IREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	121
hFGF21-C36	REDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGS	122

[0080]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-C37	EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGAL YGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP APRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRS PSYAS	123
hFGF21-C38	DGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	124
hFGF21-C39	GTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYG SLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP RGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPS YAS	125
hFGF21-C40	TVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGS LHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPY AS	126
hFGF21-C47	QSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEAC SFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	127
hFGF21-C48	SPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACS FRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	128
hFGF21-C49	PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSF RELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLPG LPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	129
hFGF21-C51	SLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLPGLP PALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	130
hFGF21-C52	LLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFREL LLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDP GPARFLPLPGLPP ALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	131
hFGF21-C53	LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELL	132

[0081]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	LEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA LPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	
hFGF21-C54	QLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLL EDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	133
hFGF21-C67	GVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAH GPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	134
hFGF21-C68	VKTTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAHG LPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	135
hFGF21-C69	KTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAHGL PLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDVGS SDPLSMVGPSQGRSPSYAS	136
hFGF21-C74	LCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP GNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	137
hFGF21-C75	CQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP NKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS VGPSQGRSPSYAS	138
hFGF21-C76	QRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP KSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	139
hFGF21-C146	FLPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	140
hFGF21-C147	LPLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	141
hFGF21-C148	PLPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	142
hFGF21-C149	LPGLPPA PEPPGILAPQPPDV GSSDPLS MVGPSQGRSPSYAS	143

[0082]

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 일부 실시양태에서, 이의 서열의 N-말단 부분은 표 4에 열거된 hFGF19 폴리펩티드 서열 부분들로부터 선택되는 서열을 포함하고, 이의 서열의 C-말단 부분은 표 5에 열거된 hFGF21 폴리펩티드 서열 부분들로부터 선택되는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선택된 hFGF19 N-말단 부분 및 선택된 hFGF21 C-말단 부분은 서로에 대해 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, hFGF19 N-말단 서열 부분 및 hFGF21 C-말단 서열 부분은 N-말단 서열 부분의 C-말단 및 C-말단 서열 부분의 N-말단 끝부분이 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 갖도록 선택된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분이 이들 사이의 개재 아미노산 없이 연속된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분이 이들 두 부분 사이에 1개, 2개, 3개 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 중첩시킴으로써 연속적으로 연결된 서열을 포함한다. 일부 별법적인 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 FGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분 및 FGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함하고 이들 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 아미노 잔기의 개재 스페이서를 추가로 포함하는 서열을 포함한다.

[0084]

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 예시적인 서열이 표 6에서 제시되며, 여기서 이의 N-말단 부분은 hFGF19 폴리펩티드 서열의 N-말단 부분을 포함하고, 이의 C-말단 부분은 hFGF21 폴리펩티드 서열의 C-말단 부분을 포함한다.

표 6예시적인 카메라 FGF19 폴리펩티드 서열

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
cFGF19/21-1	RPLAFSDAG PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESL LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELL LEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA LPEPPGILAPQPPDVGGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	144
cFGF19/21-2	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRH LYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQIL GVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	145
cFGF19/21-3	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLR IREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRD	146

[0085]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	PAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	
cFGF19/21-4	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG DTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPA PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	147
cFGF19/21-5	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARG QSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEAC SFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPA PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	148
cFGF19/21-6	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAH SLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPA PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	149
cFGF19/21-7	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIK GVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GPLHLPGNKSPHRDPA PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	150
cFGF19/21-8	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRY LCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLP GNKSPHRDPA PRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	151
cFGF19/21-9	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGK MQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVSLSSAKQR QLYKNRGFLPLSH FLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDV GSSDPLSMVGPSQGRSP SYAS	152

[0086]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
cFGF19/21-10 (도 18B에 제시된 구축물 8)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHVSRYLCMGADGK MQGLLQYSEEDCAFFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQR QLYKNRGFLPLSHFLP LPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	271
cFGF19/21-11 (도 18B에 제시된 구축물 9)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGV KTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPPEACSFRELLLEDGYNVYQSE AHGLPLJHLPGNKSHPRDAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	272
cFGF19/21-12 (도 18B에 제시된 구축물 10)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQSAHSLL QLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPPEACSFRELL EDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSHPRDAPRGPARFLPLPGLPPAL PEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	273
cFGF19/21-13 (도 18B에 제시된 구축물 11)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG VVDCARGQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPPEACSF RELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSHPRDAPRGPARFLPLPG LPPALPEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	274
cFGF19/21-14 (도 18B에 제시된 구축물 12)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG TVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGS LHFDPPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSHPRDAPRG PARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	275
cFGF19/21-15 (도 18B에 제시된 구축물 13)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIR EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGAL YGSLLHFDPPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSHPRD APRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	276
cFGF19/21-16 (도 18B에 제시된 구축물 14)	RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYT DDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVK TSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPPEACSFRELLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLPGNKSHPRDAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAP QPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	277
cFGF19/21-17 (도 18B에 제시된 구축물 15)	RPLAFSDAGP LLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLL QLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLLHFDPPEACSFRELL EDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSHPRDAPRGPARFLPLPGLPPAL PEPPGILAPQPPDVGSDDPLSMVGPSQGRSPSYAS	278

[0087]

III. 치환 FGF21 폴리펩티드 서열을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드

[0089]

본 발명의 세 번째 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열은 제1 폴리펩티드 서열의 일부분이 제2 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환된 제1 폴리펩티드 서열을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 제1 폴리펩티드는 서열 1에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF19 (hFGF19) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, 제1 폴리펩티드 서열은 hFGF19 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열이다.

[0090]

특정한 바람직한 실시양태에서, 제2 폴리펩티드는 서열 2에 정의된 서열을 갖는 인간 FGF21 (hFGF21) 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, FGF21 폴리펩티드 서열은 hFGF21 폴리펩티드 서열에 대한 아미노산 서열 동일성이 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상인 폴리펩티드 서열이다.

[0091]

일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 치환될 부분이, 최종 위치가 제1 위치에 대해 C-말단이고 위치들이 독립적으로 선택되도록, (i) 서열 1 내의 위치 1, 10, 11, 17, 18, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 52, 53, 54, 56, 57, 58, 59, 63, 72, 73, 74, 79, 80, 81, 143, 144, 145 및 146 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 제1 위치, 및 (ii) 서열 1 내의 위치 9, 10, 24, 25, 26, 27, 29, 31, 32, 34, 36, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 66, 71, 72, 73, 78, 79, 80, 142, 143, 144, 145 및 194 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응

하는 최종 위치를 갖는 부분들을 비제한적으로 포함하는 군으로부터의 것인 hFGF19 폴리펩티드 서열을 포함한다. 표 7은 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환될 hFGF19 폴리펩티드 서열의 예시적인 부분의 목록을 나타낸다.

표 7

hFGF19 폴리펩티드 서열의 예시적인 치환된 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19-S10-27	PHVHYGWDPIRLRHLYT	153
hFGF19-S10-29	PHVHYGWDPIRLRHLYTSG	154
hFGF19-S10-31	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPH	155
hFGF19-S10-32	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHG	156

[0092]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF19-S10-34	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLS	157
hFGF19-S10-36	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSC	158
hFGF19-S10-41	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIR	159
hFGF19-S10-44	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG	160
hFGF19-S10-52	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQS	161
hFGF19-S10-58	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL L	162
hFGF19-S10-73	PHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSL LEIKAVALRTVAIKGV	163
hFGF19-S17-27	GDPPIRLRHLYT	164
hFGF19-S17-29	GDPPIRLRHLYTSG	165
hFGF19-S17-31	GDPPIRLRHLYTSGPH	166
hFGF19-S17-32	GDPPIRLRHLYTSGPHG	167
hFGF19-S17-34	GDPPIRLRHLYTSGPHGLS	168
hFGF19-S17-36	GDPPIRLRHLYTSGPHGLSSC	169
hFGF19-S21-27	RLRHLYT	170
hFGF19-S21-29	RLRHLYTSG	171
hFGF19-S21-	RLRHLYTSGPH	172

[0093]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
31		
hFGF19-S21-32	RLRHLYTSGPHG	173
hFGF19-S21-34	RLRHLYTSGPHGLS	174
hFGF19-S21-36	RLRHLYTSGPHGLSSC	175
hFGF19-S25-41	LYTSGPHGLSSCFLRIR	176
hFGF19-S25-44	LYTSGPHGLSSCFLRIRADG	177
hFGF19-S25-52	LYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQS	178
hFGF19-S25-58	LYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLL	179
hFGF19-S25-73	LYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLLEIKAVAILRTVAIKGV	180
hFGF19-S63-66	VALR	181

[0094]

hFGF19 폴리펩티드 서열의 치환된 부분은 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환된다. hFGF21 폴리펩티드 서열의 예시적인 치환 부분에는, 비제한적으로, 최종 위치가 제1 위치에 대해 C-말단이고 위치들이 독립적으로 선택되도록 (i) 서열 2 내의 위치 1, 8, 9, 13, 14, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 58, 67, 68, 69, 74, 75, 76, 136, 137, 138 및 139 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 제1 위치, 및 (ii) 서열 2 내의 위치 7, 8, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 29, 31, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 61, 66, 67, 68, 73, 74, 75, 135, 136, 137, 138 및 181 중 어느 하나 또는 대략적인 이러한 위치들 중 어느 하나에 상응하는 최종 위치를 갖는 부분들이 포함된다. 표 8은 hFGF19 폴리펩티드 서열의 일부분을 치환할 hFGF21 폴리펩티드 서열의 예시적인 부분의 목록을 나타낸다.

표 8hFGF21 폴리펩티드 서열로부터의 예시적인 치환 부분

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
hFGF21-S8-23	PLLQFGGQVRQRQLYT	182
hFGF21-S8-25	PLLQFGGQVRQRQLYTDD	183
hFGF21-S8-27	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQ	184
hFGF21-S8-29	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQT	185
hFGF21-S8-31	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEA	186
hFGF21-S8-36	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIR	187
hFGF21-S8-39	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDG	188
hFGF21-S8-48	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQS	189
hFGF21-S8-53	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLL	190
hFGF21-S8-68	PLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQL KALKPGV	191
hFGF21-S13-23	GGQVRQRQLYT	192
hFGF21-S13-25	GGQVRQRQLYTDD	193
hFGF21-S13-27	GGQVRQRQLYTDDAQ	194
hFGF21-S13-29	GGQVRQRQLYTDDAQQT	195
hFGF21-S13-31	GGQVRQRQLYTDDAQQTTEA	196
hFGF21-S17-23	RQRQLYT	197
hFGF21-S17-25	RQRQLYTDD	198
hFGF21-S17-27	RQRQLYTDDAQ	199
hFGF21-S17-29	RQRQLYTDDAQQT	200
hFGF21-S17-	RQRQLYTDDAQQTTEA	201

[0096]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
31		
hFGF21-S21-36	LYTDDAQQTEAHLEIR	202
hFGF21-S21-39	LYTDDAQQTEAHLEIREDG	203
hFGF21-S21-48	LYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSQS	204
hFGF21-S21-53	LYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLL	205
hFGF21-S21-68	LYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGV	206
hFGF21-S58-62	LKPG	207

[0097]

[0098] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 자신의 서열의 일부분, 예컨대 표 7에 열거된 hFGF19 폴리펩티드 서열 부분들로부터 선택된 서열이 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분, 예컨대 표 8에 열거된 서열 부분으로 치환된 hFGF19의 폴리펩티드 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 선택된 치환될 hFGF19 부분 및 선택된 치환되는 hFGF21 부분은 서로에 대해 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서, 치환될 hFGF19 부분은 hFGF19 폴리펩티드의 N-말단 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환될 hFGF19 부분은 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환하는 hFGF21 부분은 hFGF21 폴리펩티드의 N-말단 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환하는 hFGF21 부분은 hFGF21 폴리펩티드의 C-말단 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환될 hFGF19 부분이 hFGF19 폴리펩티드의 N-말단 잔기를 포함하고, 치환하는 hFGF21 부분도 또한 hFGF21 폴리펩티드의 N-말단 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 치환될 hFGF19 부분이 hFGF19 폴리펩티드의 C-말단 잔기를 포함하고, 치환하는 hFGF21 부분도 또한 hFGF21 폴리펩티드의 C-말단 잔기를 포함한다.

[0099]

일부 실시양태에서, hFGF19 서열 부분 및 hFGF21 서열 부분은 이들의 각각의 상응하는 끝부분 중 하나 이상 (예를 들어, hFGF19 부분의 N-말단 끝부분 및 hFGF21 부분의 N-말단 끝부분, hFGF19 부분의 C-말단 끝부분 및 hFGF21 부분의 C-말단 끝부분, 또는 양쪽 모두)이 상기 상응하는 끝부분들에서 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 갖도록 선택된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 상기 두 부분 사이에 1개, 2개, 3개 또는 그 초과의 잔기를 공통으로 중첩시킴으로써 hFGF21 폴리펩티드 서열의 치환 부분이 나머지 hFGF19 폴리펩티드 서열에 연속되는 서열을 포함한다.

[0100]

일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 hFGF19 및 hFGF21 폴리펩티드 서열들이 연속되고 이들 사이에 추가적인 개재 아미노산이 없도록 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분이 hFGF19 폴리펩티드 서열 내에 치환된 서열을 포함한다. 일부 별법적인 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열은 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열이 hFGF19 서열과 hFGF21 서열 사이에 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 그 초과의 아미노 잔기의 개재 스페이서를 추가로 포함하도록 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분이 hFGF19 폴리펩티드 서열 내에 치환된 서열을 포함한다.

[0101]

hFGF19의 일부분이 hFGF21의 일부분으로 치환된 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 예시적인 서열이 표 9에서 제시된다.

표 9

예시적인 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
cFGF19/21/19-1	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCA RGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVR SPSFKEK	208
cFGF19/21/19-2	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQY SEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLLSAKQRQLYKNRGFLPL SHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAV RSPSFKEK	209
cFGF19/21/19-3	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQY SEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLLSAKQRQLYKNRGFLPL SHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAV	210

[0102]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	RSPSFEK	
cFGF19/21/19-4	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQLSSCFLRIRADGVVDCA RGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	211
cFGF19/21/19-5	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTSCFLRIRADGVVDCA RGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	212
cFGF19/21/19-6	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAFLRIRADGVVDCA RGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	213
cFGF19/21/19-7	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIRADGVVDCA RGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	214
cFGF19/21/19-8	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVVGA RGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	215
cFGF19/21/19-9	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVVGA ADQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYS EEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVR SPSFEK	216

[0103]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
cFGF19/21/19-10	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSE EDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSH FLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS PSFEK	217
cFGF19/21/19-11	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDGTVGGA ADQSPESLQLKALKPGVIQILGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSE EDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSH FLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS PSFEK	218
cFGF19/21/19-12	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRQLYTSGPHGLSSCFLRIRADGV DCARGQSAHSLLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS AVRSPSFEK	219
cFGF19/21/19-13	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRQLYTDDPHGLSSCFLRIRADGV DCARGQSAHSLLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS AVRSPSFEK	220
cFGF19/21/19-14	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRQLYTDDAQGLSSCFLRIRADGV VDCARGQSAHSLLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGL LQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS EAVRSPSFEK	221
cFGF19/21/19-15	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRQLYTDDAQLSSCFLRIRADGV DCARGQSAHSLLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEYRS AVRSPSFEK	222
cFGF19/21/19-	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRQLYTDDAQQTSCFLRIRADGV	223

[0104]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
16	DCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLE AVRSPSFEK	
cFGF19/21/19-17	RPLAFSDAGPHVHYGWGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAFLRIRADGVV DCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLE AVRSPSFEK	224
cFGF19/21/19-18	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVV CARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQ YSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEA VRSPSFEK	225
cFGF19/21/19-19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADGVV DCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLE AVRSPSFEK	226
cFGF19/21/19-20	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTDDAQGLSSCFLRIRADGVV DCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLL QYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFL PLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLE AVRSPSFEK	227
cFGF19/21/19-21	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTDDAQLSSCFLRIRADGVV CARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQ YSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEA VRSPSFEK	228
cFGF19/21/19-22	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTDDAQQTSCFLRIRADGVV CARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQ	229

[0105]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	
cFGF19/21/19-23	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRYLYTDDAQQTAEFLRIRADGVVD CARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	230
cFGF19/21/19-24	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTDDAQQTAEHLEIRADGVVD CARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	231
cFGF19/21/19-25	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTDDAQQTAEHLEIREDG VVD CARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	232
cFGF19/21/19-26	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTDDAQQTAEHLEIREDG TVG GAADQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	233
cFGF19/21/19-27	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTDDAQQTAEHLEIREDG TVG GAADQSPESLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	234
cFGF19/21/19-28	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTDDAQQTAEHLEIREDG TVG GAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVHSVRYLCMGADGKM Q LLQY SEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPL	235

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	SHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	
cFGF19/21/19-29	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRIIYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVD CARGQSAHSLLIEIKALKPGTVAIKGVHSVRYLCMGADGKM Q GLLQ YSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLP LSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLG EA VRSPSFEK	236

[0106]

[0107]

[0108]

임의의 키메라 hFGF19의 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 hFGF19 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제1 폴리펩티드 서열을 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드 서열의 일부분이 hFGF21 폴리펩티드의 서열에 대해 특정 값 이상의 서열 동일성을 갖는 제2 폴리펩티드 서열의 1개 초과의 부분으로 치환된다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드의 $\beta 1-\beta 2$ 루프, 제2 폴리펩티드의 $\beta 10-\beta 12$ 절편 및/또는 제2 폴리펩티드의 상응하는 서열 GQV로의 제1 폴리펩티드의 $\beta 1-\beta 2$ 루프의 치환, 제1 폴리펩티드의 $\beta 10-\beta 12$ 절편의 치환 및/또는 제1 폴리펩티드의 5개 잔기 WGDPI (서열 287)의 치환을

추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 FGF21의 $\beta 1-\beta 2$ 루프 (FGF21의 아미노산 잔기 51-57 (DDAQQTE (서열 289))로의 FGF19의 $\beta 1-\beta 2$ 루프 (FGF19의 아미노산 잔기 50-57 (SGPHGLSS (서열 288)))의 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 FGF21의 $\beta 10-\beta 12$ 절편 (FGF21의 아미노산 잔기 147-161 (PGNKSPHRDPAPRGP (서열 291))으로의 FGF19의 $\beta 10-\beta 12$ 절편 (FGF19의 아미노산 잔기 146-162 (SSAKQRQLYKNRGFLPL (서열 290)))의 치환을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 키메라 hFGF19 폴리펩티드는 FGF21의 아미노산 잔기 41-43 (GQV)으로의 FGF19의 아미노산 잔기 38-42 (WGDPI (서열 287))의 치환을 추가로 포함한다.

[0109] 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드, 및 특히 이의 제약상 활성인 조성물 및 본원에 열거 또는 기술되었거나 당업계에 공지된 질환, 상태 등 중 하나 이상의 치유적 치료에서 상기 키메라 FGF19 폴리펩티드를 사용하는 방법은 천연 FGF19 (예를 들어, hFGF19) 또는 천연 FGF21 (예를 들어, hFGF21)을 사용하는 것에 비해 특정한 장점이 있다.

[0110] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 이의 천연 부모 FGF 중 하나 또는 양쪽보다 덜 면역원성일 수 있다. 천연 FGF19 및/또는 FGF21 (예컨대 hFGF19 또는 hFGF21)은 대립유전자 형태들 간에 상이한 하나 이상의 아미노산 잔기가 있는, 1가지 초과의 대립유전자 변이로 집단 내에서 존재할 수 있다. 예를 들어, hFGF21은 성숙형 형태에서 위치 146에 다형성이 있는 것으로 공지되어 있고, 이때 이러한 잔기는 상이한 대립유전자들에서 유전 (도 2 및 서열 2에서와 같음) 또는 프롤린일 수 있다. 이같은 다형성은 치료 조성물로서의 천연 hFGF21의 유용성을 제한할 수 있다. 예를 들어, 개체의 내인성 FGF19가 투여된 FGF19와 상이한 서열을 갖는 경우, FGF19 폴리펩티드를 개체에게 투여하게 되면 투여된 hFGF19에 대해 개체에 의한 면역 반응이 초래될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 hFGF21 폴리펩티드 서열의 일부분 및 hFGF19 폴리펩티드 서열의 일부분을 포함할 수 있고, 이때 두 부분 모두 다형성이지 않은 각각의 폴리펩티드 서열의 부분만을 포함한다. 이는, 예를 들어, 한 FGF의 다형성 서열 부분을 다른 FGF 폴리펩티드의 유사한 비-다형성 부분으로 치환함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, hFGF21의 일부분을 포함하지만 위치 146은 포함하지 않는 cFGF21/19-2 (표 3 참조)와 같은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 이러한 위치에서의 다형성이 없다. 이러한 방식으로, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 유리하게 덜 면역원성일 수 있고, 따라서 광범위한 개체에서의 투여에 대해 유리하게 더 적절할 수 있다.

[0111] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 이의 상응하는 천연 FGF 중 하나 또는 양쪽보다 종양형성성이 더 적을 수 있다. 특히, 키메라 FGF19 폴리펩티드가 천연 hFGF19보다 종양형성성이 더 적을 수 있다. 천연 hFGF19는, 상기 논의된 바와 같이, FGFR4에 대한 이의 결합을 통해 잠재적인 종양형성 활성을 나타낸다. 이러한 종양형성 활성은 hFGF21과 유사하게 FGFR1c, FGFR2c 및/또는 FGFR3c에 대한 클로토-베타 의존적 결합을 통해 초래되는 hFGF19의 대사 효과로부터 분리될 수 있는 것으로 보인다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGFR4-이펙터 (effector) 모티프를 포함하지 않는 hFGF19 폴리펩티드 서열의 일부분을 포함하고, 그 대신 hFGF21로부터의 상응하는 서열로 치환된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 더 이상 FGFR4에 실질적으로 결합하지 않고/않거나 이를 실질적으로 활성화시키지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 더 이상 클로토-베타 비의존적 방식으로 FGFR4와 같은 수용체에 실질적으로 결합하지 않고/않거나 이를 실질적으로 활성화시키지 않는다. 이러한 방식으로, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 유리하게 종양형성성이 더 적을 수 있고, 따라서 광범위한 개체에서의 투여에 대해 유리하게 더 적절할 수 있다.

[0112] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 성장 호르몬 (GH) 저항성을 초래하지 않을 수 있거나, 또는 이의 상응하는 천연 FGF 중 하나 또는 양쪽보다 실질적으로 더 적은 GH 저항성 활성을 나타낼 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF21, 예컨대 천연 hFGF21보다 GH 저항성 활성이 더 적을 수 있다. 정상적으로 GH는 인슐린-유사 성장 인자 1 (IGF-1)에 의해 매개되는 성장 및 대사 효과를 갖는다. GH가 그의 수용체에 결합하게 되면 앤드로겐 키나제 2 (JAK2)의 활성화가 초래되고, 그러면 이는 STAT5 단백질을 인산화한다. 인산화된 STAT5는 핵으로 전위되고, IGF-1 발현을 촉진하는 유전자 조절 반응 요소에 결합한다.

[0113] GH의 효과는 증가된 FGF21 수준에 의해 또는 FGF21 수준을 또한 증가시키는 장기 기아 또는 단식에 의해 개체에서 둔해질 수 있다. 개체에서의 GH 저항성의 효과에는 에너지 보존, 둔감 증가, 체온 감소, 신체 활동 감소, 성장 억제, 제지방 체중 감소, 및 케톤체 합성 유도가 포함된다. 천연 hFGF21은, 예를 들어, GH에 의해 정상적으로 유도되는 IGF-1의 수준을 감소시킴으로써 GH 저항성을 초래한다. 이론에 한정되지 않으면서, hFGF21의 이러한 GH 저항성 활성은, 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키고, 결과적으로 인산화된 STAT5의 핵으로의 전위를 감소시켜 IGF-1의 발현을 감소시킴으로써 GH의 효과에 저항하는 그의 능력에 의해 매개되는 것일 수 있

다.

[0114] 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 인산화된 STAT5 폴리펩티드의 양을 감소시키지 않거나 실질적으로 감소시키지 않는다. 이러한 방식으로, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 GH 저항성 활성을 더 적게 나타내거나 실질적으로 나타내지 않을 수 있고, 따라서 광범위한 개체에서의 투여에 대해 유리하게 더 적절할 수 있다.

[0115] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 세포의 부착-비의존적 성장을 실질적으로 촉진하지 않는다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 부착-비의존적 성장을 필요로 하는 환경에서의 세포의 증식 및/또는 증가된 대사 활성을 실질적으로 촉진하지 않을 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF19의 상응하는 부착-비의존적 성장 촉진보다 더 적은 정도로 세포의 부착-비의존적 성장을 촉진할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF19의 상응하는 효과보다 더 적은 정도로 부착-비의존적 성장을 필요로 하는 환경에서의 세포의 증식 및/또는 증가된 대사 활성을 촉진할 수 있다. 부착-비의존적 성장은 형질전환된 세포의 결정적인 특징들 중 하나이기 때문에, 세포의 부착-비의존적 성장을 촉진하지 않거나 부착-비의존적 성장을 필요로 하는 환경에서의 세포의 증식 및/또는 증가된 대사 활성을 실질적으로 촉진하지 않는 이같은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 형질전환된 세포의 성장 및/또는 대사 활성의 차별적 촉진 또는 증가를 더 적게 할 수 있고, 따라서 광범위한 개체에서의 투여에 대해 유리하게 더 적절할 수 있다.

IV. 정의

[0117] 용어 "FGF19 폴리펩티드", "FGF19 단백질" 및 "FGF19"는, 본원에서 사용되는 경우, 섬유모세포 성장 인자 19 패밀리의 구성원의 천연 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 이같은 패밀리의 구성원에는 서열 1에 의해 및 도 1에서 제공되는 바와 같은 인간 FGF19 (hFGF19)의 194-아미노산 서열이 포함된다. FGF19 폴리펩티드는 자연으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합 및/또는 합성 수단에 의해 생산될 수 있다. FGF19 폴리펩티드는 FGF19의 천연-발생 말단절단 또는 분비 형태, 천연-발생 변이체 형태 (예를 들어, 별법적으로 스플라이싱된 형태), 및 천연-발생 대립유전자 변이체를 명확하게 포함한다. FGF19 폴리펩티드는 FGF19의 프로세싱되지 않은 형태 및 프로세싱된 형태 양쪽 모두, 예를 들어, 서열 3에 의해 및 도 1에서 제공되는 바와 같은 프리-인간 FGF19 폴리펩티드의 216-아미노산 서열을 또한 명확하게 포함한다.

[0118] 용어 "FGF21 폴리펩티드", "FGF21 단백질" 및 "FGF21"은, 본원에서 사용되는 경우, 섬유모세포 성장 인자 21 패밀리의 구성원의 천연 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 이같은 패밀리의 구성원에는 서열 2에 의해 및 도 2에서 제공되는 바와 같은 인간 FGF21 (hFGF21)의 181-아미노산 서열이 포함된다. FGF21 폴리펩티드는 자연으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합 및/또는 합성 수단에 의해 생산될 수 있다. FGF21 폴리펩티드는 FGF21의 천연-발생 말단절단 또는 분비 형태, 천연-발생 변이체 형태 (예를 들어, 별법적으로 스플라이싱된 형태), 및 천연-발생 대립유전자 변이체를 명확하게 포함한다. FGF21 폴리펩티드는 FGF21의 프로세싱되지 않은 형태 및 프로세싱된 형태 양쪽 모두, 예를 들어, 서열 4에 의해 및 도 2에서 제공되는 바와 같은 프리-인간 FGF21 폴리펩티드의 209-아미노산 서열을 또한 명확하게 포함한다.

[0119] 용어 "FGF 폴리펩티드" 및 "FGF 단백질"은, 본원에서 사용되는 경우, FGF 패밀리의 구성원, 예컨대 인간 FGF1, FGF2, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, FGF10, FGF11, FGF12, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, 및 이의 포유동물 상동체의 천연 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 소정의 FGF 폴리펩티드의 천연 서열은 자연으로부터 단리될 수 있거나, 또는 재조합 및/또는 합성 수단에 의해 생산될 수 있다. 소정의 FGF의 천연 서열은 FGF의 천연-발생 말단절단 또는 분비 형태, 천연-발생 변이체 형태 (예를 들어, 별법적으로 스플라이싱된 형태), 천연-발생 대립유전자 변이체, 및 프로세싱되지 않은 형태 및 프로세싱된 형태 양쪽 모두를 명확하게 포함한다.

[0120] 용어 "키메라 폴리펩티드" 및 "키메라 단백질"은, 본원에서 사용되는 경우, 제1 폴리펩티드 서열의 전장 서열의 적어도 일부분 및 제2 폴리펩티드 서열의 전장 서열의 적어도 일부분을 포함하는 서열을 지니고, 이때 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드가 상이한 폴리펩티드인 폴리펩티드를 포함한다. 키메라 폴리펩티드는 동일한 폴리펩티드로부터 유래된 2개 이상의 비-연속 부분을 포함하는 폴리펩티드를 또한 포함한다. 키메라 폴리펩티드는 하나 이상의 치환을 가지며, 이때 키메라 폴리펩티드가 제1 폴리펩티드 서열의 일부분이 제2 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환된 제1 폴리펩티드 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드를 또한 포함한다.

[0121] 용어 "일부분"은, 소정의 폴리펩티드 서열에 관하여 본원에서 사용되는 경우, 소정의 폴리펩티드의 전장 서열보다 짧은, 소정의 폴리펩티드의 서열의 연속적인 길이를 지칭한다. 소정의 폴리펩티드의 일부분은 이의 제1 위

치 및 이의 최종 위치에 의해 정의될 수 있고, 이때 제1 위치 및 최종 위치 각각은 소정의 폴리펩티드의 서열 내의 위치에 상응하고, 제1 위치에 상응하는 서열 위치가 최종 위치에 상응하는 서열 위치에 대해 N-말단에 위치함으로써, 일부분의 서열은 제1 위치에 상응하는 서열 위치에서 시작하여 최종 위치에 상응하는 서열 위치에서 끝나는, 소정의 폴리펩티드 내의 아미노산들의 연속적인 서열이다. 일부분은 소정의 폴리펩티드 서열 내의 위치에 대한 언급 및 언급된 위치에 관련된 잔기들의 길이에 의해 또한 정의될 수 있고, 이에 의해 일부분의 서열은 정의된 길이를 지니고 정의된 위치와 관련하여 소정의 폴리펩티드 내에 위치하는, 소정의 폴리펩티드 내의 아미노산들의 연속적인 서열이다.

[0122] 소정의 폴리펩티드 서열의 "N-말단 부분"이라는 용어는 소정의 폴리펩티드 서열의 N-말단 잔기에서 또는 N-말단 잔기 근처에서 시작하는 소정의 폴리펩티드 서열의 연속적인 길이이다. 소정의 폴리펩티드의 N-말단 부분은 길이에 의해 정의될 수 있다. 유사하게, 소정의 폴리펩티드 서열의 "C-말단 부분"이라는 용어는 소정의 폴리펩티드 서열의 C-말단 잔기에서 또는 C-말단 잔기 근처에서 끝나는 소정의 폴리펩티드 서열의 연속적인 길이이다. 소정의 폴리펩티드의 C-말단 부분은 길이에 의해 정의될 수 있다.

[0123] 용어 "키메라 FGF 폴리펩티드" 및 "키메라 FGF 단백질"은, 본원에서 사용되는 경우, 적어도 제1 FGF 폴리펩티드 서열의 일부분 및 제2 FGF 폴리펩티드 서열의 일부분을 포함하는 서열을 지니고, 이때 제1 FGF 폴리펩티드 및 제2 FGF 폴리펩티드가 서로 상이한 것인 폴리펩티드를 포함한다. 키메라 FGF 폴리펩티드는 동일한 FGF 폴리펩티드로부터 유래된 2개 이상의 비-연속 부분을 포함하는 폴리펩티드를 또한 포함한다. 키메라 FGF 폴리펩티드는 하나 이상의 치환을 가지며, 이때 키메라 FGF 폴리펩티드가 제1 FGF 폴리펩티드 서열의 일부분이 제2 FGF 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환된 제1 FGF 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리펩티드를 또한 포함한다.

[0124] 용어 "키메라 FGF19 폴리펩티드" 및 "키메라 FGF19 단백질"은, 본원에서 사용되는 경우, 적어도 FGF19 폴리펩티드 서열의 일부분 및 제2 폴리펩티드 서열의 일부분을 포함하는 서열을 갖는 키메라 FGF 폴리펩티드를 포함한다. 예를 들어, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 제2 폴리펩티드 서열이 FGF21 폴리펩티드 서열인 폴리펩티드를 포함한다.

[0125] 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGF19 폴리펩티드 서열로부터 유래된 2개 이상의 비-연속 부분을 포함하는 폴리펩티드를 또한 포함한다. 키메라 FGF19 폴리펩티드는 하나 이상의 치환을 가지며, 이때 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열이 FGF19 폴리펩티드 서열의 일부분이 제2 폴리펩티드 서열의 일부분으로 치환된 FGF19 폴리펩티드 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드를 또한 포함한다. 이같은 경우에, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 치환 부분이 FGF21 폴리펩티드 서열의 일부분인 폴리펩티드를 명확하게 포함한다.

[0126] 키메라 FGF19 폴리펩티드는 FGF19 폴리펩티드 서열 또는 제2 폴리펩티드 서열, 예컨대 FGF21 폴리펩티드 서열로부터 유래된 부분들만으로 이루어진 서열을 갖는 폴리펩티드를 또한 포함한다. 달리 언급되지 않는 한, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 키메라 FGF19 폴리펩티드 서열 내의 임의의 기타 서열 부분에 관련된 FGF19 폴리펩티드 서열의 각각의 순서 또는 위치에 한정되지 않거나, 또는 달리 지시되지 않는 한 이러한 순서 또는 위치를 암시하지 않는다.

[0127] 본원에서 확인된 소정의 폴리펩티드 서열에 관한 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 서열들을 정렬하고, 필요하다면 갭(gap)을 도입하여, 최대 %의 서열 동일성을 달성한 후의 기준 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로 정의되고, 이때 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부로 간주되지 않는다. % 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 목적의 정렬은 당업계의 기술에 속하는 다양한 방식으로, 예를 들어, 공개적으로 입수가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대의 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적합한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0128] 본원에서의 목적을 위해, 소정의 아미노산 서열 A의 소정의 아미노산 서열 B에 대한, B와의 또는 B와 대조된 % 아미노산 서열 동일성 (소정의 아미노산 서열 B에 대한, B와의 또는 B와 대조된 특정 % 아미노산 서열 동일성을 지니는 또는 포함하는 소정의 아미노산 서열 A로 별법적으로 표현될 수 있음)은 하기와 같이 계산된다: $100 \times \frac{\text{분수 } X/Y}{\text{식중, } X\text{는 소정의 서열 정렬 프로그램에 의해 이러한 프로그램의 A와 B의 정렬에서 동일한 매치로 채점된 아미노산 잔기의 개수이고, } Y\text{는 B 내의 아미노산 잔기의 총 개수이다}}.$ 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이 A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임이 이해될 것이다.

- [0129] 본원에서 확인된 폴리펩티드-코딩 핵산 서열에 관한 "퍼센트 (%) 핵산 서열 동일성"은 서열들을 정렬하고, 필요하다면 캡을 도입하여, 최대 %의 서열 동일성을 달성한 후의 폴리펩티드-코딩 핵산 서열 내의 뉴클레오티드와 동일한 후보 서열 내의 뉴클레오티드의 백분율로 정의된다. % 핵산 서열 동일성을 결정하기 위한 목적의 정렬은 당업계의 기술에 속하는 다양한 방식으로, 예를 들어, 공개적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성할 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전체 길이에 걸쳐 최대의 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적합한 파라미터를 결정할 수 있다.
- [0130] 본원에서의 목적을 위해, 소정의 핵산 서열 C의 소정의 핵산 서열 D에 대한, D와의 또는 D와 대조된 % 핵산 서열 동일성 (소정의 핵산 서열 D에 대한, D와의 또는 D와 대조된 특정 % 핵산 서열 동일성을 지니는 또는 포함하는 소정의 핵산 서열 C로 별법적으로 표현될 수 있음)은 하기와 같이 계산된다: $100 \times \text{분수 } W/Z$ [식중, W는 소정의 서열 정렬 프로그램에 의해 이러한 프로그램의 C와 D의 정렬에서 동일한 매치로 점수가 매겨진 뉴클레오티드의 개수이고, Z는 D 내의 뉴클레오티드의 총 개수이다]. 핵산 서열 C의 길이가 핵산 서열 D의 길이와 동일하지 않은 경우, D에 대한 C의 % 핵산 서열 동일성이 C에 대한 D의 % 핵산 서열 동일성과 동일하지 않을 것임이 이해될 것이다.
- [0131] "단리된"은, 본원에 개시된 다양한 폴리펩티드를 기재하도록 사용되는 경우, 이의 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 폴리펩티드를 의미한다. 바람직하게는, 단리된 폴리펩티드는 자신이 선천적으로 회합되는 모든 성분과의 회합에서 벗어나 있다. 이의 천연 환경의 오염 성분은 폴리펩티드에 대한 진단 또는 치료 용도를 전형적으로 방해할 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 폴리펩티드는 (1) 스피닝 컵 서열분석기의 사용에 의해 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기 15개 이상을 수득하는데 충분한 정도로, 또는 (2) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 이용하는 환원 또는 비-환원 조건 하에서의 SDS-PAGE에 의한 균질성이 있도록 정제될 것이다. 단리된 폴리펩티드에는 재조합 세포 내의 원위치 폴리펩티드가 포함되는데, 이는 폴리펩티드의 천연 환경의 1가지 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 폴리펩티드는 1회 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0132] 폴리펩티드를 코딩하는 "단리된" 핵산 문자는 폴리펩티드-코딩 핵산의 천연 공급원에서 통상적으로 회합되는 1가지 이상의 오염 핵산 문자로부터 확인 및 분리된 핵산 문자이다. 바람직하게는, 단리된 핵산은 자신이 선천적으로 회합되는 모든 성분과의 회합에서 벗어나 있다. 단리된 폴리펩티드-코딩 핵산 문자는 천연에서 발견되는 형태 또는 환경 이외의 것이다. 따라서, 단리된 핵산 문자는 천연 세포 내에 존재하는 폴리펩티드-코딩 핵산 문자와 구별된다. 그러나, 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산 문자는, 예를 들어, 핵산 문자가 천연 세포의 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에 있는 경우, 폴리펩티드를 통상적으로 발현하는 세포 내에 함유된 폴리펩티드-코딩 핵산 문자를 포함한다.
- [0133] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체 내에서 작동 가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 원핵생물에 적절한 제어 서열에는, 예를 들어, 프로모터, 임의적으로는 오퍼레이터(operator) 서열, 및 리보솜 결합 부위가 포함된다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 및 인핸서를 이용하는 것으로 공지되어 있다.
- [0134] 핵산은 또 다른 핵산 서열과 기능적인 관계에 놓일 때 "작동 가능하게 연결"된다. 예를 들어, 프리-서열 (presequence) 또는 분비 리더(leader)에 대한 DNA가 폴리펩티드의 분비에 참여하는 프리-단백질(preprotein)로서 발현되는 경우에 상기 DNA가 상기 폴리펩티드에 대한 DNA에 작동 가능하게 연결된 것이거나; 프로모터 또는 인핸서가 코딩 서열의 전사에 영향을 끼치는 경우에 프로모터 또는 인핸서가 상기 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이거나; 또는 리보솜 결합 부위가 번역을 용이하게 하도록 놓이는 경우에 리보솜 결합 부위가 코딩 서열에 작동 가능하게 연결된 것이다. 일반적으로, "작동 가능하게 연결된"은 연결되는 DNA 서열들이 연속적임을 의미하고, 분비 리더의 경우에는 연속적이고 판독 상 내에 있다는 것을 의미한다. 그러나, 인핸서는 연속적일 필요가 없다. 연결은 편리한 제한 부위에서 결찰에 의해 달성된다. 이같은 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오티드 어댑터 또는 링커가 통상적인 관례에 따라 사용된다.
- [0135] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 예를 들어, 단일 모노클로날 항체 (효능제, 길항제 및 중화 항체 포함), 폴리에피토프 특이성이 있는 항체 조성물, 단체 항체, 및 항체 단편 (하기 참조)을 명확하게 포함한다. 용어 "모노클로날 항체"는, 본원에서 사용되는 경우, 실질적으로 균질한 항체들의 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉, 집단을 이루는 개별적인 항체들은 미량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 발생 돌연변이를 제외하

고는 동일하다.

[0136]

표적 분자 또는 동족 수용체에 대한 폴리펩티드, 항체, 올리고펩티드 또는 기타 유기 분자의 결합과 관련하여, 특정 폴리펩티드 또는 특정 폴리펩티드 표적 또는 동족 수용체 상의 에피토프에 대한 "특이적 결합" 또는 이에 "특이적으로 결합한다" 또는 이에 대해 "특이적이다"라는 용어는 비-특이적 상호작용과 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은, 예를 들어, 분자의 결합을 대조군 분자(일반적으로, 결합 활성이 없는 유사한 구조의 분자)의 결합과 비교하여 결정함으로써 측정될 수 있다. 예를 들어, 표적과 유사한 대조군 분자, 예를 들어, 과량의 표지되지 않은 표적과의 경쟁에 의해 특이적 결합이 결정될 수 있다. 이러한 경우에, 프로브에 대한 표지된 표적의 결합이 과량의 표지되지 않은 표적에 의해 경쟁적으로 억제된다면 특이적 결합이 지시된다. 특정 폴리펩티드 또는 특정 폴리펩티드 표적 또는 동족 수용체 상의 에피토프에 대한 "특이적 결합" 또는 이에 "특이적으로 결합한다" 또는 이에 대해 "특이적이다"라는 용어는, 본원에서 사용되는 경우에, 예를 들어, 표적에 대한 K_d 가 적어도 약 10^{-4} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-5} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-6} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-7} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-8} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-9} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-10} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-11} M, 별법적으로 적어도 약 10^{-12} M이거나, 또는 이를 초과하는 분자에 의해 표시될 수 있다. 한 실시양태에서, 용어 "특이적 결합"은 분자가 임의의 다른 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 에피토프 또는 수용체에 실질적으로 결합하지 않으면서 특정 폴리펩티드 또는 특정 폴리펩티드 표적 또는 동족 수용체 상의 에피토프에 결합하는 경우의 결합을 지칭한다.

[0137]

혼성화 반응의 "엄격성"은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있고, 일반적으로 프로브 길이, 세척 온도, 및 염 농도에 좌우되는 실험적인 계산값이다. 일반적으로, 프로브가 길수록 올바른 어닐링(annealing)을 위해 더 높은 온도가 필요하고, 프로브가 짧을수록 더 낮은 온도가 필요하다. 혼성화는 상보적인 가닥들이 이들의 용융 온도 미만의 환경에 존재할 때 변성 DNA가 다시 어닐링하는 능력에 일반적으로 좌우된다. 프로브와 혼성화 가능한 서열 간의 원하는 상동성 정도가 높을수록, 사용될 수 있는 상대적인 온도가 더 높다. 결과적으로, 상대적인 온도가 높을수록 반응 조건을 더욱 엄격하게 만드는 경향이 있는 반면, 온도가 낮을수록 덜 엄격하게 만드는 경향이 있게 된다. 혼성화 반응의 엄격성의 추가적인 상세사항 및 설명에 대해서, 문헌 [Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)]을 참조한다.

[0138]

본원에서 정의된 바와 같은 "엄격한 조건" 또는 "고도의 엄격성 조건"은 (1) 세척을 위해 낮은 이온 강도 및 높은 온도를 사용하는 것, 예를 들어, 50°C에서 0.015 M 염화나트륨/0.0015 M 시트르산나트륨/0.1% 나트륨 도데실 슬레이트를 사용하는 것; (2) 혼성화 동안 변성제, 예컨대 포름아미드를 사용하는 것, 예를 들어, 42°C에서 50% (v/v) 포름아미드 + 0.1% 소 혈청 알부민/0.1% 피콜(Ficoll)/0.1% 폴리비닐피롤리돈/50 mM 인산나트륨 완충제 (pH 6.5) + 750 mM 염화나트륨, 75 mM 시트르산나트륨을 사용하는 것; 또는 (3) 42°C에서 50% 포름아미드, 5×SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5×덴하르트 용액, 초음파처리된 연어 정액 DNA (50 µg/ml), 0.1% SDS, 및 10% 텍스트란 슬레이트를 사용하고, 42°C의 0.2×SSC (염화나트륨/시트르산나트륨) 및 55°C의 50% 포름아미드에서 세척한 후, 55°C에서의 EDTA를 함유하는 0.1×SSC로 이루어진 고-엄격성 세척에 의해 식별될 수 있다.

[0139]

"중등도로 엄격한 조건"은 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989]에 기재된 바와 같이 식별될 수 있고, 상기 기재된 것들보다 덜 엄격한 세척 용액 및 혼성화 조건 (예를 들어, 온도, 이온 강도 및 % SDS)의 사용을 포함한다. 중등도로 엄격한 조건의 예는 20% 포름아미드, 5×SSC (150 mM NaCl, 15 mM 시트르산나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 7.6), 5×덴하르트 용액, 10% 텍스트란 슬레이트, 및 20 mg/ml의 변성된 전단 연어 정자 DNA를 포함하는 용액에서 37°C에서 밤새 인큐베이션한 후, 필터를 약 37-50°C의 1×SSC에서 세척하는 것이다. 프로브 길이 등과 같은 인자에 맞추기 위해 필요하다면, 당업자는 온도, 이온 강도 등을 조정하는 방법을 인지할 것이다.

[0140]

용어 "에피토프 태그(tag)"가 부착된"은, 본원에서 사용되는 경우에, "태그 폴리펩티드"에 융합된 폴리펩티드를 지칭한다. 태그 폴리펩티드는 에피토프에 대해 항체가 만들어질 수 있는 에피토프를 제공하기에 충분한 잔기를 지니지만, 자신이 융합된 폴리펩티드의 활성을 방해하지 않도록 충분히 짧다. 또한 바람직하게는 태그 폴리펩티드는 항체가 다른 에피토프와 실질적으로 교차 반응하지 않도록 상당히 독특하다. 적절한 태그 폴리펩티드에는 6개 이상의 아미노산 잔기, 일반적으로 약 8개 내지 50개의 아미노산 잔기 (바람직하게는, 약 10개 내지 20개의 아미노산 잔기)가 있다.

[0141]

본원에서 사용된 경우에, 용어 "이뮤노어드헤신"은 이종성 단백질 ("어드헤신")의 결합 특이성이 이뮤노글로불

런 불변 도메인의 이펙터 기능과 조합된 항체-유사 분자를 의미한다. 구조적으로, 이뮤노어드헤신은 항체의 항원 인식 및 결합 부위가 아닌 (즉, "이종성"인) 원하는 결합 특이성이 있는 아미노산 서열과 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열의 융합물을 포함한다. 전형적으로 이뮤노어드헤신 분자의 어드헤신 부분은 적어도 수용체 또는 리간드의 결합 부위를 포함하는 연속적인 아미노산 서열이다. 이뮤노어드헤신 내의 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열은 임의의 이뮤노글로불린, 예컨대 IgG-1, IgG-2, IgG-3, 또는 IgG-4 서브타입, IgA (IgA-1 및 IgA-2 포함), IgE, IgD 또는 IgM으로부터 수득될 수 있다.

[0142] 본원에서의 목적을 위한 "활성인" 또는 "활성"은 천연 또는 천연-발생 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드, 특히 천연 또는 천연-발생 hFGF19 폴리펩티드 및/또는 hFGF21 폴리펩티드의 하나 이상의 생물학적 및/또는 면역학적 활성을 유지하는 키메라 FGF19 폴리펩티드를 지칭한다. "생물학적" 활성은 천연 또는 천연-발생 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드가 보유하는 항원성 에피토프에 대한 항체의 생산을 유도하는 능력을 제외한, 천연 또는 천연-발생 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드에 의해 야기되는 생물학적 기능 (억제성, 자극성 또는 협동성)을 지칭한다. "생물학적" 활성은 천연 또는 천연-발생 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드의 세포성 또는 생화학적 기능, 예컨대 이의 각각의 동족 수용체들 중 하나 이상에 결합하는 능력을 또한 지칭할 수 있다. "면역학적" 활성은 천연 또는 천연-발생 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드가 보유하는 항원성 에피토프에 대한 항체의 생산을 유도하는 능력을 지칭한다. 바람직한 생물학적 활성에는 하기의 예시적인 활성들 중 임의의 하나 이상이 포함된다: 개체에서 대사 (또는 대사율)을 증가시킴, 개체의 체중을 감소시킴, 개체에서 지방증을 감소시킴, 지방세포 내로의 글루코스 흡수를 감소시킴, 지방세포로부터의 렙틴 방출을 증가시킴, 개체 내의 트리글리세리드를 감소시킴, 개체 내의 유리 지방산을 감소시킴, 동족 FGF 수용체에 대한 클로토-베타 의존적 결합, 동족 FGF 수용체에 대한 클로토-베타 비의존적 결합. FGF19 및/또는 FGF21 폴리펩티드의 활성들 중 일부는 폴리펩티드에 의해 유도되고, 일부는 간접적으로 유도되지만, 각각은 FGF19 및/또는 FGF21 폴리펩티드가 존재하는 것의 결과이고, 폴리펩티드의 부재 하에서 달리 이러한 결과가 없을 것임이 이해된다.

[0143] 용어 "길항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 본원에 개시된 천연 또는 키메라 폴리펩티드의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단하거나, 억제하거나 또는 중화시키는 임의의 분자를 포함한다. 유사한 방식으로, 용어 "효능제"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 본원에 개시된 천연 또는 키메라 폴리펩티드의 생물학적 활성을 모방하는 임의의 분자를 포함한다. 적절한 효능제 또는 길항체 분자에는 효능제 또는 길항체 항체 또는 항체 단편, 천연 폴리펩티드의 단편 또는 아미노산 서열 변이체, 웨프티드, 소형 유기 분자 등이 명확하게 포함된다. 폴리펩티드의 효능제 또는 길항체를 확인하는 방법은 폴리펩티드를 후보 효능제 또는 길항체 분자와 접촉시키는 단계, 및 폴리펩티드와 정상적으로 관련되는 하나 이상의 생물학적 활성에서 검출가능한 변화를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0144] 본원에서 사용되는 경우, "치료" 또는 "치료하는"은 임상 결과를 포함하는 이롭거나 원하는 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적을 위해, 이롭거나 원하는 임상 결과에는 하기의 것들 중 하나 이상이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다: 질환으로부터 초래되는 하나 이상의 증상을 감소시키는 것, 질환 정도를 축소시키는 것, 질환을 안정화시키는 것 (예를 들어, 질환 악화를 방지하거나 지연시키는 것), 질환 진행을 지연시키거나 느리게 하는 것, 질환 상태를 완화시키는 것, 질환을 치료하는데 요구되는 하나 이상의 기타 의약의 용량을 감소시키는 것, 및/또는 삶의 질을 증가시키는 것.

[0145] 본원에서 사용되는 경우, 진행을 "지연"시키는 것은 질환의 발달을 늦추고/늦추거나, 방해하고/하거나, 느리게 하고/하거나, 지체시키고/시키거나, 안정화시키고/시키거나 연기시키는 것을 의미한다. 이러한 지연은 치료되는 개체 및/또는 질환의 병력에 따라 시간 길이가 다양할 수 있다.

[0146] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 치료 방법은 질환의 하나 이상의 증상을 완화시킨다 (예를 들어, 이의 발생을 감소시키거나, 이의 기간을 감소시키거나, 이의 중증도를 감소시키거나 축소시킨다).

[0147] "증상"은 환자가 경험하는, 구조, 기능 또는 감각에서의 임의의 병적인 현상 또는 정상으로부터의 이탈이다.

[0148] 본원에 개시된 바와 같은 폴리펩티드, 항체, 효능제, 또는 길항체의 "유효량"은 구체적으로 언급된 목적을 수행하는데 충분한 양이다. "유효량"은, 언급된 목적과 관련되어, 경험적으로, 그리고 일상적인 방식으로 결정될 수 있다.

[0149] 용어 "치료 유효량"은 개체 또는 포유동물에서 질환 또는 장애를 "치료"하는데 효과적인 항체, 폴리펩티드 또는 기타 약물의 양을 지칭한다. "치료"의 본원에서의 정의를 참조한다.

- [0150] "만성" 투여는 장기간 동안 초기의 치료 효과 (활성)가 유지되도록, 급성 방식과 대조적으로 연속적인 방식으로 작용제(들)을 투여하는 것을 지칭한다. "간헐적" 투여는 중단 없이 연속적으로 수행되는 것이 아니라 사실상 주기적인 치료이다.
- [0151] 치료 목적을 위한 "포유동물"은 인간, 가축 및 농장 동물, 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예컨대 개, 고양이, 소, 말, 양, 돼지, 염소, 토끼 등을 포함하는, 포유동물로 분류되는 임의의 동물을 지칭한다. 바람직하게는, 포유동물은 인간이다.
- [0152] "개체"는 임의의 포유동물, 바람직하게는 인간이다.
- [0153] "비만"은 포유동물의 체질량 지수 (BMI) (체중 (kg)/키² (미터)로 계산됨)가 25.9 이상인 상태를 지칭한다. 통상적으로, 체중이 정상인 사람의 BMI는 19.9 내지 25.9 미만이다. 본원에서의 비만은 유전적이든 또는 환경적이든 임의의 원인에 기인할 수 있다. 비만을 초래할 수 있거나 비만의 원인일 수 있는 장애의 예로는 과식 및 폭식증, 다낭성 난소 질환, 두개인두종, 프래더-윌리(Prader-Willi) 증후군, 프롤리히(Frohlich) 증후군, 제II형 당뇨병, GH-결핍 개체, 정상 변이 저신장증, 터너 증후군, 및 감소된 대사 활성 또는 전체 무지방 체중의 백분율로서의 휴식중 에너지 소비에서의 감소를 나타내는 기타 병리학적 상태, 예를 들어, 급성 램프모구성 백혈병에 걸린 아동이 포함된다.
- [0154] "비만과 관련된 상태"는 피부과 장애 예컨대 감염, 정맥류성 정맥, 흑색 가시세포증 및 습진, 운동 불내성, 당뇨병, 인슐린 저항성, 고혈압, 고콜레스테롤혈증, 담석증, 골관절염, 정형외과적 상해, 혈전색전성 질환, 암, 및 관상동맥 (또는 심혈관) 심질환, 특히 개체 내의 높은 트리글리세리드 및 유리 지방산과 관련되는 심혈관 상태와 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 비만의 결과이거나 비만에 의해 악화되는 상태를 지칭한다.
- [0155] 하나 이상의 추가적인 치료제와 "조합하여" 또는 "함께" 투여하는 것은 동시, 공동, 연속적 및 순차적 투여 (임의 순서)를 포함한다.
- [0156] "담체"는, 본원에서 사용되는 경우, 사용된 투여량 및 농도에서 이에 노출되는 세포 또는 포유동물에 비독성인 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 포함한다. 종종, 생리학상 허용되는 담체는 수성 pH 완충 용액이다. 생리학상 허용되는 담체의 예로는 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 기타 유기 산; 아스코르브산을 비롯한 항산화제; 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노스 또는 덱스트란을 비롯한 단당류, 이당류, 및 기타 탄수화물; 칼레이트제 예컨대 EDTA; 당 알콜 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온 예컨대 나트륨; 및/또는 비이온성 계면 활성제 예컨대 트윈(TWEEN)TM, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 플루로닉스(PLURONICS)TM가 포함된다.
- [0157] 항체를 파파인으로 소화시키면, "Fab" 단편으로 칭해지는 2개의 동일한 항원-결합 단편, 및 나머지 "Fc" 단편 (이러한 명칭은 쉽게 결정화되는 능력을 반영한 것임)이 생산된다. Fab 단편은 전체 L 사슬 + H 사슬의 가변 영역 도메인 (V_H) 및 한 중쇄의 제1 불변 도메인 (C_{H1})으로 이루어진다. 각각의 Fab 단편은 항원 결합과 관련하여 1가이고, 즉 단일한 항원-결합 부위를 갖는다. 항체를 패스으로 처리하면 단일한 대형 $F(ab')_2$ 단편이 산출되는데, 이는 2가의 항원-결합 활성이 있는 디슬피드로 연결된 2개의 Fab 단편에 대략 상응하고, 여전히 항원과 교차-결합할 수 있다. Fab' 단편은, 항체 헌지 영역으로부터의 1개 이상의 시스테인을 포함하여 C_{H1} 도메인의 카르복시 말단에 추가적인 몇개의 잔기들을 갖는다는 점에서 Fab 단편과 다르다. Fab' -SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 기를 지니는 Fab' 에 대한 본원에서의 명칭이다. 본래 $F(ab')_2$ 항체 단편은 헌지 시스테인이 그 사이에 있는 Fab' 단편들의 쌍으로서 생산되었다. 항체 단편들의 기타 화학적 커플링 또한 공지되어 있다.
- [0158] "Fv"는 완전한 항원-인식 및 -결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이러한 영역은 단단하게 비-공유적으로 회합된 1개의 중쇄 가변 도메인과 1개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 이루어진다. 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR이 상호작용하여 VH-VL 이량체의 표면 상에 항원-결합 부위를 규정하는 것은 이러한 형상 내이다. 총괄적으로, 6개의 CDR이 항원-결합 특이성을 항체에 부여한다. 그러나, 단일 가변 도메인 (또는 항원에 대해 특이적인 3개의 CDR만 포함하는 Fv의 절반)도, 비록 전체 결합 부위보다는 낮은 친화력이지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.
- [0159] "Fc" 단편은 디슬피드에 의해 함께 유지되는 양쪽 H 사슬의 카르복시-말단 부분을 포함한다. 항체의 이펙터 기

능은 Fc 영역 내의 서열에 의해 결정되고, 또한 이러한 영역은 특정 세포 유형 상에서 발견되는 Fc 수용체 (FcR)에 의해 인식되는 부분이다.

- [0160] Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인 (CH1)을 또한 함유한다. Fab 단편은 항체 헌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카르복시 말단에서의 몇몇 잔기의 부가에 의해 Fab' 단편과 상이하다.
- [0161] 임의의 척추동물 종으로부터의 항체 (이뮤노글로불린)의 "경쇄"는 이의 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로, 카파 및 람다로 칭해지는 명백하게 상이한 2가지 유형 중의 하나로 할당될 수 있다.
- [0162] 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 이뮤노글로불린이 상이한 클래스로 할당될 수 있다. IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5가지 주요 이뮤노글로불린 클래스가 있고, 이를 중 몇몇은 서브클래스 (이소형), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다.
- [0163] "단쇄 Fv" 또는 "sFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 사슬 내에 존재하는 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 바람직하게는, Fv 폴리펩티드는 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 하는, VH 도메인과 VL 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. sFv의 리뷰를 위해, 문헌 [Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.
- [0164] 용어 "디아바디(diabody)"는 동일한 폴리펩티드 사슬 (VH-VL) 내의 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는, 2개의 항원-결합 부위가 있는 소형 항체 단편들을 지칭한다. 동일한 사슬 상의 두 도메인 간에 쌍을 형성하도록 하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인들이 또 다른 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루도록 강요되어, 2개의 항원-결합 부위가 생성된다. 디아바디는, 예를 들어, EP 특허 공보 0404097; PCT 국제 출원 공보 WO 93/11161; 및 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)]에 더 상세하게 기술되어 있다.
- [0165] "단리된" 항체는 이의 천연 환경의 성분으로부터 동정 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 이의 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해할 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법으로 측정시 95 중량%의 항체를 초과하는 정도, 가장 바람직하게는 99 중량%를 초과하는 정도로, (2) 스피닝 컵 서열분석기의 사용에 의해 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 잔기 15개 이상을 수득하는데 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 이용하는 환원 또는 비-환원 조건 하에서의 SDS-PAGE에 의한 균질성이 있도록 정제될 것이다. 단리된 항체에는 재조합 세포 내의 원위치 항체가 포함되는데, 이는 항체의 천연 환경의 1가지 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 1회 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0166] 용어 "표지"는, 본원에서 사용되는 경우, "표지된" 항체가 생성되도록 항체에 직접적으로 또는 간접적으로 접합되는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 표지는 자체가 검출가능할 수 있거나 (예를 들어, 방사성 동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소적 표지의 경우에는 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매할 수 있다.
- [0167] "고체 상"은 본 발명의 항체가 부착될 수 있는 비-수성 매트릭스를 의미한다. 본원에서 포함되는 고체 상의 예로는 유리 (예를 들어, 제어형 다공성 유리), 다행류 (예를 들어, 아가로스), 폴리아크릴아미드, 폴리스티렌, 폴리비닐 알콜 및 실리콘으로 부분적으로 또는 전적으로 형성된 것들이 포함된다. 특정 실시양태에서, 정황에 따라, 고체 상은 검정 플레이트의 웰을 포함할 수 있고, 또한 다르게는 정제 칼럼 (예를 들어, 친화성 크로마토그래피 칼럼)이다. 이 용어는 분리된 입자들의 불연속 고체 상, 예컨대 미국 특허 번호 4,275,149에 기재된 것들을 또한 포함한다.
- [0168] "리포솜"은 약물 (예컨대 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이에 대한 항체)을 포유동물에게 전달하는데 유용한, 다양한 유형의 지질, 인지질 및/또는 계면활성제로 구성된 소포이다. 리포솜의 성분은, 생물학적 막의 지질 배열과 유사하게, 통상적으로 2층 구조로 배열된다.
- [0169] 본원에서의 "약" 수치 또는 파라미터에 대한 언급은 이러한 수치 또는 파라미터 자체에 지시되는 변동을 포함한다 (그리고, 이를 기술한다). 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기재는 "X"에 대한 기재를 포함한다.
- [0170] 본원 및 첨부된 청구항에서 사용되는 경우, 단수형 형태는 정황상 명백하게 달리 지시되지 않는 한 복수 지시대

상을 포함한다. 본원에 기재된 본 발명의 측면들 및 변형물들은 측면들 및 변형물들로 "이루어지는 것" 및/또는 "본질적으로 이루어지는 것"을 포함하는 것으로 이해된다.

[0171] V. 키메라 FGF19 변이체

본원에 기재된 키메라 FGF19 폴리펩티드에 더하여, 키메라 FGF19 변이체 폴리펩티드 (또는 "키메라 FGF19 변이체")가 제조될 수 있는 것이 고려된다. 적합한 뉴클레오티드 변화를 키메라 또는 천연 FGF19 또는 FGF21 폴리펩티드를 코딩하는 DNA 내로 도입함으로써, 및/또는 원하는 키메라 FGF19 변이체의 합성에 의해 키메라 FGF19 변이체가 제조될 수 있다. 당업자는 아미노산 변화가 글리코실화 부위의 수 또는 위치를 변화시키는 것 또는 막 고정 특성을 변경시키는 것과 같이 키메라 FGF19 변이체의 번역후 프로세스를 변경시킬 수 있다는 것을 이해할 것이다.

본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 다양한 도메인에서의 변이는, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,364,934에 예를 들어 기재된 보존적 및 비-보존적 돌연변이에 대한 기술 및 가이드라인 중 임의의 것을 사용하여 이루어질 수 있다. 변이는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 아미노산 서열에서의 변화를 초래하는, 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다. 변이는 천연 FGF19 또는 FGF21 폴리펩티드로부터 유래된 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 하나 이상의 코돈과 관련될 수 있다. 임의적으로, 변이는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 도메인들 중 하나 이상에서 하나 이상의 아미노산이 임의의 다른 아미노산으로의 치환되는 것에 의한 것이다. 원하는 활성에 불리하게 영향을 미치지 않으면서 어느 아미노산 잔기가 삽입, 치환 또는 결실될 수 있는지를 결정하는 것에서의 지침은 키메라 FGF19 폴리펩티드의 서열을 공지된 상동성 단백질 분자의 서열과 비교하고, 상동성이 높은 영역에서 이루어지는 아미노산 서열 변화의 수를 최소화함으로써 확인될 수 있다. 아미노산 치환은 하나의 아미노산을 구조적 및/또는 화학적 성질이 유사한 또 다른 아미노산으로 교체하는 것, 예컨대 류신을 세린으로 교체하는 것, 즉 보존적 아미노산 교체의 결과일 수 있다. 삽입 또는 결실은 임의적으로 아미노산 약 1 내지 5개의 범위 내일 수 있다. 서열 내의 아미노산의 삽입, 결실 또는 치환을 체계적으로 만들고, 생성된 변이체를 전장 또는 성숙형 천연 서열이 나타내는 활성에 대해 테스트함으로써, 허용되는 변이를 결정할 수 있다.

[0174] 키메라 FGF19 폴리펩티드 단편 (또는 "키메라 FGF19 단편")이 본원에서 제공된다. 이같은 단편은, 예를 들어, 전장 천연 단백질과 비교했을 때, N-말단 또는 C-말단에서 말단절단될 수 있거나, 또는 내부 잔기를 결여할 수 있다. 특정 단편은 키메라 FGF19 폴리펩티드의 원하는 생물학적 활성에 필수적이지 않은 아미노산 잔기를 결여한다.

[0175] 키메라 FGF19 단편은 다수의 통상적인 방법 중 임의의 것을 사용하여 제조될 수 있다. 원하는 웨이트 단편을 화학적으로 합성할 수 있다. 별법적인 접근법은 효소에 의한 소화에 의해, 예를 들어, 특정 아미노산 잔기에 의해 규정되는 부위에서 단백질을 절단하는 것으로 공지된 효소로 단백질을 처리함으로써, 또는 DNA를 적절한 제한 효소로 절단하고 원하는 단편을 단리함으로써 키메라 FGF19 단편을 생성시키는 것을 수반한다. 또다른 적절한 기술은 폴리머라제 연쇄 반응 (PCR)에 의해 원하는 폴리펩티드 단편을 코딩하는 DNA 단편을 단리하고 증폭시키는 것을 수반한다. DNA 단편의 원하는 말단을 규정하는 올리고뉴클레오티드가 PCR에서 5' 및 3' 프라이머에서 사용된다. 바람직하게는, 키메라 FGF19 폴리펩티드 단편은 천연 FGF19 폴리펩티드 예컨대 도 1 (서열 1)에 제시된 hFGF19 폴리펩티드 또는 천연 FGF21 폴리펩티드 예컨대 도 2 (서열 2)에 제시된 hFGF21과 하나 이상의 생물학적 및/또는 면역학적 활성을 공유한다.

[0176] 특정 실시양태에서, 중요한 보존적 치환이 표 A에서 바람직한 치환이라는 표제 하에 제시된다. 이같은 치환이 생물학적 활성의 변화를 초래하면, 표 A에서 예시적 치환으로 명명된 또는 아미노산 클래스와 관련하여 하기로 추가로 기술되는 바와 같은 더욱 실질적인 변화가 도입되고, 생성물이 스크리닝된다.

[0177]

[표 A]

바람직한 아미노산 잔기 치환

본래의 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; 노르류신	leu
Leu (L)	노르류신; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; 노르류신	leu

[0178]

키메라 FGF19 폴리펩티드의 기능 또는 면역학적 신원에 있어서의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어 시트 또는 나선 형태와 같은, 치환 영역 내의 폴리펩티드 골격의 구조, (b) 표적 부위에서의 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 부피(bulk)를 유지하는 것에 대한 효과가 현저하게 상이한 치환을 선택함으로써 달성된다. 천연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 성질을 기초로 하기 군으로 분류될 수 있다:

[0179]

(1) 소수성: 노르류신, met, ala, val, leu, ile;

[0180]

(2) 중성 친수성: cys, ser, thr;

[0181]

(3) 산성: asp, glu;

[0182]

(4) 염기성: asn, gln, his, lys, arg;

[0183]

(5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: gly, pro; 및

[0184]

(6) 방향족: trp, tyr, phe.

[0185]

비-보존적 치환은 이러한 클래스들 중 하나의 구성원을 또 다른 클래스로 교환하는 것을 수반할 것이다. 이같은 치환된 잔기는 또한 보존적 치환 부위 내로, 또는 더욱 바람직하게는 나머지 (보존되지 않은) 부위 내로 도입될 수 있다.

[0186]

변이는 당업계에 공지된 방법 예컨대 올리고뉴클레오티드-매개 (부위-지정) 돌연변이유발, 알라닌 스캐닝, 및 PCR 돌연변이유발을 사용하여 이루어질 수 있다. 부위-지정 돌연변이유발 (문헌 [Carter et al., Nucl. Acids Res., 13:4331 (1986)]; [Zoller et al., Nucl. Acids Res., 10:6487 (1987)]), 카세트 돌연변이유발 (문헌 [Wells et al., Gene, 34:315 (1985)]), 제한 선별 돌연변이유발 (문헌 [Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317:415 (1986)]) 또는 기타 공지된 기술을 클로닝된 DNA 상에 수행하여, 키메라 FGF19 변이체 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 생산할 수 있다.

[0187]

또한 스캐닝 아미노산 분석을 사용하여, 연속된 서열을 따라 하나 이상의 아미노산을 확인할 수 있다. 바람직한 스캐닝 아미노산은 비교적 작은 중성 아미노산이다. 이같은 아미노산에는 알라닌, 글리신, 세린 및 시스테인이 포함된다. 베타-탄소 너머의 측쇄를 제거하고, 변이체의 주쇄 형태를 변경시킬 가능성이 더 적기 때문에,

전형적으로 알라닌이 이러한 군 중에서 바람직한 스캐닝 아미노산이다 (문헌 [Cunningham and Wells, *Science*, 244: 1081-1085 (1989)]). 알라닌은 또한 가장 통상적인 아미노산이기 때문에, 전형적으로 바람직하다. 추가로, 알라닌은 매립된 위치 및 노출된 위치 둘 모두에서 빈번하게 발견된다 (문헌 [Creighton, *The Proteins*, (W.H. Freeman & Co., N.Y.)]; [Chothia, *J. Mol. Biol.*, 150:1 (1976)]). 알라닌 치환으로 적당한 양의 변이체가 산출되지 않으면, 이소테릭(isoteric) 아미노산이 사용될 수 있다.

[0188] VI. 키메라 FGF19의 변형

키메라 FGF19 폴리펩티드의 공유 변형이 본 발명의 범주 내에 포함된다. 공유 변형의 한 유형은 키메라 FGF19 폴리펩티드의 표적화된 아미노산 잔기를 키메라 FGF19 폴리펩티드의 선택된 측쇄 또는 N- 또는 C-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 반응시키는 것을 포함한다. 이관능성 작용제로의 유도체화가, 예를 들어, 항체를 정제하기 위한 방법에서 사용하기 위한 수불용성 지지체 매트릭스 또는 표면에 키메라 FGF19 폴리펩티드를 가교시키는데 및 그 반대로 가교시키는데 유용하다. 통상적으로 사용되는 가교제에는, 예를 들어, 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-히드록시숙신이미드 에스테르, 예를 들어, 4-아지도살리실산과의 에스테르, 디숙신이미딜 에스테르 예컨대 3,3'-디티오비스(숙신이미딜프로파오네이트)가 포함되는 동종이 관능성 이미도에스테르, 이관능성 말레이미드 예컨대 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄, 및 메틸-3-[*p*-아지도페닐]디티오]프로파오이미데이트와 같은 작용제가 포함된다.

기타 변형에는 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기의 각각 상용하는 글루타밀 및 아스파르til 잔기로의 탈아미드화, 프롤린 및 리신의 히드록실화, 세릴 또는 트레오닐 잔기의 히드록실 기의 인산화, 리신, 아르기닌 및 히스티딘 측쇄의 α-아미노 기의 메틸화 (문헌 [T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)]), N-말단 아민의 아세틸화, 및 임의의 C-말단 카르복실 기의 아미드화가 포함된다.

본 발명의 범주 내에 포함되는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 또 다른 유형의 공유 변형은 폴리펩티드의 글리코실화 패턴을 변경시키는 것을 포함한다. "천연 글리코실화 패턴을 변경시키는 것"은 본원에서의 목적상 상용하는 천연 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드 서열에서 발견되는 하나 이상의 탄수화물 모이어티를 결실시키는 것 (근본적인 글리코실화 부위를 제거함으로써 또는 화학적 및/또는 효소적 수단에 의해 글리코실화를 결실시킴으로써), 및/또는 천연 FGF19 폴리펩티드 및/또는 FGF21 폴리펩티드 서열에 존재하지 않는 하나 이상의 글리코실화 부위를 부가하는 것을 의미하도록 의도된다. 또한, 이러한 구질은 존재하는 다양한 탄수화물 모이어티의 성질 및 비율에서의 변화를 수반하는, 천연 단백질의 글리코실화에서의 질적인 변화를 포함한다.

키메라 FGF19 폴리펩티드에 글리코실화 부위를 부가하는 것은 아미노산 서열을 변경시킴으로서 달성될 수 있다. 예를 들어, 키메라 FGF19 폴리펩티드로의 하나 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 이에 의한 치환에 의해 변경이 이루어질 수 있다 (0-연결된 글리코실화 부위의 경우). DNA 수준에서의 변화를 통해, 특히 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 원하는 아미노산으로 번역될 코돈이 생성되도록 미리 선택된 염기에서 돌연변이시킴으로써 키메라 FGF19 폴리펩티드 아미노산 서열이 임의적으로 변경될 수 있다.

키메라 FGF19 폴리펩티드 상의 탄수화물 모이어티의 수를 증가시키는 또 다른 수단은 글리코시드를 폴리펩티드에 화학적으로 또는 효소에 의해 커플링시키는 것에 의한 것이다. 이같은 방법이 당업계에, 예를 들어, WO 87/05330 (1987년 9월 11일 공개), 및 문헌 [Aplin and Wriston, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, pp. 259-306 (1981)]에 기재되어 있다.

키메라 FGF19 폴리펩티드 상에 존재하는 탄수화물 모이어티의 제거가 화학적으로 또는 효소에 의해, 또는 글리코실화에 대한 표적으로서의 역할을 하는 아미노산 잔기를 코딩하는 코돈의 돌연변이성 치환에 의해 달성될 수 있다. 화학적 탈글리코실화 기술은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌 [Hakimuddin, et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 259:52 (1987)] 및 [Edge et al., *Anal. Biochem.*, 118:131 (1981)]에 기재되어 있다. 폴리펩티드 상의 탄수화물 모이어티의 효소에 의한 절단은 문헌 [Thotakura et al., *Meth. Enzymol.*, 138:350 (1987)]에 기재된 바와 같이 다양한 엔도(endo)- 및 엑소(exo)-글리코시다제를 사용함으로써 달성할 수 있다.

키메라 FGF19 폴리펩티드의 또 다른 유형의 공유 변형은 미국 특허 번호 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 또는 4,179,337에 기재된 방식으로, 다양한 비-단백질성 중합체들 중 하나, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 또는 폴리옥시알킬렌에 키메라 FGF19 폴리펩티드를 연결시키는 것을 포함한다.

키메라 FGF19 폴리펩티드를 또 다른 이종성 폴리펩티드 또는 아미노산 서열에 융합시킴으로써 본 발명의 키메라

FGF19 폴리펩티드가 또한 변형될 수 있다.

[0197] 한 실시양태에서, 이같은 키메라 분자는 항-태그 항체가 선택적으로 결합할 수 있는 에피토프를 제공하는 태그 폴리펩티드와 키메라 FGF19 폴리펩티드의 융합물을 포함한다. 일반적으로 에피토프 태그는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 아미노- 또는 카르복실-말단에 놓인다. 이같은 에피토프 태그가 부착된 형태의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 존재는 태그 폴리펩티드에 대한 항체를 사용하여 검출할 수 있다. 또한, 에피토프 태그의 제공은 항-태그 항체 또는 에피토프 태그에 결합하는 또다른 유형의 친화성 매트릭스를 사용하여 친화성 정제에 의해 키메라 FGF19 폴리펩티드를 쉽게 정제할 수 있게 한다. 다양한 태그 폴리펩티드 및 이들의 각각의 항체가 당업계에 주지되어 있다. 예로는 폴리-히스티딘 (폴리-his) 또는 폴리-히스티딘-글리신 (폴리-his-gly) 태그; 인플루엔자 HA 태그 폴리펩티드 및 이의 항체 12CA5 (문헌 [Field et al., Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165 (1988)]); c-myc 태그 및 이에 대한 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 및 9E10 항체 (문헌 [Evan et al., Molecular and Cellular Biology, 5:3610-3616 (1985)]); 및 단순 포진 바이러스 당단백질 D (gD) 태그 및 이의 항체 (문헌 [Paborovsky et al., Protein Engineering, 3(6):547-553 (1990)])가 포함된다. 기타 태그 폴리펩티드에는 플래그(Flag)-펩티드 (문헌 [Hopp et al., BioTechnology, 6: 1204-1210 (1988)]); KT3 에피토프 웨이퍼 (문헌 [Martin et al., Science, 255:192-194 (1992)]); α-튜불린 에피토프 웨이퍼 (문헌 [Skinner et al., J. Biol. Chem., 266:15163-15166 (1991)]); 및 T7 유전자 10 단백질 웨이퍼 태그 (문헌 [Lutz-Freyermuth et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6393-6397 (1990)])가 포함된다.

[0198] 별법적인 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 키메라 FGF19 폴리펩티드와 이뮤노글로불린 또는 이뮤노글로불린의 특정 영역의 융합물을 포함할 수 있다. 2가 형태의 키메라 분자 ("이뮤노어드헤신"으로 또한 지칭됨)에 대해서, 이같은 융합물은 이뮤노글로불린의 Fc 부분, 이뮤노글로불린의 Fc 부분의 유사체, 및 이뮤노글로불린의 Fc 부분의 하나 이상의 단편에 대한 것일 수 있다. 일부 실시양태에서, 이뮤노글로불린은 IgG-1, IgG-2, IgG-3, IgG-4, IgA-1, IgA-2, IgE, IgD 및 IgM으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, Fc 부분은 인간의 Fc 부분 또는 인간화된 Fc 부분이다.

[0199] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 C-말단 및 Fc 부분의 N-말단이 융합된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 N-말단 및 Fc 부분의 C-말단이 융합된다. 일부 실시양태에서, 이뮤노글로불린 융합물은 IgG1 분자의 헌지, CH2 및 CH3, 또는 헌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 이뮤노글로불린 융합물의 생산을 위해, 미국 특히 번호 5,428,130 (1995년 6월 27일 등록)을 참조한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 C-말단은 링커를 통해 Fc 부분의 N-말단에 융합되고, 링커는 $[Gly]_n$ 링커, $[Gly_3Ser]_m$ 링커 및 $[Gly_4Ser]_m$ 링커 [식중, n은 1-30의 정수이고, m은 1-6의 정수이다]로 이루어진 군으로부터 선택된다.

VII. 키메라 FGF19 폴리펩티드의 용도 및 이를 사용하는 방법

[0201] 본원에 기재된 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 이의 조정제는 치료제로서 또한 사용될 수 있다. 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 이의 조정제가 제약상 유용한 조성물을 제조하기 위한 공지된 방법에 따라 제제화될 수 있고, 이에 의해 본원의 키메라 FGF19 폴리펩티드가 제약상 허용되는 담체 비히클과 혼합되어 합해진다. 원하는 정도의 순도를 지니는 활성 성분을 임의적인 생리학상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제 (문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)])와 혼합함으로써 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 치료 제제가 보관용으로 제조된다. 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 기타 유기산; 아스코르브산을 비롯한 항산화제; 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈, 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 비롯한 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; 칼레이트제 예컨대 EDTA; 당 알콜 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온 예컨대 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제 예컨대 트윈™, 폴루로닉스™ 또는 PEG가 이에 포함된다.

[0202] 생체내 투여에 사용될 제제는 멸균성이어야 한다. 이는 동결건조 및 재구성 전 또는 후의 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0203] 일반적으로 본원에서의 치료 조성물은 멸균 접근 포트가 있는 용기, 예를 들어, 피하 주사 바늘이 관통가능한 마개가 있는 정맥내 용액 백 또는 바이알 내에 놓인다.

[0204] 투여 경로는 공지된 방법을 따르고, 예를 들어, 정맥내, 복강내, 뇌내, 근육내, 안내, 동맥내 또는 병변내 경로에 의한 주사 또는 주입, 국소 투여, 또는 지속 방출 시스템에 의한 것이다.

- [0205] 본 발명의 제약 조성물의 투여량 및 원하는 약물 농도는 구상되는 특정 용도에 따라 변할 수 있다. 적합한 투여량 및 투여 경로의 결정은 충분히 당업자의 기술 내에 속한다. 동물 실험은 인간 치료법에 대한 유효 용량 결정을 위한 신뢰할 수 있는 지침을 제공한다. 종 간의 유효 용량 증감은 문헌 [Mordenti, J. and Chappell, W. "The use of interspecies scaling in toxicokinetics", Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds., Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-96]에 규정된 원리에 따라 수행될 수 있다.
- [0206] 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 효능체 또는 길항제의 생체내 투여가 사용되는 경우, 표준 투여량은, 투여 경로에 따라, 약 10 ng/포유동물 체중 kg/일 내지 100 mg/포유동물 체중 kg/일 또는 그 이상, 바람직하게는 약 1 µg/kg/일 내지 10 mg/kg/일로 달라질 수 있다. 특정 투여량 및 전달 방법에 대한 지침이 문헌에서 제공된다; 예를 들어, 미국 특허 번호 4,657,760; 5,206,344; 또는 5,225,212 참조. 상이한 제제가 상이한 치료 화합물 및 상이한 장애에 대해 효과적일 것이고, 예를 들어 한 기관 또는 조직을 표적으로 하는 투여는 또 다른 기관 또는 조직에 대한 것과 상이한 방식으로의 전달을 필요로 할 것으로 예상된다.
- [0207] 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 조정제의 지속 방출 투여가 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 조정제의 투여를 필요로 하는 임의의 질환 또는 장애의 치료에 적절한 방출 특성이 있는 제제에서 요망되는 경우, 마이크로캡슐화가 구상된다. 지속 방출을 위한 재조합 단백질의 마이크로캡슐화가 인간 성장 호르몬 (rhGH), 인터페론- (rhIFN-), 인터류킨-2, 및 MN rgp120으로 성공적으로 수행되었다. 문헌 [Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996)]; [Yasuda, Biomed. Ther., 27:1221-1223 (1993)]; [Hora et al., Bio/Technology 8:755-758 (1990)]; [Cleland, "Design and Production of Single Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems", Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach, Powell and Newman, eds., (Plenum Press: New York, 1995), pp. 439-462]; WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; 및 미국 특허 번호 5,654,010.
- [0208] 폴리-락티-코글리콜산 (PLGA) 중합체의 생체적합성 및 광범위한 생분해성 특성으로 인해 이를 사용하여 이러한 단백질들의 지속 방출 제제가 개발되었다. PLGA의 분해 생성물인 락트산 및 글리콜산은 인체 내에서 신속하게 제거될 수 있다. 또한, 이러한 중합체의 분해성은 이의 분자량 및 조성에 따라 수개월 내지 수년까지 조정될 수 있다. 문헌 [Lewis, "Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymer", M. Chasin and R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: New York, 1990), pp. 1-41].
- [0209] 본원에서 제공되는 키메라 FGF19 폴리펩티드를 포함하는 치료제 및 조성물은 다수의 용도에서 사용될 수 있다. 용도에는 비만이거나 비만과 관련된 상태가 있는 개체를 치료하는 것이 포함된다. 한 측면에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 이러한 상태를 치료하는데 효과적인 양으로 이를 필요로 하는 개체에게 투여된다. 바람직하게는, 상태는 하기의 것들 중 하나 이상이 치료되는 것을 필요로 하는 상태이다: 혈당 감소, 대사 증가, 체중 감소, 체지방 감소, 트리글리세리드 감소, 유리 지방산 감소, 지방세포로부터의 글루코스 방출 증가 및/또는 지방세포로부터의 렙틴 방출 증가. 표준 방법에 의해, 예를 들어, 산소 소비를 측정하여 대사율을 결정함으로써, 저울을 사용하여 체중을 결정함으로써, 그리고 사이즈를 측정하여 지방을 결정함으로써 이러한 파라미터들 각각을 측정할 수 있다. 또한, 트리글리세리드, 유리 지방산, 글루코스 및 렙틴의 존재 및 양을 표준 방법에 의해 결정할 수 있다. 용도는 제1형 당뇨병, 제2형 당뇨병, 고혈당, 대사 증후군, 아테롬성동맥경화증, 고콜레스테롤 혈증, 뇌졸중, 골다공증, 골관절염, 퇴행성 관절 질환, 근육 위축, 근육감소증, 제지방 체중 감소, 탈모증, 주름, 피로 증가, 원기 감소, 심장 기능 감소, 면역계 기능이상, 암, 파킨슨 질환, 노인성 치매, 알츠하이머 질환 및 인지 기능 감소 중 하나 이상이 있는 개체를 치료하는 것을 포함한다.
- [0210] 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 키메라 FGF19 폴리펩티드를 포함하는 조성물은 생체 내에서 바람직하게 사용된다. 그러나, 하기 논의된 바와 같이, 투여는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 조정제에 대해 스크리닝하는 하기 기술되는 방법에서와 같이 시험관내 투여일 수 있다. 그러나, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 조정제가 개체로부터의 샘플 및 동물 모델을 사용함으로써 또한 확인될 수 있다.
- [0211] 본 발명은 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물이 제2 작용제와 조합되어 개체에게 투여되고, 이때 제2 작용제가 바람직하게는 약리학적 작용제인 측면을 또한 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물은 치료 유효량으로 치료 유효량의 제2 작용제와 조합되어 투여된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물이 제2 작용제와 함께 투여되고, 즉, 각각의 투여 기간이 단일 투여 요법의 일부이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제가 공동으로 투여되고, 즉, 각각의 투여 기간이 서로 중첩된다. 일부 실

시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제가 동시적이지 않게 투여되고, 즉, 각각의 투여 기간이 서로 중첩되지 않는다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제이 순차적으로 투여되고, 즉, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물이 제2 작용제의 투여 전 및/또는 후에 투여된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제가 별개의 조성물로서 동시에 투여된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제가 동일한 조성물의 일부로서 동시에 투여된다.

[0212] 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 본 발명의 상이한 키메라 FGF19 폴리펩티드이다. 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 항염증제, 항당뇨병제, 및/또는 "스타틴(statin)" 클래스의 콜레스테롤-저하 약물이다. 일부 실시양태에서, 제2 활성제는 인슐린이다. 일부 실시양태에서, 인슐린은 속성 작용 인슐린, 단기 작용 인슐린, 정규 작용 인슐린, 중간 작용 인슐린 또는 장기 작용 인슐린이다. 일부 실시양태에서, 인슐린은 휴마로그(Humalog), 리스프로(Lispro), 노보로그(Novolog), 애피드라(Apidra), 휴몰린(Humulin), 아스파르트(Aspart), 정규 인슐린, NPH, 렌테(Lente), 울트라렌테(Ultralente), 란투스(Lantus), 글라르진(Glargine), 레베미르(Levemir), 또는 디테미르(Detemir)이고/이거나 이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 활성제는 스타틴이다. 일부 실시양태에서, 스타틴은 아토르바스타틴(Atorvastatin) (예를 들어, 리피토르(Lipitor) 또는 토르바스트(Torvast)), 세리바스타틴(Cerivastatin) (예를 들어, 리포바이(Lipobay) 또는 바이콜(Baycol)), 플루바스타틴(Fluvastatin) (예를 들어, 레스콜(Lescol) 또는 레스콜 XL), 로바스타틴(Lovastatin) (예를 들어, 메바코르(Mevacor), 알토코르(Altocor), 또는 알토프레브(Altoprev)), 메바스타틴(Mevastatin), 피타바스타틴(Pitavastatin) (예를 들어, 리발로(Livalo) 또는 피타바(Pitava)), 프라바스타틴(Pravastatin) (예를 들어, 프라바콜(Pravachol), 셀렉틴(Selektine), 또는 리포스탯(Lipostat)), 로수바스타틴(Rosuvastatin) (예를 들어, 크레스토르(Crestor)), 심바스타틴(Simvastatin) (예를 들어, 조코르(Zocor) 또는 리펙스(Lipex)), 비토린(Vytorin), 애드비코르(Advicor), 베실레이트 카듀엣(Besylate Caduet) 또는 심코르(Simcor)이고/이거나 이를 포함한다.

[0213] 본 발명의 또 다른 측면에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물은 개체에 대해 수행되는 제2 치료법과 조합되어 개체에게 투여되고, 이때 제2 치료법은 수술을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물은 치료 유효량으로 제2 치료법과 조합되어 투여된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물은 제2 치료법과 함께 투여되고, 즉 투여 및 치료법이 단일 투여 요법의 일부이다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물은 제2 치료법과 공동으로 투여되고, 즉 각각의 투여 및 치료법 기간이 서로 중첩된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제는 제2 치료법과 동시적이지 않게 투여되고, 즉, 각각의 투여 및 치료법 기간이 서로 중첩되지 않는다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제는 제2 치료법과 순차적으로 투여되고, 즉, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물이 제2 치료법 전 및/또는 후에 투여된다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 제약 조성물 및 제2 작용제는 제2 치료법과 동시에 투여된다.

[0214] 본원에 기재된 키메라 FGF19 폴리펩티드는 단백질 전기영동 목적을 위한 분자량 마커로서 또한 사용될 수 있다.

[0215] 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 핵산 분자는 조직 유형결정에 또한 사용될 수 있고, 이때 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 또 다른 조직과 비교하여 한 조직에서 차별적으로 발현될 수 있다. 키메라 FGF19 폴리펩티드 핵산 분자는 PCR, 노던 분석, 서던 분석 및 웨스턴 분석을 위한 프로브를 생성시킴에 있어 용도가 발견될 것이다.

[0216] 또 다른 단백질 (예를 들어, FGFR 중 하나)에 결합하는 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 경우, 결합 상호작용에서 수반되는 다른 단백질 또는 분자를 확인하기 위한 검정에서 키메라 FGF19 폴리펩티드가 사용될 수 있다. 이같은 방법에 의해, 수용체/리간드 결합 상호작용의 억제제를 확인할 수 있다. 이같은 결합 상호작용에 수반되는 단백질은 결합 상호작용의 웹티드 또는 소형 분자 억제제 또는 효능제를 스크리닝하는데 또한 사용할 수 있다. 또한, 상관 리간드(들)를 단리하는데 키메라 FGF19 폴리펩티드가 사용될 수 있다. 천연 FGF19, 천연 FGF21, 키메라 FGF19 폴리펩티드, 또는 FGF19 및/또는 FGF21에 대한 수용체의 생물학적 활성을 모방하는 리드(lead) 화합물을 확인하기 위해 스크리닝 검정이 고안될 수 있다. 이같은 스크리닝 검정에는 화학물질 라이브러리의 고치리량 스크리닝이 적용될 수 있는 검정이 포함될 것이며, 그에 따라 이를 특히 소형 분자 약물 후보물질의 확인에 적합하게 할 것이다. 구상되는 소형 분자에는 합성 유기 또는 무기 화합물이 포함된다. 이러한 검정은 단백질-단백질 결합 검정, 생화학적 스크리닝 검정, 면역검정 및 세포 기반 검정이 포함되는 다양한 포

맷으로 수행될 수 있고, 이들은 당업계에 잘 특징화되어 있다.

[0217] 수용체 확인을 위한 별법적인 접근법으로서, 표지된 키메라 FGF19 폴리펩티드가 수용체 분자를 발현하는 세포 막 또는 추출물 제제와 광친화적으로 연결될 수 있다. 가교 물질을 PAGE에 의해 분해하고, X선 필름에 노출시킨다. 수용체를 함유하는 표지된 복합체를 절단하고, 웨პ티드 단편으로 분해하고, 단백질 미량-서열분석에 적용할 수 있다. 미량-서열분석으로부터 수득된 아미노산 서열은 추정 수용체를 코딩하는 유전자를 확인하기 위해 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위한 축퇴성 올리고뉴클레오티드 프로브 세트를 디자인하는데 사용될 것이다.

[0218] 경쟁적 결합 검정이 수행되는 본원의 한 실시양태에서, FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c 및/또는 FGFR4, 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대한 항체가 경쟁물로서 사용된다.

VIII. 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대한 항체

1. 폴리클로날 항체

[0221] 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 폴리클로날 항체를 포함할 수 있다. 폴리클로날 항체의 제조 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 면역화제 및 원하는 경우의 아주반트를 1회 이상 주사함으로써 포유동물에서 폴리클로날 항체를 생성시킬 수 있다. 전형적으로, 면역화제 및/또는 아주반트가 다중 피하 또는 복강내 주사에 의해 포유동물에 주사될 것이다. 면역화제는 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 융합 단백질을 포함할 수 있다. 면역화되는 포유동물에서 면역원성인 단백질에 면역화제를 접합시키는 것이 유용할 수 있다. 이같은 면역원성 단백질의 예로는 키홀 림펫 혜모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 및 대두 트립신 억제제가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 사용될 수 있는 아주반트의 예로는 프로인트 완전 아주반트 및 MPL-TDM 아주반트 (모노포스포릴 지질 A, 합성 트레할로스 디코리노미콜레이트)가 포함된다. 과도한 실험 없이 당업자가 면역화 프로토콜을 선택할 수 있다.

2. 모노클로날 항체

[0223] 별법적으로, 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 모노클로날 항체일 수 있다. 하이브리도마 방법, 예컨대 문헌 [Kohler and Milstein, Nature, 256:495 (1975)]에 기재된 방법을 사용하여 모노클로날 항체를 제조할 수 있다. 하이브리도마 방법에서, 마우스, 햄스터, 또는 기타 적합한 숙주 동물이 전형적으로 면역화제로 면역화되어, 면역화제에 특이적으로 결합할 항체를 생산하거나 생산할 수 있는 림프구를 유도해 낸다. 별법적으로, 림프구를 시험관내에서 면역화시킬 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 본 발명의 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다. 더욱 바람직한 실시양태에서, 이러한 특이적으로 결합하는 항체는 천연 FGF19 폴리펩티드 또는 천연 FGF21 폴리펩티드에 결합하지 않는다.

[0224] 전형적으로 면역화제는 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 융합 단백질을 포함할 것이다. 일반적으로, 인간 기원의 세포를 원하는 경우 말초 혈액 림프구 ("PBL")가 사용되거나, 비-인간 포유동물 공급원을 원하는 경우 비장 세포 또는 림프절 세포가 사용된다. 그 후, 적절한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 림프구를 불멸화 세포와 융합시켜, 하이브리도마 세포를 형성시킨다. 문헌 [Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, (1986) pp. 59-103]. 일반적으로 불멸화 세포주는 형질전환된 포유동물 세포, 특히 설치류, 소, 및 인간 기원의 골수종 세포이다. 일반적으로, 래트 또는 마우스 골수종 세포 주가 사용된다. 하이브리도마 세포는 융합되지 않은 불멸화 세포의 성장 또는 생존을 억제하는 하나 이상의 물질을 바람직하게 함유하는 적절한 배양 배지에서 배양될 수 있다. 예를 들어, 부모 세포가 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT) 효소를 결여하는 경우, 하이브리도마용 배양 배지는 전형적으로 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함할 것이며 ("HAT 배지"), 이러한 물질들은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.

[0225] 바람직한 불멸화 세포주는 효율적으로 융합되고, 선별된 항체-생산 세포에 의한 안정적인 높은 수준의 항체 생산을 지지하며, HAT 배지와 같은 배지에 감수성인 세포주이다. 더욱 바람직한 불멸화 세포주는 뮤린 골수종 세포주이고, 이는 예를 들어 솔크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center) (캘리포니아주 샌디에고) 및 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 (버지니아주 머내서스)으로부터 입수할 수 있다. 인간 골수종 및 마우스-인간 혜테로골수종 세포주 또한 인간 모노클로날 항체의 생산을 위해 기술되어 있다 (문헌 [Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)]; [Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63]).

[0226] 그 후, 하이브리도마 세포가 배양되는 배지를 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대해 지시된 모노클로날 항체의 존재에 대해 검정할 수 있다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생산된 모노클로날 항체의 결합 특이성

을 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 검정, 예컨대 방사선면역검정 (RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 결정할 수 있다. 이같은 기술 및 검정은 당업계에 공지되어 있다. 모노클로날 항체의 결합 친화력은, 예를 들어, 문헌 [Munson and Pollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980)]의 스캐차드 분석에 의해 결정할 수 있다.

[0227] 원하는 하이브리도마 세포를 확인한 후, 클론을 한계 희석 절차에 의해 서브클로닝하고, 표준 방법에 의해 성장 시킬 수 있다 ([Goding, 상기 문헌]). 이러한 목적에 적절한 배양 배지에는, 예를 들어, 둘째코 변형 이글 배지 또는 RPMI-1640 배지가 포함된다. 별법적으로, 하이브리도마 세포가 포유동물에서 복수로서 생체내에서 성장될 수 있다.

[0228] 서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체를 예를 들어 단백질 A-세파로스, 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 젤 전기영동, 투석 또는 친화성 크로마토그래피와 같은 통상적인 이뮤노글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지 또는 복수액으로부터 단리 또는 정제할 수 있다.

[0229] 모노클로날 항체는 또한 재조합 DNA 방법, 예컨대 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 것에 의해 제조할 수 있다. 통상적인 절차 (예를 들어, 뮤린 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 이용함)을 이용하여 본 발명의 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA를 쉽게 단리하여 서열분석할 수 있다. 본 발명의 하이브리도마 세포는 이같은 DNA의 바람직한 공급원으로 기능한다. 일단 단리되면, DNA를 발현 백터 내로 넣을 수 있고, 그 후 이를 형질감염되지 않으면 이뮤노글로불린 단백질을 생산하지 않는 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 골수종 세포와 같은 숙주 세포 내로 형질감염시켜, 재조합 숙주 세포에서의 모노클로날 항체의 합성을 수득한다. 예를 들어, 상동성 뮤린 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써 (미국 특허 번호 4,816,567; [Morrison et al., 상기 문헌]), 또는 이뮤노글로불린 코딩 서열에 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열 전체 또는 일부를 공유 결합시킴으로써 DNA가 또한 변형될 수 있다. 이같은 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드가 본 발명의 항체의 불변 도메인에 대해 치환될 수 있거나, 또는 본 발명의 항체의 한 항원-결합 부위의 가변 도메인에 대해 치환되어 키메라 2가 항체가 생성될 수 있다.

[0230] 항체는 1가 항체일 수 있다. 1가 항체의 제조 방법이 당업계에 주지되어 있다. 예를 들어, 한 방법은 이뮤노글로불린 경쇄 및 변형된 중쇄의 재조합 발현을 수반한다. 중쇄 가교를 방지하도록 일반적으로 중쇄가 Fc 영역 내의 임의의 지점에서 말단절단된다. 별법적으로, 관련된 시스테인 잔기가 또 다른 아미노산 잔기로 치환되어나 결실되어 가교를 방지한다.

[0231] 시험관내 방법은 1가 항체를 제조하는데 또한 적절하다. 단편, 특히 Fab 단편이 생산되도록 항체를 소화시키는 것은 당업계에 공지된 관례적인 기술을 사용하여 달성할 수 있다.

3. 인간 및 인간화 항체

[0233] 본 발명의 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 인간화 항체 또는 인간 항체를 추가로 포함할 수 있다. 인간화 형태의 비-인간 (예를 들어, 뮤린) 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 사슬 또는 이의 단편 (예컨대 항체의 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 기타 항원-결합 하위서열)이다. 인간화 항체에는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화력 및 능력이 있는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 종 (공여자 항체)의 CDR로부터의 잔기로 교체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이 포함된다. 일부 경우에는, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 잔기가 상응하는 비-인간 잔기로 교체된다. 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 이입된 (imported) CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않는 잔기를 또한 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함하고, 이러한 가변 도메인에서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것들에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것들이다. 최적으로는, 인간화 항체는 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 또한 포함할 것이다 (문헌 [Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature, 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992)]).

[0234] 비-인간 항체를 인간화시키는 방법들이 당업계에 주지되어 있다. 일반적으로, 인간화 항체에는 비-인간 공급원으로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기가 도입되어 있다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "이입" 잔기로 지칭되고, 이는 전형적으로 "이입" 가변 도메인으로부터 취해진다. 설치류 CDR 또는 CDR 서열로 인간 항체의

상응하는 서열을 치환함으로써, 원터(Winter) 및 공동 연구원의 방법 (문헌 [Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988)]; [Verhoeven et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)])에 따라 인간화를 본질적으로 수행할 수 있다. 따라서, 이같은 "인간화" 항체는 무순상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적은 서열이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환된 키메라 항체 (미국 특허 번호 4,816,567)이다. 실제로, 전형적으로 인간화 항체는 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 석치류 항체의 유사한 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다.

[0235] 과거 디스플레이 라이브러리를 포함하는, 당업계에 공지된 다양한 기술을 사용하여 인간 항체가 또한 생산될 수 있다 (문헌 [Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)]; [Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581 (1991)]). 문헌 [Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985)] 및 [Boerner et al., *J. Immunol.*, 147(1):86-95 (1991)]의 기술이 인간 모노클로날 항체의 제조에 또한 이용가능하다. 유사하게, 인간 이뮤노글로불린 유전자좌를 트랜스제닉 동물, 예를 들어, 내인성 이뮤노글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화된 마우스 내로 도입함으로써 인간 항체가 제조될 수 있다. 챤린지 시, 유전자 재배열, 어셈블리 및 항체 래퍼토리를 포함하여 모든 면에서 인간에서 보이는 것과 매우 유사한 인간 항체 생산이 관찰된다. 이러한 접근법은, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016, 및 과학 간행물 [Marks et al., *Bio/Technology* 10, 779-783 (1992)]; [Lonberg et al., *Nature* 368:856-859 (1994)]; [Morrison, *Nature* 368, 812-13 (1994)]; [Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14, 845-51 (1996)]; [Neuberger, *Nature Biotechnology* 14, 826 (1996)]; [Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995)]에 기재되어 있다.

4. 이중특이적 항체

[0236] 이중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 항원에 대한 결합 특이성이 있는 모노클로날 항체, 바람직하게는 모노클로날 인간 또는 인간화 항체이다. 본원에서의 경우에, 결합 특이성 중 하나는 FGF19에 대한 것이고, 다른 하나는 임의의 기타 항원, 바람직하게는 세포 표면 단백질 또는 수용체 또는 수용체 서브유닛에 대한 것이다.

[0237] [0238] 이중특이적 항체의 제조 방법이 당업계에 공지되어 있다. 전통적으로, 이중특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 이뮤노글로불린 중쇄/경쇄 쌍의 공동-발현을 기초로 하고, 이때 두 중쇄는 특이성이 상이하다 (문헌 [Milstein and Cuello, *Nature*, 305:537-539 (1983)]). 이뮤노글로불린 중쇄 및 경쇄의 무작위 조합으로 인해, 이러한 하이브리도마 (쿼드로마(quadroma))는 10가지 상이한 항체 분자의 잠재적 혼합물을 생산하고, 이중 하나만이 정확한 이중특이적 구조를 갖는다. 일반적으로 친화성 크로마토그래피 단계에 의해 정확한 분자의 정체가 달성된다. 유사한 절차가 WO 93/08829 (1993년 5월 13일 공개) 및 문헌 [Traunecker et al., *EMBO J.*, 10:3655-3659 (1991)]에 개시되어 있다.

[0239] 원하는 결합 특이성 (항체-항원 조합 부위)이 있는 항체 가변 도메인이 이뮤노글로불린 불변 도메인 서열에 융합될 수 있다. 바람직하게는 융합은 헌지, CH2 및 CH3 영역의 적어도 일부분을 포함하는 이뮤노글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합이다. 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)이 융합물 중 적어도 하나에 존재하는 것이 바람직하다. 이뮤노글로불린 중쇄 융합물, 및 원한다면 이뮤노글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA들을 별도의 발현 벡터들에 삽입하고, 적절한 숙주 세포 내로 공동-형질감염시킨다. 이중특이적 항체를 생성시키는 것의 추가적인 상세사항에 대해서, 예를 들어, 문헌 [Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986)]을 참조한다.

[0240] WO 96/27011에 기재된 또 다른 접근법에 따르면, 한 쌍의 항체 분자 사이의 경계면을 조작하여 재조합 세포 배양물로부터 회수되는 이종이량체의 백분율을 최대화할 수 있다. 바람직한 경계면은 항체 불변 도메인의 CH3 영역의 적어도 일부를 포함한다. 이러한 방법에서, 제1 항체 분자의 경계면으로부터의 하나 이상의 작은 아미노산 측쇄가 더 큰 측쇄 (예를 들어, 티로신 또는 트립토판)로 교체된다. 큰 아미노산 측쇄를 더 작은 아미노산 측쇄 (예를 들어, 알라닌 또는 트레오닌)로 교체함으로써 큰 측쇄(들)에 대한 동일하거나 유사한 크기의 보상 "공동(cavity)"이 제2 항체 분자의 경계면 상에 생성된다. 이는 동종이량체와 같은 다른 바람직하지 않은 최종-생성물에 비해 이종이량체의 수율을 증가시키는 메커니즘을 제공한다.

[0241] 전장 항체 또는 항체 단편 (예를 들어, $F(ab')_2$ 이중특이적 항체)으로서 이중특이적 항체가 제조될 수 있다. 항체 단편으로부터 이중특이적 항체를 생성시키는 기술이 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 화학적 연결을 이용하여 이중특이적 항체를 제조할 수 있다. 문헌 [Brennan et al., *Science* 229:81 (1985)]에 무순상 항체를 단백질분해적으로 절단시켜 $F(ab')_2$ 단편을 생성시키는 방법이 기술되어 있다. 이러한 단편을 디티올 착화제인

아비산나트륨의 존재하에 환원시켜, 근접한 디티올들을 안정화시키고 분자간 디술피드 형성을 방지한다. 그 후, 생성된 Fab' 단편을 티오니트로벤조에이트 (TNB) 유도체로 전환시킨다. 그 후, Fab'-TNB 유도체들 중 하나를 메르캅토에틸아민으로의 환원에 의해 Fab'-티올로 재전환시키고 등몰량의 다른 Fab'-TNB 유도체와 혼합하여 이중특이적 항체를 형성시킨다. 생산된 이중특이적 항체는 효소의 선택적 고정을 위한 작용제로서 사용될 수 있다.

[0242] Fab' 단편을 이. 콜라이 (*E. coli*)로부터 또한 직접 회수할 수 있고, 화학적으로 커플링시켜 이중특이적 항체를 형성시킬 수 있다. 문헌 [Shalaby et al., J. Exp. Med. 175:217-225 (1992)]에는 완전히 인간화된 이중특이적 항체 F(ab')₂ 분자의 생산이 기재되어 있다. 각각의 Fab' 단편이 이. 콜라이로부터 별도로 분비되었고, 시험관 내에서 지향성 화학적 커플링에 적용되어, 이중특이적 항체가 형성되었다. 이렇게 형성된 이중특이적 항체는 ErbB2 수용체를 과발현하는 세포 및 정상적인 인간 T 세포에 결합할 수 있을 뿐만 아니라, 인간 유방 종양 표적에 대한 인간 세포독성 림프구의 용해 활성을 촉발할 수 있었다.

[0243] 재조합 세포 배양물로부터 직접적으로 이중특이적 항체 단편을 제조 및 단리하기 위한 다양한 기술이 또한 기술되었다. 예를 들어, 류신 지퍼를 사용하여 이중특이적 항체가 생산되었다. 문헌 [Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)], Fos 및 Jun 단백질로부터의 류신 지퍼 웨პ티드를 2개의 상이한 항체의 Fab' 부분에 유전자 융합에 의해 연결시켰다. 항체 동종이량체를 헌지 영역에서 환원시켜 단량체를 형성시킨 후, 다시 산화시켜 항체 이종이량체를 형성시켰다. 이러한 방법은 항체 동종이량체의 생산에 또한 이용될 수 있다. 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)]에 기재된 "디아바디" 기술은 이중특이적 항체 단편의 별법적인 제조 메커니즘을 제공하였다. 단편들은 동일한 사슬 상에서 링커에 의해 경쇄 가변 도메인 (V_H)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (V_H)을 포함하며, 여기서 링커는 상기 두 도메인 간에 쌍을 이루게 하기에는 너무 짧은 것이다. 따라서, 한 단편의 V_H 및 V_L 도메인이 또 다른 단편의 상보적인 V_H 및 V_L 도메인과 쌍을 이루도록 강요됨으로써, 2개의 항원 결합 부위가 형성된다. 단쇄 Fv (sFv) 이량체를 사용하여 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 또 다른 전략이 또한 보고되었다. 문헌 [Gruber et al., J. Immunol. 152:5368 (1994)] 참조. 2가를 초과하는 항체가 구현된다. 예를 들어, 삼중특이적 항체를 제조할 수 있다. 문헌 [Tutt et al., J. Immunol. 147:60 (1991)].

[0244] 예시적인 이중특이적 항체가 본원의 소정의 FGF19 폴리펩티드 상의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 별법적으로, 세포성 방어 메커니즘이 특정 FGF19 폴리펩티드를 발현하는 세포에 집중되도록, 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 폴리펩티드 아암(arm)이 백혈구 상의 촉발 분자 예컨대 T-세포 수용체 분자 (예를 들어, CD2, CD3, CD28 또는 B7), 또는 IgG에 대한 Fc 수용체 (FcγR), 예컨대 FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) 및 FcγRIII (CD16)에 결합하는 아암과 조합될 수 있다. 이중특이적 항체는 세포독성제를 특정 FGF19 폴리펩티드를 발현하는 세포에 국소화시키는데 또한 사용될 수 있다. 이러한 항체는 FGF19에 결합하는 아암 및 세포독성제 또는 방사선핵종 킬레이터, 예컨대 EOTUBE, DPTA, DOTA, 또는 TETA에 결합하는 아암을 갖는다. 관심 대상인 또 다른 이중특이적 항체는 FGF19 폴리펩티드에 결합하고, 조직 인자 (TF)에 추가로 결합한다.

5. 이중접합체 항체

[0245] 이중접합체 항체 또한 본 발명의 범주 내에 속한다. 이중접합체 항체는 2개의 공유결합으로 연결된 항체로 구성된다. 이같은 항체는, 예를 들어, 바람직하지 않은 세포에 대한 면역계 세포의 표적화 (미국 특허 번호 4,676,980), 및 HIV 감염의 치료 (WO 91/00360; WO 92/200373; EP 03089)를 위해서 제안되었다. 가교체를 수반하는 것이 포함되는, 합성 단백질 화학에서의 공지된 방법을 사용하여 시험관 내에서 이러한 항체를 제조할 수 있는 것으로 생각된다. 예를 들어, 디술피드 교환 반응을 사용하여 또는 티오에스테르 결합을 형성시킴으로써 면역독소를 구축할 수 있다. 이러한 목적을 위한 적절한 시약의 예로는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티르이미데이트, 및 예를 들어 미국 특허 번호 4,676,980에 개시된 것들이 포함된다.

6. 이펙터 기능 조작

[0246] 이펙터 기능과 관련하여 본 발명의 항체를, 예를 들어 항체의 유효성을 강화하도록 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 시스테인 잔기(들)를 Fc 영역에 도입함으로써, 이러한 영역 내에 사슬간 디술피드 결합이 형성되도록 할 수 있다. 이렇게 생성된 동종이량체 항체는 내재화 능력이 개선되고/되거나 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC)이 증가될 수 있다. 문헌 [Caron et al., J. Exp Med., 176: 1191-1195 (1992)] 및 [Shopes, J. Immunol., 148: 2918-2922 (1992)] 참조. 한 예에서, 문헌 [Wolff et al. Cancer Research, 53: 2560-2565 (1993)]에 기재된 바와 같이 이종이관능성 가교체를 사용하여 항종양 활성이

강화된 동종이량체 항체를 또한 제조할 수 있다. 별법적으로, 이중 Fc 영역이 있는 항체를 조작할 수 있고, 이에 의해 항체의 보체 용해 및 ADCC 능력이 강화될 수 있다. 문헌 [Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design, 3: 219-230 (1989)] 참조.

[0249] 7. 면역접합체

본 발명은 세포독성제 예컨대 화학요법제, 독소 (예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소, 또는 이의 단편), 또는 방사성 동위원소 (즉, 방사성접합체)에 접합된 항체를 포함하는 면역접합체에 또한 관련된다.

이같은 면역접합체의 생성에 유용한 화학요법제가 상기에 기재되어 있다. 사용될 수 있는 효소적으로 활성인 독소 및 이의 단편에는 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비-결합 활성 단편, 외독소 A 사슬 (슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 파이톨라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(*sapaponaria officinalis*) 억제제, 젤로닌, 미토첼린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센이 포함된다. 다양한 방사성핵종이 방사성접합 항체의 생산에 이용가능하다. 예로는 ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹In, ⁹⁰Y, 및 ¹⁸⁶Re가 포함된다.

다양한 이관능성 단백질 커플링제 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트 (SPDP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대 디메틸 아디프이미데이트 HC1), 활성 에스테르 (예컨대 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대 비스(p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 플루오르 화합물 (예컨대 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 항체와 세포독성제의 접합체를 제조한다. 예를 들어, 문헌 [Vitetta et al., Science, 238: 1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 리신 면역독소를 제조할 수 있다. 탄소-14로 표지된 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 방사성뉴클레오티드를 항체에 접합시키기 위한 예시적인 퀄레이트제이다. WO 94/11026 참조.

또다른 실시양태에서, 항체-수용체 접합체를 개체에게 투여한 후, 결합되지 않은 접합체를 혈액순환으로부터 제거제를 사용하여 제거하고, 이어서 세포독성제 (예를 들어 방사선뉴클레오티드)에 접합된 "리간드" (예를 들어, 아비딘)를 투여하는 종양 예비-표적화에서 사용하기 위해 항체가 "수용체" (예컨대 스트렙타비딘)에 접합될 수 있다.

[0254] 8. 면역리포솜

본원에 개시된 항체는 또한 면역리포솜으로 제제화될 수 있다. 항체를 함유하는 리포솜은 당업계에 공지된, 예컨대 문헌 [Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); [Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980)]; 및 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545에 기재된 방법에 의해 제조된다. 순환 시간이 강화된 리포솜이 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다.

특히 유용한 리포솜이 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용하여 역상 중발 방법에 의해 생성될 수 있다. 규정된 공극 크기의 필터를 통해 리포솜을 압출하여 원하는 직경의 리포솜이 산출된다. 디솔피드 상호교환 반응을 통해 문헌 [Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)]에 기재된 바와 같이 본 발명의 항체의 Fab' 단편을 리포솜에 접합시킬 수 있다.

[0257] 9. 항체의 제약 조성물

본원에서 확인된 FGF19 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체, 뿐만 아니라 상기 개시된 스크리닝 검정에 의해 확인된 기타 문자가 제약 조성물의 형태로 다양한 장애의 치료를 위해 투여될 수 있다.

FGF19 폴리펩티드가 세포내 물질이고, 완전한 항체가 억제제로서 사용된다면, 내재화 항체가 바람직하다. 그러나, 리포액션 또는 리포솜을 또한 사용하여 항체 또는 항체 단편을 세포 내로 전달할 수 있다. 항체 단편이 사용되는 경우, 표적 단백질의 결합 도메인에 특이적으로 결합하는 최소 억제 단편이 일반적으로 바람직하다. 예를 들어, 항체의 가변 영역 서열을 기초로, 표적 단백질 서열에 결합하는 능력이 유지된 웹티드 문자를 디자인 할 수 있다. 이같은 웹티드는 화학적으로 합성되고/되거나 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 예를 들

어, 문헌 [Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)] 참조. 본원에서의 제제는 치료될 특정 적응증에 필요하다면 1가지를 초과하는 활성 화합물, 바람직하게는 서로에게 역효과를 일으키지 않는 보완적인 활성을 갖는 것들을 또한 함유할 수 있다. 별법적으로 또는 추가적으로, 조성물은 이의 기능을 강화하는 작용제, 예를 들어, 세포독성제, 시토카인, 화학요법제, 또는 성장 억제제를 포함할 수 있다. 이같은 분자들은 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합되어 적절하게 존재한다.

[0260] 또한 활성 성분들이, 예를 들어 코아세르베이션(coacervation) 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 내에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀젼, 나노입자 및 나노캡슐) 내에, 또는 마크로에멀젼 내에 포획될 수 있다. 이같은 기술은 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 상기 문헌]에 개시되어 있다.

[0261] 생체내 투여에 사용될 제제는 반드시 멸균성이어야 한다. 이는 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0262] 지속 방출 제제가 제조될 수 있다. 지속 방출 제제의 적절한 예로는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스가 포함되고, 이러한 매트릭스는 성형품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출 매트릭스의 예로는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산과 γ-에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체 예컨대 루프론 디포(LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체 및 러프롤리드 아세테이트로 구성된 주사용 마이크로스피어), 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산이 포함된다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 분자가 100일을 초과하여 방출될 수 있게 하는 한편, 특정 히드로겔은 단백질을 더 짧은 기간 동안 방출한다. 캡슐화된 항체가 신체 내에 장기간 동안 유지되는 경우, 37°C에서 수분에 노출된 결과로 이들이 변성되거나 응집될 수 있어, 생물학적 활성의 손실, 그리고 가능하게는 면역원성의 변화를 초래한다. 수반되는 메커니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 고안될 수 있다. 예를 들어, 응집 메커니즘이 티오-디솔피드 교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 발견되면, 슬프히드릴 잔기를 변형시킴, 산성 용액으로부터 동결건조시킴, 수분 함량을 제어함, 적합한 첨가제를 사용함, 및 특정 중합체 매트릭스 조성물을 개발함에 의해 안정화가 달성될 수 있다.

10. 항체에 대한 용도

[0263] 본 발명의 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 다양한 용도가 있다. 예를 들어, 항-FGF19 항체는 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대한 진단 검정, 예를 들어, 특정 세포, 조직 또는 혈청에서의 이의 발현을 검출하는 것에서 사용될 수 있다. 당업계에 공지되어 있는 다양한 진단 검정 기술, 예컨대 경쟁적 결합 검정, 직접적 또는 간접적 샌드위치 검정 및 면역침전 검정 (비균질 또는 균질 상에서 수행됨)이 사용될 수 있다 (문헌 [Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) pp. 147-158]). 진단 검정에서 사용되는 항체는 검출가능한 모이어티로 표지될 수 있다. 검출가능한 모이어티는 검출가능한 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 생산할 수 있어야 한다. 예를 들어, 검출가능한 모이어티는 방사성동위원소, 예컨대 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, 또는 ¹²⁵I, 형광 또는 화학발광 화합물, 예컨대 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 또는 루시페린, 또는 효소, 예컨대 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제 또는 양고추냉이 페옥시다제일 수 있다. 문헌 [Hunter et al., Nature, 144:945 (1962)]; [David et al., Biochemistry, 13: 1014 (1974)]; [Pain et al., J. Immunol. Meth., 40:219 (1981)]; 및 [Nygren, J. Histochem. and Cytochem., 30:407 (1982)]에 기재된 방법들을 비롯한, 검출가능한 모이어티에 항체를 접합시키기 위한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용할 수 있다..

[0264] 항-키메라 FGF19 폴리펩티드 항체는 재조합 세포 배양물 또는 천연 공급원으로부터의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 친화성 정제에 또한 유용하다. 이러한 공정에서, 당업계에 주지된 방법을 사용하여, 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대한 항체를 적절한 지지체, 예컨대 세파넥스 수지 또는 여과지 상에 고정한다. 그 후, 고정된 항체를 정제된 키메라 FGF19 폴리펩티드를 함유하는 샘플과 접촉시키고, 고정된 항체에 결합된 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제외한 샘플 내의 모든 물질을 실질적으로 제거할 적절한 용매로 지지체를 세척한다. 마지막으로, 항체로부터 키메라 FGF19 폴리펩티드를 방출시킬 또 다른 적절한 용매로 지지체를 세척한다.

IX. 키메라 FGF19 폴리펩티드의 제조

[0265] 하기의 설명은 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 함유하는 벡터로 형질전환 또는 형질감염된 세포를 배양하는 것에 의한 키메라 FGF19 폴리펩티드의 생산에 주로 관련된다. 물론, 당업계에 주지된 별법적인 방법

이 키메라 FGF19 폴리펩티드를 제조하는데 사용될 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 키메라 FGF19 폴리펩티드 또는 이의 일부분을 고체-상 기술을 사용하여 직접적인 웨프티드 합성에 의해 생산할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Stewart et al., Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, Calif. (1969)]; [Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154 (1963)] 참조). 수동 기술을 사용하여 또는 자동화에 의해 시험관내 단백질 합성을 수행할 수 있다; 예를 들어, 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems) (캘리포니아주 포스터 시티)의 웨프티드 합성기를 제조사의 지시에 따라 사용하여 자동화된 합성을 달성할 수 있다. 키메라 FGF19 폴리펩티드의 다양한 부분들을 개별적으로 화학적으로 합성하고, 화학적 또는 효소적 방법을 사용하여 조합하여, 전장 키메라 FGF19 폴리펩티드를 생산할 수 있다.

[0268] 1. 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 DNA의 단편

천연 FGF19 폴리펩티드의 적어도 일부분 및 천연 FGF21 폴리펩티드의 적어도 일부분을 코딩하는 cDNA를 주형으로 사용하는 PCR 방법을 사용함으로써 본 발명의 키메라 FGF 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA 단편들을 생성할 수 있다. 예를 들어, 한 예에서, FGF21 폴리펩티드의 N-말단 부분을 코딩하는 cDNA 단편 및 FGF19 폴리펩티드의 C-말단 부분을 코딩하는 cDNA 단편을 표준 절차에 의해, 예컨대 PCR에 이어서 아가로스 겔 전기영동을 사용함으로써, 개별적으로 증폭시키고 정제한다. FGF21 cDNA 단편의 3' 끝부분 및 FGF19 cDNA 단편의 5' 끝부분에 18개 뉴클레오티드의 중첩이 있도록 프라이머 서열들을 디자인한다. 이러한 2개의 cDNA 단편의 혼합물을 주형으로 사용하여 PCR을 이용한 제2 증폭을 수행하면, FGF21 단편 및 FGF19 단편의 키메라 폴리펩티드를 코딩하는 cDNA가 초래된다. 생성된 cDNA 단편을 적합한 제한 효소로 소화시키고, 아가로스 겔 전기영동에 의해 정제하고, 표준 절차를 사용하여 플라스미드 벡터 pRK5.sm (포유동물 발현을 위한 CMV 프로모터를 함유하는, pUC 기반 플라스미드 벡터) 내로 클로닝시킨다. 생성된 플라스미드의 서열을 생어(Sanger) DNA 서열분석 방법에 의해 확인하였다.

[0269] FGF19 및/또는 FGF21 mRNA를 보유하고 이를 검출가능한 수준으로 발현할 것으로 여겨지는 조직으로부터 제조된 cDNA 라이브러리로부터 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 수득할 수 있다. 따라서, 인간 FGF19 및/또는 FGF21 DNA를, 실시예에 기재된 바와 같이, 인간 조직으로부터 제조된 cDNA 라이브러리로부터 편리하게 수득할 수 있다. FGF19- 및/또는 FGF21-코딩 유전자는 또한 게놈 라이브러리로부터, 또는 공지된 합성 절차 (예를 들어, 자동화된 핵산 합성)에 의해 수득할 수 있다.

[0270] 관심 유전자 또는 이에 의해 코딩되는 단백질을 확인하기 위해 디자인된 프로브 (예컨대 FGF19 및/또는 FGF21에 대한 항체 또는 적어도 약 20-80개 염기의 올리고뉴클레오티드)로 라이브러리를 스크리닝할 수 있다. cDNA 또는 게놈 라이브러리를 선택된 프로브로 스크리닝하는 것은 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)]에 기재된 바와 같이 표준 절차를 사용하여 수행할 수 있다. FGF19를 코딩하는 유전자를 단리하는 별법적인 수단은 PCR 방법을 사용하는 것이다 ([Sambrook et al., 상기 문헌]; 문헌 [Dieffenbach et al., PCR Primer: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995)]).

[0271] 하기의 실시예는 cDNA 라이브러리를 스크리닝하기 위한 기술을 기술한다. 프로브로서 선택된 올리고뉴클레오티드 서열은 거짓 양성이 최소화되도록 길이가 충분하여야 하고 충분히 명백하여야 한다. 바람직하게는, 스크리닝될 라이브러리 내의 DNA에의 혼성화 시 검출될 수 있도록 올리고뉴클레오티드가 표지된다. 표지 방법은 당업계에 주지되어 있고, ³²P-표지 ATP와 같은 방사성 표지, 비오티닐화 또는 효소적 표지의 사용을 포함한다. 중등도의 염격성 및 고도의 염격성을 비롯한 혼성화 조건이 [Sambrook et al., 상기 문헌]에서 제공된다.

[0272] 이같은 라이브러리 스크리닝 방법에서 확인된 서열을 진뱅크(GenBank)와 같은 공공 데이터베이스 또는 기타 사설 서열 데이터베이스에 기탁되어 입수가능한 다른 공지된 서열에 대해 비교 및 정렬할 수 있다. 분자의 한정된 영역 내의 또는 전장 서열에 걸친 서열 동일성 (아미노산 또는 뉴클레오티드 수준에서의 동일성)은 당업계에 공지되고 본원에 기재된 바와 같은 방법을 사용하여 결정할 수 있다.

[0273] 선택된 cDNA 또는 게놈 라이브러리를 본원에 최초로 개시된 추정 아미노산 서열을 사용하여 스크리닝하고, 그리고 필요하다면, [Sambrook et al., 상기 문헌]에 기재된 통상적인 프라이머 확장 절차를 사용하여, cDNA로 역전사되지 않았을 수 있는 mRNA의 전구체 및 프로세싱 중간체를 검출함으로써, 단백질 코딩 서열을 가진 핵산을 수득할 수 있다.

[0274] 2. 숙주 세포의 선택 및 형질전환

[0275] 숙주 세포를 키메라 FGF19 폴리펩티드 생산을 위해 본원에 기재된 발현 또는 클로닝 벡터로 형질감염 또는 형질

전환시키고, 프로모터 유도, 형질전환체 선별 또는 원하는 서열을 코딩하는 유전자의 증폭에 적합하게 변형된 통상적인 영양 배지에서 배양한다. 배양 조건, 예컨대 배지, 온도, pH 등을 과도한 실험 없이 당업자가 선택할 수 있다. 일반적으로, 세포 배양물의 생산성을 최대화하기 위한 원리, 프로토콜, 및 실용적인 기술을 문헌 [Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach, M. Butler, ed. (IRL Press, 1991)] 및 [Sambrook et al., 상기 문헌]에서 확인할 수 있다.

[0277] 진핵 세포 형질감염 및 원핵 세포 형질전환 방법은 당업자에게 공지되어 있으며, 예를 들어, CaCl_2 , CaPO_4 , 리포솜-매개 및 전기천공이 있다. 사용된 숙주 세포에 따라, 형질전환은 이같은 세포에 적절한 표준 기술을 사용하여 수행된다. [Sambrook et al., 상기 문헌]에 기재된 바와 같은 염화칼슘을 사용하는 칼슘 처리, 또는 전기천공이 원핵생물에 일반적으로 사용된다. 문헌 [Shaw et al., Gene, 23:315 (1983)] 및 WO 89/05859 (1989년 6월 29일 공개)에 기재된 바와 같이, 아그로박테리움 투메파시엔스(*Agrobacterium tumefaciens*)로의 감염이 특정 식물 세포의 형질전환에 사용된다. 이같은 세포벽이 없는 포유동물 세포에 대해서는, 문헌 [Graham and van der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)]의 인산칼슘 침전 방법을 사용할 수 있다. 포유동물 세포 숙주 시스템 형질감염의 일반적인 측면들이 미국 특허 번호 4,399,216에 기재되어 있다. 효모 내로의 형질전환은 전형적으로 문헌 [Van Solingen et al., J. Bact., 130:946 (1977)] 및 [Hsiao et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 76:3829 (1979)]의 방법에 따라 수행된다. 그러나, DNA를 세포 내로 도입하는 기타 방법, 예컨대 핵 미세주사, 전기천공, 무손상 세포와의 박테리아 원형질체 융합, 또는 다가양이온, 예를 들어, 폴리브렌, 폴리오르니틴에 의한 방법을 또한 사용할 수 있다. 포유동물 세포의 형질전환을 위한 다양한 기술에 대해서, 문헌 [Keown et al., Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990)] 및 [Mansour et al., Nature, 336:348-352 (1988)]을 참조한다.

[0278] 본원에서의 벡터 내의 DNA를 클로닝 또는 발현시키는데 적절한 숙주 세포에는 원핵생물, 효모, 또는 고급 진핵 세포가 포함된다. 적절한 원핵생물에는 유박테리아(eubacteria), 예컨대 그람-음성 또는 그람-양성 유기체, 예를 들어, 장내세균과(Enterobacteriaceae) 예컨대 이. 콜라이가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 다양한 이. 콜라이 균주, 예컨대 이. 콜라이 K12 균주 MM294 (ATCC 31,446); 이. 콜라이 X11776 (ATCC 31,537); 이. 콜라이 균주 W3110 (ATCC 27,325) 및 K5772 (ATCC 53,635)가 공개적으로 입수 가능하다. 기타 적절한 원핵 숙주 세포에는 장내세균과 예컨대 에쉐리키아(Escherichia), 예를 들어, 이. 콜라이, 엔테로박터(Enterobacter), 에르위니아(Erwinia), 클렙시엘라(Klebsiella), 프로테우스(Proteus), 살모넬라(Salmonella), 예를 들어, 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella typhimurium*), 세라티아(Serratia), 예를 들어, 세라티아 마르세스칸스 (*Serratia marcescans*), 및 시겔라(Shigella), 뿐만 아니라 바실러스(Bacillus) 예컨대 바실러스 서브틸리스 (*B. subtilis*) 및 바실러스 리케니포르미스(*B. licheniformis*) (예를 들어, DD 266,710 (1989년 4월 12일 공개)에 개시된 바실러스 리케니포르미스 41P), 슈도모나스(Pseudomonas) 예컨대 슈도모나스 아에루기노사(*P. aeruginosa*), 및 스트렙토미세스(Streptomyces)가 포함된다. 이러한 예들은 제한적이기보다는 예시적인 것이다. 균주 W3110은 재조합 DNA 생성을 발효에 대한 통상적인 숙주 균주이기 때문에 특히 바람직한 숙주 또는 부모 숙주이다. 바람직하게는, 숙주 세포는 최소량의 단백질분해성 효소를 분비한다. 예를 들어, 균주 W3110이 숙주에 내인성인 단백질을 코딩하는 유전자에서의 유전적 돌연변이를 일으키도록 변형될 수 있고, 이같은 숙주의 예로는 완전한 유전자형 tonA를 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 1A2; 완전한 유전자형 tonA ptr3을 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 9E4; 완전한 유전자형 tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT kan^r을 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 27C7 (ATCC 55,244); 완전한 유전자형 tonA ptr3 phoA E15 (argF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan^r을 갖는 이. 콜라이 W3110 균주 37D6; 비-카나마이신 저항성 degP 결손 돌연변이가 있는 균주 37D6인 이. 콜라이 W3110 균주 40B4; 및 미국 특허 번호 4,946,783 (1990년 8월 7일 등록)에 개시된 돌연변이체 주변세포질 프로테아제가 있는 이. 콜라이 균주가 포함된다. 별법적으로, 시험관내 클로닝 방법, 예를 들어, PCR 또는 기타 핵산 중합효소 반응이 적절하다.

[0279] 원핵생물에 더하여, 진핵생물 미생물 예컨대 필라멘트형 진균 또는 효모가 FGF19-코딩 벡터에 대한 적절한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로미세스 세레비시아이(*Saccharomyces cerevisiae*)가 통상적으로 사용되는 저급 진핵생물 숙주 미생물이다. 기타 미생물에는 스키조사카로미세스 품베(*Schizosaccharomyces pombe*) (문헌 [Beach and Nurse, Nature, 290: 140 [1981]]; EP 139,383 (1985년 5월 2일 공개)); 클루이베로미세스 (*Kluyveromyces*) 숙주 (미국 특허 번호 4,943,529; 문헌 [Fleer et al., Bio/Technology, 9:968-975 (1991)]), 예를 들어, 클루이베로미세스 락티스(*K. lactis*) (MW98-8C, CBS683, CBS4574; 문헌 [Louvencourt et al., J. Bacteriol., 154(2):737-742 [1983]]), 클루이베로미세스 프라길리스(*K. fragilis*) (ATCC 12,424), 클루이베로미세스 불가리쿠스(*K. bulgaricus*) (ATCC 16,045), 클루이베로미세스 위케라미이(*K. wickeramii*)

(ATCC 24,178), 클루이베로미세스 왈티이(*K. waltii*) (ATCC 56,500), 클루이베로미세스 드라소필라룸(*K. drosophilorum*) (ATCC 36,906; 문헌 [Van den Berg et al., Bio/Technology, 8:135 (1990)]), 클루이베로미세스 써모톨러란스(*K. thermotolerans*), 및 클루이베로미세스 마르시아누스(*K. marxianus*); 야로위아(yarrowia) (EP 402,226); 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*) (EP 183,070; 문헌 [Sreekrishna et al., J. Basic Microbiol., 28:265-278 [1988]]); 칸디다(Candida); 트리코데르마 레에시아(*Trichoderma reesia*) (EP 244,234); 뉴로스포라 크라사(*Neurospora crassa*) (문헌 [Case et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:5259-5263 [1979]]); 슈와니오미세스(Schwanniomyces) 예컨대 슈와니오미세스 옥시덴탈리스(*Schwanniomyces occidentalis*) (EP 394,538 (1990년 10월 31일 공개)); 및 필라멘트형 진균, 예를 들어, 뉴로스포라 (*Neurospora*), 페니실리움(*Penicillium*), 톨리포클라디움(*Tolypocladium*) (WO 91/00357 (1991년 1월 10일 공개)), 및 아스페르길루스(*Aspergillus*) 숙주 예컨대 아스페르길루스 니둘란스(*A. nidulans*) (문헌 [Ballance et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 112:284-289 [1983]]; [Tilburn et al., Gene, 26:205-221 [1983]]; [Yelton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1470-1474 [1984]]) 및 아스페르길루스 니게르(*A. niger*) (문헌 [Kelly and Hynes, EMBO J., 4:475-479 [1985]])가 포함된다. 메탄올자화 효모가 본원에서 적절하고, 이는 한세눌라(Hansenula), 칸디다, 클로엑케라(Kloeckera), 피키아, 사카로미세스, 토룰롭시스 (Torulopsis), 및 로도토롤라(Rhodotorula)로 이루어진 속으로부터 선택된 메탄올 상에서 성장할 수 있는 효모를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 이러한 효모 클래스의 예시적인 특정 종의 목록은 문헌 [C. Anthony, The Biochemistry of Methylotrophs. 269 (1982)]에서 확인할 수 있다.

[0280]

글리코실화 키메라 FGF19 폴리펩티드의 발현을 위한 적절한 숙주 세포는 다세포 생물로부터 유래된다. 무척추 동물 세포의 예로는 곤충 세포 예컨대 드로소필라(*Drosophila*) S2 및 스포돕테라(*Spodoptera*) Sf9, 뿐만 아니라 식물 세포가 포함된다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예로는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 및 COS 세포가 포함된다. 더욱 구체적인 예로는 SV40으로 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주 (293 또는 혼탁 배양에서의 성장을 위해 서브클로닝된 293 세포, 문헌 [Graham et al., J. Gen Virol., 36:59 (1977)]; 차이니즈 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, 문헌 [Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)]); 마우스 세르툴리 세포 (TM4, 문헌 [Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980)]); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 및 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51)이 포함된다. 적합한 숙주 세포의 선택은 당업계의 기술 내에 속하는 것으로 간주된다.

[0281]

3. 복제가능한 벡터의 선택 및 사용

[0282]

키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 (예를 들어, cDNA 또는 게놈 DNA)을 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위해 복제가능한 벡터 내로 삽입할 수 있다. 다양한 벡터가 공개적으로 입수가능하다. 벡터는, 예를 들어, 플라스미드, 코스미드, 바이러스 입자, 또는 과자의 형태일 수 있다. 다양한 절차에 의해 적합한 핵산 서열이 벡터 내로 삽입될 수 있다. 일반적으로, 당업계에 공지된 기술을 이용하여 DNA를 적절한 제한 엔도뉴클레아제 부위(들) 내로 삽입한다. 벡터 성분에는 신호 서열, 복제 기원, 하나 이상의 마커 유전자, 인핸서 요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열 중 하나 이상이 일반적으로 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 이러한 성분들 중 하나 이상을 함유하는 적절한 벡터의 구축에는 당업자에게 공지된 표준 결찰 기술이 이용된다.

[0283]

키메라 FGF19 폴리펩티드는 재조합에 의해 직접적으로, 뿐만 아니라 이종성 폴리펩티드와의 융합 폴리펩티드로서 생산될 수 있고, 상기 이종성 폴리펩티드는 신호 서열, 또는 성숙형 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에 특정 절단 부위가 있는 기타 폴리펩티드일 수 있다. 일반적으로, 신호 서열은 벡터 성분일 수 있거나, 또는 벡터 내로 삽입되는 키메라 FGF19 폴리펩티드-코딩 DNA의 일부분일 수 있다. 신호 서열은 FGF19 또는 FGF21, 예컨대 hFGF19 또는 hFGF21의 원래의 신호 서열일 수 있다. 따라서, 이같은 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 적어도 프리-hFGF19의 N-말단 부분, 예컨대 적어도 서열 3의 잔기 1-22를 포함할 수 있다. 이같은 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드는 적어도 프리-hFGF1의 N-말단 부분, 예컨대 적어도 서열 4의 잔기 1-28을 포함할 수 있다.

[0284]

신호 서열은, 예를 들어 알칼리성 포스파타제, 페니실리나제, 1pp, 또는 열-안정성 장독소 II 리더의 군으로부터 선택된 원핵생물 신호 서열일 수 있다. 효모 분비를 위해, 신호 서열은, 예를 들어, 효모 인버타제 리더, 알파 인자 리더 (사카로미세스 및 클루이베로미세스 α -인자 리더를 포함하고, 후자는 미국 특허 번호 5,010,182에 기재되어 있음), 또는 산 포스파타제 리더, 칸디다 알비칸스(*C. albicans*) 글루코아밀라제 리더 (EP 362,179 (1990년 4월 4일 공개)), 또는 WO 90/13646 (1990년 11월 15일 공개)에 기재된 신호일 수 있다. 포유동물 세포 발현에서, 포유동물 신호 서열, 예컨대 동일하거나 관련된 종의 분비형 폴리펩티드로부터의 신호

서열, 뿐만 아니라 바이러스 분비 리더를 사용하여 단백질의 분비를 지시할 수 있다.

- [0285] 발현 벡터 및 클로닝 벡터 둘 모두 벡터가 하나 이상의 선택된 숙주 세포 내에서 복제할 수 있도록 하는 핵산 서열을 함유한다. 다양한 박테리아, 효모, 및 바이러스에 대해 이같은 서열이 주지되어 있다. 플라스미드 pBR322로부터의 복제 기원이 대부분의 그램-음성 박테리아에 대해 적절하고, 2 μ 플라스미드 기원이 효모에 적절하며, 다양한 바이러스 기원 (SV40, 폴리오마, 아데노바이러스, VSV 또는 BPV)이 포유동물 세포에서의 클로닝 벡터에 유용하다.
- [0286] 발현 벡터 및 클로닝 벡터는 선택 마커로 또한 명명되는 선택 유전자를 전형적으로 함유할 것이다. 전형적인 선택 유전자는 (a) 항생제 또는 기타 독소, 예를 들어, 암피실린, 네오마이신, 메토트렉세이트, 또는 테트라사이클린에 대한 저항성을 부여하거나, (b) 영양요구성 결핍을 보완하거나, 또는 (c) 복합 배지에서 이용가능하지 않은 결정적인 영양소를 공급하는 단백질을 코딩하고, 예를 들어, 바실러스의 경우 D-알라닌 라세마제를 코딩하는 유전자이다.
- [0287] 포유동물 세포에 대한 적절한 선택 마커의 예는 FGF19-코딩 핵산을 받아들이는데 적격인 세포의 확인을 가능하게 하는 것, 예컨대 DHFR 또는 티미딘 키나제이다. 야생형 DHFR이 사용되는 경우 적합한 숙주 세포는 문헌 [Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)]에 기재된 바와 같이 제조 및 증식된, DHFR 활성이 결핍된 CHO 세포주이다. 효모에서 사용하기에 적절한 선택 유전자는 효모 플라스미드 YRp7에 존재하는 trp1 유전자이다 (문헌 [Stinchcomb et al., Nature, 282:39 (1979)]; [Kingsman et al., Gene, 7:141 (1979)]; [Tschemper et al., Gene, 10: 157 (1980)]). trp1 유전자는 트립토판에서 성장하는 능력이 없는 효모의 돌연변이체 균주, 예를 들어, ATCC 번호 44076 또는 PEP4-1에 대한 선택 마커를 제공한다 (문헌 [Jones, Genetics, 85:12 (1977)]).
- [0288] 발현 벡터 및 클로닝 벡터는 FGF19-코딩 핵산 서열에 작동가능하게 연결되어 mRNA 합성을 지시하는 프로모터를 일반적으로 함유한다. 다양한 잠재적인 숙주 세포에 의해 인식되는 프로모터들이 주지되어 있다. 원핵생물 숙주와 사용하기에 적절한 프로모터로는 β-락타마제 및 락토스 프로모터 시스템 (문헌 [Chang et al., Nature, 275:615 (1978)]; [Goeddel et al., Nature, 281:544 (1979)]), 일칼리성 포스파타제, 트립토판 (trp) 프로모터 시스템 (문헌 [Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980)]; EP 36,776), 및 하이브리드 프로모터 예컨대 tac 프로모터 (문헌 [deBoer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983)])가 포함된다. 박테리아 시스템에서 사용하기 위한 프로모터는 FGF19를 코딩하는 DNA에 작동가능하게 연결된 샤인-달가르노 (S.D.) 서열을 또한 함유할 것이다.
- [0289] 효모 숙주와 함께 사용하기에 적절한 프로모터 서열의 예로는 3-포스포글리세레이트 키나제 (문헌 [Hitzeman et al., J. Biol. Chem., 255:2073 (1980)]) 또는 기타 당분해성 효소 (문헌 [Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968)]; [Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978)]), 예컨대 에놀라제, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 혼소키나제, 피루베이트 디카르복실라제, 포스포프룩토키나제, 글루코스-6-포스페이트 이소미라제, 3-포스포글리세레이트 뮤타제, 피루베이트 키나제, 트리오스포스페이트 이소미라제, 포스포글루코스 이소미라제, 및 글루코키나제에 대한 프로모터가 포함된다.
- [0290] 성장 조건에 의해 전사가 제어되는 추가적인 장점이 있는 유도성 프로모터인 기타 효모 프로모터는 알콜 데히드로게나제 2, 이소시토크롬 C, 산 포스파타제, 질소 대사와 관련된 분해성 효소, 메탈로티오네인, 글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제, 및 말토스 및 갈락토스 활용을 담당하는 효소에 대한 프로모터 영역이다. 효모 발현에서 사용하기 위한 적절한 벡터 및 프로모터가 EP 73,657에 추가로 기재되어 있다.
- [0291] 포유동물 숙주 세포에서의 벡터로부터의 전사는, 예를 들어, 폴리오마 바이러스, 계두 바이러스 (UK 2,211,504 (1989년 7월 5일 공개)), 아데노바이러스 (예컨대 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 사이토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 원숭이(Simian) 바이러스 40 (SV40)과 같은 바이러스의 계놈으로부터, 이종성 포유동물 프로모터, 예를 들어, 액틴 프로모터 또는 이뮤노글로불린 프로모터로부터, 그리고 열-충격(heat-shock) 프로모터로부터 수득된 프로모터에 의해 제어되고, 단, 이같은 프로모터들은 숙주 세포 시스템과 상용성이다.
- [0292] 인핸서 서열을 벡터 내로 삽입함으로써 고급 진핵생물에 의한 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 DNA의 전사가 증가될 수 있다. 인핸서는 프로모터 상에 작용하여 전사를 증가시키는, DNA의 시스(cis)-작용 요소 (일반적으로 약 10 내지 300 bp)이다. 많은 인핸서 서열이 포유동물 유전자 (글로빈, 엘라스타제, 알부민, α-태아단백질, 및 인슐린)로부터 현재 공지되어 있다. 그러나, 전형적으로, 진핵 세포 바이러스로부터의 인핸서가 사용

될 것이다. 예로는 복제 기원의 후기 측면 상의 SV40 인핸서 (bp 100-270), 사이토메갈로바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 기원의 후기 측면 상의 폴리오마 인핸서, 및 아데노바이러스 인핸서가 포함된다. 인핸서는 키메라 FGF19 폴리펩티드 코딩 서열에 대해 5' 또는 3'인 위치에서 벡터 내로 스플라이싱될 수 있지만, 바람직하게는 프로모터로부터 5'인 부위에 위치한다.

[0293] 진핵 숙주 세포 (효모 세포, 진균 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 동물 세포, 인간 세포, 또는 기타 다세포 유기체로부터의 유핵 세포)에서 사용되는 발현 벡터는 전사 종결 및 mRNA 안정화에 필요한 서열을 또한 함유할 것이다. 이같은 서열은 진핵생물 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 5', 그리고 경우에 따라 3' 비번역 영역으로부터 통상적으로 입수 가능하다. 이러한 영역은 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 mRNA의 비번역 부분 내에 폴리아데닐화 단편으로서 전사되는 뉴클레오티드 절편을 함유한다.

[0294] 재조합 척추동물 세포 배양에서의 키메라 FGF19 폴리펩티드 합성에 대해 개조하기에 적절한 또 다른 방법, 벡터 및 숙주 세포는 문헌 [Gething et al., Nature, 293:620-625 (1981)]; [Mantei et al., Nature, 281:40-46 (1979)]; EP 117,060; 및 EP 117,058에 기재되어 있다.

4. 유전자 증폭/발현 검출

[0296] 본원에서 제공된 서열을 기초로, 적합하게 표지된 프로브를 사용하여, 샘플에서 직접적으로, 예를 들어, 통상적인 서던 블롯팅, mRNA의 전사를 정량하는 노던 블롯팅 (문헌 [Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980)]), 도트(dot) 블롯팅 (DNA 분석), 또는 원위치 혼성화에 의해 유전자 증폭 및/또는 발현을 측정할 수 있다. 별법적으로, DNA 듀플렉스, RNA 듀플렉스, 및 DNA-RNA 하이브리드 듀플렉스 또는 DNA-단백질 듀플렉스를 비롯한 특정 듀플렉스를 인식할 수 있는 항체를 사용할 수 있다. 그 다음에, 항체가 표지될 수 있고, 검정이 수행될 수 있으며, 이때 듀플렉스가 표면에 결합되어, 표면 상에 듀플렉스가 형성되면 듀플렉스에 결합된 항체의 존재를 검출할 수 있다.

[0297] 별법적으로, 유전자 발현을 면역학적 방법, 예컨대 세포 또는 조직 절편의 면역조직화학적 염색 및 세포 배양액 또는 체액의 검정에 의해 측정하여, 유전자 산물의 발현을 직접적으로 정량할 수 있다. 면역조직화학적 염색 및/또는 샘플액의 검정에 유용한 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, 임의의 포유동물에서 제조될 수 있다. 간편하게, 키메라 FGF19 폴리펩티드에 대해, 또는 본원에서 제공된 DNA 서열을 기초로 하는 합성 웨비드에 대해, 또는 특정 항체 애피토프를 코딩하고 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 DNA에 융합된 외인성 서열에 대해 항체를 제조할 수 있다.

5. 폴리펩티드 정제

[0299] 여러 형태의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 배양 배지로부터 또는 숙주 세포 용해물로부터 회수할 수 있다. 막-결합형인 경우, 적절한 디터전트 용액 (예를 들어, 트리톤(Triton)-X 100)을 사용하여 또는 효소적 절단에 의해 막으로부터 이를 방출시킬 수 있다. 키메라 FGF19 폴리펩티드의 발현에 사용된 세포를 다양한 물리적 또는 화학적 수단, 예컨대 동결-해동 사이클링, 초음파처리, 기계적 파괴 또는 세포 용해제에 의해 파괴시킬 수 있다.

[0300] 키메라 FGF19 폴리펩티드를 재조합 세포 단백질 또는 폴리펩티드로부터 정제하는 것이 바람직할 수 있다. 하기의 절차는 예시적인 적절한 정제 절차이다: 이온-교환 칼럼 상에서의 분획화; 에탄올 침전; 역상 HPLC; 실리카 또는 양이온-교환 수지 예컨대 DEAE 상에서의 크로마토그래피; 크로마토포커싱; SDS-PAGE; 황산암모늄 침전; 예를 들어 세파텍스 G-75를 사용하는 겔 여과; IgG와 같은 오염물을 제거하기 위한 단백질 A 세파로스 칼럼; 및 애피토프 태그가 부착된 형태의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 결합을 위한 금속 킬레이트화 칼럼. 다양한 단백질 정제 방법을 이용할 수 있고, 이같은 방법들은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Deutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990)]; [Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)]에 기재되어 있다. 선택된 정제 단계(들)은, 예를 들어, 사용된 생산 공정의 성질, 및 생산된 특정 키메라 FGF19 폴리펩티드에 좌우될 것이다.

X. 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 및 이의 용도

[0302] 본 발명은, 또 다른 측면에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 (또는 이의 상보체) (또는 "키메라 FGF19 핵산")을 포함한다. 본 발명의 키메라 FGF19 핵산은 혼성화 프로브로서의 용도, 염색체 및 유전자 지도작성에서의 용도 및 안티-센스 RNA 및 DNA의 생성에서의 용도가 포함되는 분자 생물학 분야에서의 다양한 용도가 있다. 키메라 FGF19 핵산은 본원에 기재된 재조합 기술에 의한 키메라 FGF19 폴리펩티드의 제조에 또한 유용할 것이다.

[0303] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 하나 이상의 에피토프 태그를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 N-말단에 에피토프 태그가 위치한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그가 위치한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 N-말단에 에피토프 태그가 위치한다.

[0304] 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드는 하나 이상의 에피토프 태그를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 N-말단에 에피토프 태그가 위치한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그가 위치한다. 일부 실시양태에서, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 N-말단에 에피토프 태그가 위치한다. 일부 실시양태에서, 에피토프 태그는 아미노산 서열 DYKDDDK (서열 279)를 포함한다.

[0305] 예시적인 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 핵산은 이하의 서열을 포함한다.

```
CACCCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTGGGGCCAAGTCCGCAGCGG  
TACCTCTACACCTCCGGCCCCACGGGCTCTCCAGCTGCTTCCTGCGCATCCGTGCCG  
ACGGCGTCGTGGACTGCGCGGGCAGAGCGCGCACAGTTGCTGGAGATCAAG  
GCAGTCGCTCTCGGGACCGTGGCATCAAGGGCGTGCACAGCGTGCCTACCTCTGC  
ATGGGCGCCAGCGCAAGATGCAGGGCTGCTCAGTACTCGGAGGAAGACTGTGC  
TTTCGAGGAGGAGATCCGCCAGATGGCTACAATGTGTACCGATCCGAGAACCG  
CCTCCCGGTCTCCCTGAGCAGTGCAAACAGCGGAGCTGTACAAGAACAGAGGCTT  
TCTTCCACTCTCTCATTCCCTGCCATGCTGCCATGGTCCCAGAGGAGCCTGAGGAC  
CTCAGGGCCACTTGGAAATCTGACATGTTCTCTCGCCCCCTGGAGACCGACAGCATG  
GACCCATTGGGCTTGTCAACGGACTGGAGGCCGTGAGGAGTCCCAGCTTGAGAAG
```

(서열 7)

[0306] 이러한 예시적인 핵산 서열은 표 3에 제시된 바와 같은 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-2에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩한다.

[0308] 또 다른 예시적인 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 핵산은 이하의 서열을 포함한다.

```
ATGGACTCGGACGAGACCGGGTTCGAGCACTCAGGcTGTGGTTCTGTGCTGGCT  
GGTCTCTGCTGGAGCCTGCCAGGCACACCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTGC  
AATTGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTACCTCTACACCTCCGGCCCCACGGGCTCT  
CCAGCTGCTCCCTGCGCATCCGTGCCAGGGCGTGGACTCGCGCGGGCCAGA  
GCGCGCACAGTTGCTGGAGATCAAGGCAGTCGCTCTGCGGACCGTGGCATCAAG  
GCGTGCACAGCGTGCCTGACCTCTGCATGGCGCCAGGGCAAGATGCAGGGCTG  
CTTCAGTAUTGGAGGAAGACTGTGCTTCGAGGAGGAGATCCGCCAGATGGCTAC  
AATGTGTACCGATCCGAGAAGCACCGCCCTCCGGTCTCCCTGAGCAGTGCAAACAG  
CGGCAGCTGTACAAGAACAGAGGCTTCTCACTCTCATTCCCTGCCATGCTGC  
CCATGGTCCCAGAGGAGCCTGAGGACCTCAGGGGCCACTTGGAAATCTGACATGTTCT  
CTTCGCCCTGGAGACCGACAGCATGGACCCATTGGCTTGTCAACGGACTGGAGG  
CCGTGAGGAGTCCCAGCTTGAGAAGGACTACAAAGACGATGACGACAAGTGA (서열
```

281)

[0310] 이러한 예시적인 핵산 서열은 표 3에 제시된 바와 같은 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-2의 서열을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩한다. 이러한 폴리펩티드는 C-말단 에피토프 태그 DYKDDDK (서열 280) 및 hFGF21 폴리펩티드의 N-말단 천연 신호 서열 (MDSDETGFHSGLWVSVLAGLLGACQA; 서열 282)을 또한 포함한다.

[0311] 또 다른 예시적인 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 핵산은 이하의 서열을 포함한다.

ATGCGGAGCGGGTGTGTGGTCCACGTATGGATCCTGGCCGCCTCTGGCTGGCC
 GTGGCCGGGCCCGCCCTCGCCTTCTCGACGCCGGCCCCACGTGCACTACGGCTGG
 GGCGACCCCCTCCGCCTGCCACCTGTACACAGATGATGCCAGCAGACAGAAGC
 CCACCTGGAGATCAGGGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAGCCCC
 AAAGTCTCCTGCAGCTGAAAGCCITGAAGCCGGAGTTATTCAAATCTGGGAGTCA
 AGACATCCAGGTTCTGTGCCAGGCCAGATGGGCCCTGTATGGATCGCTCCACT
 TTGACCCCTGAGGCCTGCAGCTCCGGAGCTGCTTGTAGGACGGATAAACATGTT
 ACCAGTCCGAAGCCCACGCCCTCCGCTGCACCTGCCAGGGAAACAAGTCCCCACACC
 GGGACCCCTGCACCCCGAGGACCGAGCTCGCTTGTCCACTACCAGGCCCTGGGGGG
 CACTCCGGAGCCACCCGGAATCCTGGCCCCCAGCCCCCGATGTGGGCTCCTCGG
 ACCCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCGAAGCCCCAGCTACGCTTCCGACT
 ACAAGGACGACGATGACAAGTGA (서열 283)

[0312]

[0313] 이러한 예시적인 핵산 서열은 표 6에 제시된 바와 같은 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-2의 서열을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩한다. 이러한 폴리펩티드는 C-말단 에피토프 태그 DYKDDDK (서열 280) 및 hFGF19 폴리펩티드의 N-말단 천연 신호 서열 (MRSGVVHVWILAGLWALAVG; 서열 284)을 또한 포함한다.

[0314]

[0314] 또 다른 예시적인 실시양태에서, 본 발명의 키메라 FGF19 핵산은 이하의 서열을 포함한다.

ATGGA~~c~~TCGGACGAGACCGGGTCGAGCACTCAGGGCTGTGGGTTCTGTGCTGGCT
 GGTCTTCTGCTGGAGGCCTGCCAGGCACACCCCACCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGC
 AATTGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTACCTCTACACAGATGATGCCAGCAGACA
 GAAGCCCACCTGGAGATCAGGGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAG
 CCCCAGAAGTCTCCTGCAGCTGAAAGCCCTGAAGCCGGAGTTATTCAAATCTTGGG
 AGTCAAGACATCCAGGTTCTGTGCCAGCGGCCAGATGGGCCCTGTATGGATCGCT
 CCACITTGACCCCTGAGGCCTGCAGCTCCGGAGCTGCTTGTAGGACGGATAACAA
 TGTTTACAGTCCGAAGCCACGGCCTCCGCTGCACCTGCCAGGGAAACAAGTCCCC
 ACACCGGGACCCCTGCACCCCGAGGACCAAGCTCGCTTCCACTCTCTCATTTCTG
 CCCATGCTGCCATGGTCCAGAGGACCTGAGGACCTCAGGGGCCACTTGAATCT
 GACATGTTCTTCGCCCCGGAGACCGACAGCATGGACCCATTGGGTTGTCACC
 GGACTGGAGGCCGTGAGGAGTCCCAGTTGAGAAGGACTACAAAGACGATGACGA
 CAAGTGA (서열 285)

[0315]

[0316] 이러한 예시적인 핵산 서열은 표 3에 제시된 바와 같은 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-13의 서열을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩한다. 이러한 폴리펩티드는 C-말단 에피토프 태그 DYKDDDK (서열 280) 및 hFGF21 폴리펩티드의 N-말단 천연 신호 서열 (MDSDETGFHSGLWVSVLAGLLGACQA; 서열 282)을 또한 포함한다.

[0317]

[0317] hFGF19 유전자의 전장 천연 핵산 서열 (서열 5), FGF21 유전자의 전장 천연 핵산 서열 (서열 6), 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드의 전장 천연 핵산 서열, 또는 상기의 것들 중 임의의 것의 일부분이 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 검출 또는 스크리닝하기 위한 혼성화 프로브로서 사용될 수 있다. 임의적으로, 프로브의 길이는 염기 약 20개 내지 약 50개일 것이다. 예를 들어, 스크리닝 방법은 염기 약 40개의 선택된 프로브를 합성하기 위해 공지된 DNA 서열을 사용하여 FGF19 유전자의 코딩 영역을 단리하는 것을 포함할 것이다. 방사성 뉴클레오티드 예컨대 ^{32}P 또는 ^{35}S , 또는 효소적 표지 예컨대 아비딘/비오틴 커플링 시스템을 통해 프로브에 커플링된 알칼리성 포스파타제를 비롯한 다양한 표지로 혼성화 프로브를 표지할 수 있다. 본 발명의 FGF19 유전자의 서열에 상보적인 서열을 갖는 표지된 프로브를 인간 cDNA, 게놈 DNA 또는 mRNA의 라이브러리를 스크리닝하는데 사용하여, 이같은 라이브러리의 어떤 구성원에 프로브가 혼성화하는지를 결정할 수 있다. 혼성화 기술은 하기의 실시예에서 추가로 상세하게 기술된다.

[0318]

본원에 기재된 방법을 이용하여, 본 출원에 개시된 임의의 EST 서열이 프로브로 유사하게 사용될 수 있다.

[0319]

[0319] 키메라 FGF19 핵산의 또 다른 유용한 단편에는 표적 키메라 FGF19 mRNA (센스) 또는 키메라 FGF19 DNA (안티센스) 서열에 결합할 수 있는 단일 가닥 핵산 서열 (RNA 또는 DNA)을 포함하는 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드가 포함된다. 본 발명에 따르면, 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드는 키메라 FGF19 DNA의 코딩 영역의 단편을 포함한다. 이같은 단편은 일반적으로 약 14개 이상의 뉴클레오티드, 바람직하게는 약 14개 내지

30개의 뉴클레오티드를 포함한다. 소정의 단백질을 코딩하는 cDNA 서열을 기초로 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드를 유도하는 능력이, 예를 들어, 문헌 [Stein and Cohen, Cancer Res. 48:2659, 1988] 및 [van der Krol et al., BioTechniques, 6:958, 1988]에 기재되어 있다.

[0320] 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드가 표적 핵산 서열에 결합하는 것은 듀플렉스의 형성을 초래하고, 이는 강화된 듀플렉스 분해, 전사 또는 번역의 조기 종결을 비롯한 여러 수단 중 하나에 의해 또는 기타 수단에 의해 표적 서열의 전사 또는 번역을 차단한다. 따라서, 안티센스 올리고뉴클레오티드를 사용하여, 키메라 FGF19 폴리펩티드의 발현을 차단할 수 있다. 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드는 변형된 당-포스포디에스테르 골격 (또는 기타 당 연결, 예컨대 WO 91/06629에 기재된 것들)이 있는 올리고뉴클레오티드를 추가로 포함하고, 이 때 이같은 당 연결은 내인성 뉴클레아제에 대해 저항성이다. 저항성 당 연결이 있는 이같은 올리고뉴클레오티드는 생체 내에서 안정적이지만 (즉, 효소적 분해에 대해 저항할 수 있음), 표적 뉴클레오티드 서열에 결합할 수 있도록 서열 특이성을 유지한다.

[0321] 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드의 또 다른 예에는 유기 모이어티, 예컨대 WO 90/10048에 기재된 것들, 및 표적 핵산 서열에 대한 올리고뉴클레오티드의 친화력을 증가시키는 또 다른 모이어티, 예컨대 폴리-(L-리신)에 공유적으로 연결된 올리고뉴클레오티드가 포함된다. 추가적으로, 삽입제(intercalating agent), 예컨대 엘립티신, 및 알킬화제 또는 금속 착물이 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드에 부착되어, 표적 뉴클레오티드 서열에 대한 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드의 결합 특이성을 변형시킬 수 있다.

[0322] CaPO₄-매개 DNA 형질감염, 전기천공을 예로 들 수 있는 임의의 유전자 전달 방법에 의해, 또는 유전자 전달 벡터 예컨대 앱스타인-바르(Epstein-Barr) 바이러스를 사용함으로써, 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드를 표적 핵산 서열을 함유하는 세포 내로 도입할 수 있다. 바람직한 절차에서, 안티센스 또는 센스 올리고뉴클레오티드가 적절한 레트로바이러스 벡터 내로 삽입된다. 표적 핵산 서열을 함유하는 세포를 이러한 재조합 레트로바이러스 벡터와 생체 내에서 또는 생체 외에서 접촉시킨다. 적절한 레트로바이러스 벡터에는 뮤린 레트로바이러스 M-MuLV, N2 (M-MuLV로부터 유래된 레트로바이러스), 또는 DCT5A, DCT5B 및 DCT5C로 명명된 이중 카페 벡터로부터 유래된 것들이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다 (WO 90/13641 참조).

[0323] WO 91/04753에 기재된 바와 같이, 리간드 결합 분자와의 접합체의 형성에 의해 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 표적 뉴클레오티드 서열을 함유하는 세포 내로 또한 도입할 수 있다. 적절한 리간드 결합 분자에는 세포 표면 수용체, 성장 인자, 기타 시토카인, 또는 세포 표면 수용체에 결합하는 기타 리간드가 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 바람직하게는, 리간드 결합 분자의 접합은 자신의 상응하는 분자 또는 수용체에 결합하는 리간드 결합 분자의 능력을 실질적으로 방해하지 않거나, 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 이의 접합체 형태가 세포 내로 진입하는 것을 차단하지 않는다.

[0324] 별법적으로, WO 90/10448에 기재된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드-지질 복합체의 형성에 의해 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 표적 핵산 서열을 함유하는 세포 내로 도입할 수 있다. 바람직하게는, 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드-지질 복합체가 내인성 리파제에 의해 세포 내에서 해리된다.

[0325] 프로브를 PCR 기술에서 또한 사용하여, 밀접하게 관련된 키메라 FGF19 코딩 서열들의 확인을 위한 서열들의 폴(pool)을 생성시킬 수 있다.

[0326] 키메라 FGF19 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 유전자 요법에서 또한 사용할 수 있다. 유전자 요법 용도에서, 예를 들어, 결손 유전자의 교체를 위해, 치료적으로 효과적인 유전자 생성물의 생체내 합성을 달성하기 위하여 유전자가 세포 내로 도입된다. "유전자 요법"에는 단일 쳐치에 의해 지속적인 효과가 달성되는 통상적인 유전자 요법, 및 치료적으로 효과적인 DNA 또는 mRNA의 1회 또는 반복 투여가 수반되는 유전자 치료제의 투여 둘 모두가 포함된다. 안티센스 RNA 및 DNA를 생체 내에서 특정 유전자의 발현을 차단하기 위한 치료제로서 사용할 수 있다. 세포막에 의한 제한된 흡수로 인한 낮은 세포내 농도에도 불구하고, 짧은 안티센스 올리고뉴클레오티드가 세포 내로 이입될 수 있고 여기서 억제제로 작용한다는 것이 이미 밝혀져 있다 (문헌 [Zamecnik et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:4143-4146 [1986]]). 예를 들어, 음성 전하를 띠는 포스포디에스테르 기를 전하를 띠지 않는 기로 치환함으로써, 올리고뉴클레오티드를 변형시켜 이의 흡수를 강화시킬 수 있다.

[0327] 핵산을 살아있는 세포로 도입하는데 이용가능한 다양한 기술이 있다. 이러한 기술은 핵산이 배양된 세포 내로 시험관 내에서 전달되는지 또는 의도되는 숙주의 세포에 생체내 전달되는지 여부에 따라 달라진다. 핵산을 시험관 내에서 포유동물 세포 내로 전달하는데 적절한 기술에는 리포솜, 전기천공, 미세주사, 세포 융합, DEAE-덱스트란, 인산칼슘 침전 방법 등의 사용이 포함된다. 현재 바람직한 생체내 유전자 전달 기술에는 바이러스 (통

상적으로는 레트로바이러스) 벡터로의 형질감염 및 바이러스 코트 단백질-리포솜 매개 형질감염이 포함된다 (문헌 [Dzau et al., Trends in Biotechnology 11, 205-210 [1993]]). 일부 경우에는, 표적 세포를 표적화하는 작용제, 예컨대 세포 표면 막 단백질 또는 표적 세포에 특이적인 항체, 표적 세포 상의 수용체에 대한 리간드 등을 핵산 공급원에 제공하는 것이 바람직하다. 리포솜이 사용되는 경우, 세포내 이입과 관련된 세포 표면 막 단백질에 결합하는 단백질, 예를 들어, 특정 세포 유형에 대해 굴성인 캡시드 단백질 또는 이의 단편, 순환시내재화가 일어나는 단백질에 대한 항체, 세포내 국소화를 표적으로 하고 세포내 반감기를 강화시키는 단백질이 표적화 및/또는 흡수 촉진에 사용될 수 있다. 수용체-매개 세포내 이입 기술은, 예를 들어, 문헌 [Wu et al., J. Biol. Chem. 262, 4429-4432 (1987)] 및 [Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 3410-3414 (1990)]에 기재되어 있다. 유전자 마킹(marking) 및 유전자 요법 프로토콜에 관한 리뷰를 위해, 문헌 [Anderson et al., Science, 256, 808-813 (1992)]를 참조한다.

[0328] XI. 제조품

[0329] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 상기 기재된 바와 같은 대사-관련 장애, 상태 또는 증상을 치료하는데 유용한 물질을 함유하는 제조품이 제공된다. 바람직하게는, 제조품은 (a) 본원에 기재된 키메라 FGF19 폴리펩티드 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 용기 내에 포함하는 용기; 및 (b) 이러한 대사-관련 장애, 상태 또는 증상을 앓고 있거나 이를 나타내는 개체에게 조성물을 투여하는 것에 대한 설명서가 있는 포장 삽입물을 포함한다.

[0330] 일부 실시양태에서, 개체는 대사-관련 장애, 상태 또는 증상이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 대사-관련 장애, 상태 또는 증상이 발달될 위험이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 (a) 남성의 경우 약 102 cm 이상, 여성의 경우 약 88 cm 이상의 허리 둘레, (b) 약 150 mg/dl 이상의 공복 트리글리세리드, (c) 약 95 mg/dl 이상의 공복 글루코스, 및 (d) 높은 수준의 산화 LDL로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 특징이 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 당뇨병과 관련된 염증이 추가로 있다. 일부 실시양태에서, 개체는 야간 공복 후의 혈당 수준이 약 95 mg/dl 이상이다. 일부 실시양태에서, 개체는 야간 공복 후의 혈당 수준이 약 126 mg/dl 이상이다. 일부 실시양태에서, 개체는 2시간 경구 내당능 검사 후의 혈당 수준이 약 140 mg/dl이다. 일부 실시양태에서, 개체는 2시간 경구 내당능 검사 후의 혈당 수준이 약 200 mg/dl이다. 일부 실시양태에서, 개체는 당뇨병 전기이다. 일부 실시양태에서, 개체는 당뇨병에 걸려 있다. 일부 실시양태에서, 당뇨병은 제I형 당뇨병, 제II형 당뇨병, 및 임신 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 당뇨병은 제II형 당뇨병이다.

[0331] 제조품은 용기, 및 용기 상의 또는 용기와 조합된 표지 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적절한 용기에는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기 등이 포함된다. 다양한 물질 예컨대 유리 또는 플라스틱으로부터 용기가 형성될 수 있다. 용기는 다발성 경화증을 치료하는데 효과적인 조성물을 보유 또는 함유하고, 멀균 접근 포트가 있을 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하주사 바늘이 관통가능한 마개가 있는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 내의 하나 이상의 활성제는 키메라 FGF19 폴리펩티드이다. 표지 또는 포장 삽입물은 제공되는 항체 및 임의의 기타 약물의 투여량 및 간격에 관한 구체적인 지침과 함께 조성물이 대사-관련 장애, 상태 또는 증상을 앓고 있는 개체에서 이를 치료하는데 사용된다는 것을 가리킨다. 제조품은 제약상 허용되는 희석제, 완충제, 예컨대 주사용 정균수 (BWFI), 포스페이트-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 제조품은 기타 완충제, 희석제, 필터, 바늘, 및 주사기를 포함하여, 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 기타 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0332] 임의적으로, 본원의 제조품은, 치료용 폴리펩티드 이외의 제2 작용제를 포함하고 이같은 작용제로 포유동물을 치료하는 것에 대한 설명서를 추가로 포함하는 용기를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 작용제는 항염증제, 항당뇨병제, 및/또는 "스타틴" 클래스의 콜레스테롤-저하 약물이다. 일부 실시양태에서, 제2 활성제는 인슐린이다. 일부 실시양태에서, 인슐린은 속성 작용 인슐린, 단기 작용 인슐린, 정규 작용 인슐린, 중간 작용 인슐린 또는 장기 작용 인슐린이다. 일부 실시양태에서, 인슐린은 휴마로그, 리스프로, 노보로그, 애피드라, 휴몰린, 아스파르트, 정규 인슐린, NPH, 랜데, 울트라렌데, 란투스, 글라르진, 레베미르, 또는 디테미르이고/이거나 이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 활성제는 스타틴이다. 일부 실시양태에서, 스타틴은 아토르바스타틴 (예를 들어, 리피토르 또는 토르바스트), 세리바스타틴 (예를 들어, 리포바이 또는 바이콜), 플루바스타틴 (예를 들어, 레스콜 또는 레스콜 XL), 로바스타틴 (예를 들어, 메바코르, 알토코르, 또는 알토프레브), 메바스타틴, 피타바스타틴 (예를 들어, 리발로 또는 피타바), 프라바스타틴 (예를 들어, 프라바콜, 셀렉틴, 또는 리포스탯), 로수바스타틴 (예를 들어, 크레스토르), 심바스타틴 (예를 들어, 조코르 또는 리펙스), 비토린, 애드비

코르, 베실레이트 카드뮴 또는 심코르이고/이거나 이를 포함한다.

[0333] "포장 삽입물"은 적응증, 용법, 투여량, 투여, 금기, 포장된 제품과 조합될 기타 치료 제품, 및/또는 이같은 치료 제품의 사용에 관련된 경고 등에 관한 정보를 함유하는, 치료 제품의 상업적 포장에 관례적으로 포함되는 설명서를 지칭하도록 사용된다.

[0334] 하기의 실시예는 설명 목적으로만 제공되고, 어떠한 방식으로도 본 발명의 범주를 제한하도록 의도되지 않는다.

[0335] 본 명세서에서 인용된 모든 특허 및 참고 문헌은 전문이 참고로 본원에 포함된다.

실시예

[0337] 실시예에서 언급된 시약은 달리 지시되지 않는 한 제조사의 설명서에 따라 사용되었다. ATCC 접속 번호에 의해 하기의 실시예에서, 그리고 명세서 전반에 걸쳐 확인되는 세포의 공급원은 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (버지니아주 머내서스)이다. 달리 언급되지 않는 한, 37°C에서 5% CO₂ 하에 10% 소 태아 혈청 (FBS)이 보충된 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM)에서 세포를 배양하였다.

실시예 1: 키메라 및 천연 FGF 폴리펩티드의 KLB-비의존적 FGFR 결합 활성

[0339] 본 발명의 키메라 FGF 폴리펩티드의 시험관내 FGF 수용체-결합 활성을 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA)을 사용하여 측정하였다. 도 3A (상부)를 참조하면, FGF 수용체 (FGFR) 시험관내 결합 활성을 측정하기 위한 ELISA 및 이의 상응하는 대조군의 개략도가 도시되어 있다.

[0340] 인간 IgG-Fc 단편에 대해 특이적인 모노클로날 항체 (잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 미국 웬실베니아주 웨스트 그로브)를 100 μl/웰의 2 μg/ml 항체 용액과 함께 밤새 인큐베이션하여 맥시소르프(Maxisorp)TM 편평 바닥 96-웰 플레이트 (눈크(Nunc), 씨모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific), 뉴욕주 로체스터)의 웰에 고정시켰다. 그 후, 각각의 웰을 1 μg/ml의 FGFR4-Fc (인간 IgG₁ Fc 단편에 융합된 인간 FGFR4 세포외 도메인을 포함하는 재조합 폴리펩티드; 카탈로그 번호 685-FR-050, R&D 시스템즈 인코포레이티드(R&D Systems, Inc.), 미네소타주 미니애폴리스) 또는 1 μg/ml의 FGFR1c-Fc (인간 IgG₁ Fc 단편에 융합된 인간 FGFR1c 세포외 도메인을 포함하는 재조합 폴리펩티드; 카탈로그 번호 658-FR-050, R&D 시스템즈)과 함께 인큐베이션하였다.

[0341] 표면에 고정된 FGFR4-Fc 또는 FGFR1c-Fc 폴리펩티드를 1 μg/ml, 0.4 μg/ml, 0.16 μg/ml, 0.064 μg/ml, 0.0256 μg/ml, 0.004096 μg/ml 또는 0.0016384 μg/ml 농도의 C-말단 에피토프 태그가 있는 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그 참조, 서열 237)와 함께, 각각 2 μg/ml 혼화란과 함께, 1시간 동안 인큐베이션 하여, FGF19 폴리펩티드가 수용체 도메인에 결합하도록 하였다. 유사하게, 표면에 고정된 FGFR4-Fc 또는 FGFR1c-Fc 폴리펩티드를 1 μg/ml, 0.4 μg/ml, 0.16 μg/ml, 0.064 μg/ml, 0.0256 μg/ml, 0.004096 μg/ml 또는 0.0016384 μg/ml 농도의 C-말단 에피토프 태그가 있는 키메라 FGF19 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그 참조, 서열 242)와 함께, 각각 2 μg/ml 혼화란과 함께, 1시간 동안 인큐베이션하여, 키메라 FGF19 폴리펩티드가 수용체 도메인에 결합하도록 하였다. 인큐베이션 후, 소정의 FGF19 폴리펩티드 농도에서 수용체 도메인에 결합된 천연 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 양을 비오티닐화 항-인간 FGF19 폴리클로날 항체 (카탈로그 번호 BAF969, R&D 시스템즈), 스트렙타비딘-양고추냉이 퍼옥시다제 (HRP) (카탈로그 번호 RPN1231V, 아미샵 바이오사이언시스(Amersham Biosciences), 웬실베니아주 피츠버그) 및 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 기질 (카탈로그 번호 TMBE-1000, 모스 인코포레이티드(Moss, Inc.), 메릴랜드주 파사데나)를 사용하여, HRP-의존적 생성물의 농도를 450 nm에서의 그의 흡광에 의해 측정함으로써 결정하였다. 대조군 ELISA 실험을 수행하여 천연 및 키메라 FGF19 폴리펩티드가 등가의 효율로 항-인간 FGF19 폴리클로날 항체에 의해 인식된다는 것을 입증하였다 (데이터는 제시되지 않음).

[0342] 도 3A를 참조하면, 표면에 고정된 FGFR4-Fc 또는 FGFR1c-Fc 폴리펩티드에 대한 시험관내 FGFR 결합 검정의 결과는 천연 인간 FGF19 폴리펩티드가 농도 의존적, 클로토-베타 비의존적 방식으로 FGFR4-Fc에 결합하였지만, FGFR1c-Fc에는 감지할 수 있을 정도로 결합하지 않았음을 나타냈다. FGFR4-Fc 또는 FGFR1c-Fc에 대한 키메라 FGF19 폴리펩티드 (cFGF21/19-2/플래그; 서열 242)의 클로토-베타 비의존적 결합은 검출되지 않았다.

[0343] 도 3B를 참조하면, FGFR 활성화에 대한 검정의 개략도가 도시되어 있다. 이러한 검정에서, 일시적으로 형질감염된 L6 세포는 그의 세포 표면 상에 FGF 수용체, 예컨대 인간 FGFR1c 또는 인간 FGFR4를 발현한다. FGF 수용체에 대한 리간드의 효과적인 결합은 내인성 MAP 키나제 경로의 활성화를 초래할 수 있고, 이는 Elk-1 활성화 도메인 및 GAL4 DNA-결합 도메인이 있는 키메라 전사 활성화제의 인산화를 초래할 수 있다. 인산화된 전사 활

성화제는 적절한 상류 활성화 서열 (UAS), 예컨대 효모 GAL4 UAS의 제어 하의 리포터 유전자의 발현을 활성화시킬 수 있다. 리포터 유전자는 효소 예컨대 루시퍼라제 효소, 특히 반딧불이 루시퍼라제 효소를 코딩할 수 있다. L6 세포는 구성적으로 발현되는 레닐라 루시퍼라제로 추가로 형질감염될 수 있고, 이는 유도성 반딧불이 루시퍼라제에 대한 표준화 대조군으로서의 역할을 할 수 있다.

[0344] 이러한 검정에서, 96-웰 플레이트 내의 래트 L6 근육모세포를 인간 FGFR4 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터, GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (카탈로그 번호 219005, pFA2-E1k1, 스트라타진(Stratagene), 캘리포니아주 라 호야), 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (카탈로그 번호 219050, pFR-luc, 스트라타진)로 일시적으로 형질감염시켰다. 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (카탈로그 번호 E2231, pRL-SV40, 프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨)를 또한 세포 내로 형질감염시켰다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (카탈로그 번호 04 709 705 001, 로슈 어플라이드 사이언스(Roche Applied Science), 인디애나주 인디애나폴리스)을 제조사의 설명서에 따라 사용하여 형질감염을 수행하였다.

[0345] 형질감염된 L6 세포를 밤새 10% FBS (카탈로그 번호 F2442, 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich), 미주리주 세인트루인스)를 함유하는 DMEM (셀그로(Cellgro) 50-013-PC로부터 제조됨, 미디어테크 인코포레이티드(Mediatech, Inc.), 버지니아주 머내서스)에서 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, 25 mg/ℓ 돼지 혜파린 및 소정의 농도의 FGF19 폴리펩티드를 함유하는 F12/DME 50:50 블렌드로부터 유래된 무혈청 강화 배지에서 추가로 6시간 동안 배양하였다. 검정된 FGF19 폴리펩티드는 천연 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그 참조; 서열 237), 천연 FGF21-His 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-His 참조; 서열 238) 및 키메라 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그 참조; 서열 242)였다. 세포를 10 µg/ml, 1666.7 ng/ml, 277.8 ng/ml, 46.3 ng/ml, 7.7 ng/ml, 1.3 ng/ml, 0.21 ng/ml, 0.036 ng/ml, 0.0060 ng/ml, 0.00099 ng/ml, 0.00017 ng/ml 또는 0.000028 ng/ml 농도의 폴리펩티드와 함께 인큐베이션하였다. 그 후, 세포를 PLB 시약 (카탈로그 번호 E1941, 프로메가)으로 용해시키고, 각각의 웰 내의 루시퍼라제 활성을 듀얼-글로 루시퍼라제 어세이 시스템(Dual-Glo Luciferase Assay System) (카탈로그 번호 E2940, 프로메가) 및 인비전 멀티레이블 리더(EnVision Multilabel Reader) (카탈로그 번호 2103, 퍼킨엘머(PerkinElmer), 매사추세츠주 월섬)를 각각의 제조사의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 각각의 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다.

표 10

폴리펩티드 서열

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
FGF19-플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSE EDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSISSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDMDPFGL VTGLEAVRSPSFKEKDYKDDDDK	237
FGF21-His	HHHHHHHPIDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVG AADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGS LHFDP CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	238
FGF21-플래그C	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVG PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGS LHFDP CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP LPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	239
FGF21-플래그N	KDYKDDDDKLEHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIRE DTVG DGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGS LHFDP CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP ARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS	240
cFGF21/19- 1/플래그	HPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG QSAHSLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDC	241

[0346]

삭제

[0347]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	AFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKD YKDDDDK	
cFGF21/19- 2/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQS AHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDDK	242
cFGF21/19- 3/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQ SAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCA FEEEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDDK	243
cFGF21/19- 4/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTSCFLRIRADGVVDCARGQS AHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDDK	244
cFGF21/19- 5/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTSCFLRIRADGVVDCARGQS AHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDDK	245
cFGF21/19- 6/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTAEFLRIRADGVVDCARGQS AHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDDK	246
cFGF21/19- 7/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTAEHLEIRADGVVDCARGQS AHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP	247

[0348]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDK	
cFGF21/19- 8/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAAD AHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDK	248
cFGF21/19- 9/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAAD QSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDC AFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKD YKDDDK	249
cFGF21/19- 10/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAADQS PESLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAF EEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDY KDDDK	250
cFGF21/19- 11/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDYK DDDDK	251
cFGF21/19- 12/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDYK DDDDK	252
cFGF21/19- 13/플래그	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTAEHLEIREDTVGVAADQS PESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPPEACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPMLPMVPE EPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEKDYKDDD	253

[0349]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	DK	
cFGF19/21-1/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGAA DQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEACS FRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	254
cFGF19/21-2/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGAA AADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	255
cFGF19/21-3/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGTVGAA AADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	256
cFGF19/21-4/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGTVGAA AADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	257
cFGF19/21-5/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	258
cFGF19/21-6/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA ACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP PGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	259
cFGF19/21-7/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSLHFDEA ACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP PGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDDK	260

[0350]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	K	
cFGF19/21-8/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCQRPDGALYGSLSHFDPE ACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPL PGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASDYKDDDD K	261
cFGF19/21-9/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSE EDCAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGP SQGRSPSYASDYKDD DDK	262
cFGF19/21/19-1/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCAR GQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	263
cFGF19/21/19-2/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADGVVDCAR GQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	264
cFGF19/21/19-3/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQGLSSCFLRIRADGVVDCAR GQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	265
cFGF19/21/19-4/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQGLSSCFLRIRADGVVDCARG QSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDC AFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPML PMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEKD	266

[0351]

명칭	아미노산 서열 (N-C)	서열 번호
	YKDDDDK	
cFGF19/21/19-5/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTSCFLRIRADGVVDCAR GQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	267
cFGF19/21/19-6/플래그	RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRQLYTDDAQQTTEAFLRIRADGVVDCAR GQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLP MLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	268
cFGF19/21/19-29/플래그	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDC ARGQSAHSLLEIKAALKPGTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSE EDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHILESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFE KDYKDDDDK	269

[0352]

[0353]

다시 도 3B를 참조하면, 각각의 표준화된 루시퍼라제 활성이 3개의 반복물의 평균 및 평균의 표준 오차로서 제시된다. 결과는 FGFR4를 발현하지만 클로토-베타는 발현하지 않는 L6 세포가, 천연 FGF19 폴리펩티드로 처리되는 경우, 루시퍼라제 활성의 용량 의존적 활성화를 나타내지만, 천연 FGF21 폴리펩티드 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드는 이같은 활성을 나타내지 않았음을 나타낸다.

[0354]

실시예 2: 키메라 및 천연 FGF 폴리펩티드의 KLB-의존적 FGFR4 결합 활성

[0355]

이 검정에서, 96-웰 플레이트 내의 래트 L6 근육모세포를 인간 FGFR4 폴리펩티드 (NCBI 기준 서열 NM_002011.3을 기초로 함) 또는 인간 FGFR1c 폴리펩티드 (NCBI 기준 서열 NM_015850.3을 기초로 함)를 코딩하는 발현 벡터, 클로토-베타 (KLB) 폴리펩티드 (C-말단 LEDYKDDDDK 에피토프 서열에 융합된 NCBI 기준 서열 NM_175737.3을 기초로 함)를 코딩하는 발현 벡터, GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 및 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (pFR-luc, 스트라타진)로 일시적으로 형질감염시켰다. 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (pRL-SV40, 프로메가)를 또한 세포 내로 형질감염시켰다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (로슈 어플라이드 사이언스)을 제조사의 설명서에 따라 사용하여 형질감염을 수행하였다.

[0356]

형질감염된 L6 세포를 상기와 같이 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 밤새 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, 25 mg/ℓ 돼지 혈관 및 소정의 농도의 FGF 폴리펩티드를 함유하는 무혈청 배지에서 추가로 6시간 동안 배양하였다. 검정된 FGF 폴리펩티드는 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그 참조; 서열 237), 천연 인간 FGF21-His 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-His 참조; 서열 238) 및 키메라 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그 참조; 서열 242)였다. 세포를 500 ng/ml, 83.3 ng/ml, 13.9 ng/ml, 2.3 ng/ml, 0.39 ng/ml, 0.064 ng/ml 또는 0.011 ng/ml 농도의 FGF19 폴리펩티드와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 2667 ng/ml, 444.4 ng/ml, 74.1 ng/ml, 12.3 ng/ml, 2.06 ng/ml, 0.34 ng/ml 또는 0.057 ng/ml 농도의 키메라 FGF19 폴리펩티드와 함께 인큐베이션하였다. 그 후, 세포를 PLB 시약 (프로메가)으로 용해시키고, 각각의 웰 내의 루시퍼라제 활성을 듀얼-글로 루시퍼라제 어세이 시스템 (프로메가) 및 인비전 멀티레이블 리더 (퍼킨엘머)를 각각의 제조사의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 각각의 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다.

[0357]

도 4를 참조하면, 각각의 표준화된 루시퍼라제 활성이 3개의 반복물의 평균 및 평균의 표준 오차로서 제시된다. 결과는 천연 FGF19 폴리펩티드 및 키메라 FGF19 폴리펩티드가 각각 34.3 ng/ml 및 22.7 ng/ml의 EC₅₀으로, KLB 및 FGFR1c의 존재 하에 루시퍼라제에 대한 유사한 용량 의존적 활성화를 나타낸다는 것을 나타낸다. FGFR4 및 KLB로 형질전환된 세포에서는, 키메라 FGF19 폴리펩티드에 의한 루시퍼라제 활성의 용량 의존적 활성화가 천연 FGF19의 활성화보다 유의하게 더 낮았는데, 각각 269 ng/ml 및 2.6 ng/ml의 EC₅₀이었다. 프리즘(Prism) 5 소프

트웨어 (그래프패드 소프트웨어(GraphPad Software), 캘리포니아주 라 호야)를 사용하여 계산된 EC₅₀ 값을 기초로 FGFR1c 및 FGFR4에 대한 각각의 FGF19 폴리펩티드의 선택성을 추정하였다. 이 실시예에서, FGFR4에 비하여 FGFR1c에 대한 상대적 선택성 (각각의 계산된 EC₅₀ 값을 기초로 함)에 있어서 키메라 FGF19 폴리펩티드가 천연 FGF19 폴리펩티드보다 더 높은 상응하는 상대적 선택성을 나타냈다.

[0358] 실시예 3: 키메라 및 천연 FGF 폴리펩티드에 의한 간-특이적 유전자의 유도

이 실시예에서, FVB 마우스를 밤새 단식시켰다. 단식 마우스 샘플 군 ($n = 5$ 또는 6)에게 꼬리 정맥을 통해 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그), 천연 인간 FGF21-His 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-His), 키메라 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 서열 242) 또는 포스페이트-완충 염수 (PBS) 비히를 대조군을 주사하였다. 1 mg/kg의 투여량으로 PBS 내의 폴리펩티드가 제공되었다. 주사하고 나서 4시간 후, 간 조직을 각각의 마우스로부터 수확하고, 액체 질소에서 급속 동결시켰다. 수확된 간 조직으로부터 전체 조직 RNA를 퀴아졸(Qiazol) (카탈로그 번호 79306, 퀴아젠(Qiagen), 메릴랜드주 저먼타운)을 사용하여 단리하고, cDNA 합성 (퀀티텍트 리버스 트랜스크립션 키트(Quantitect Reverse Transcription Kit), 카탈로그 번호 205311, 퀴아젠)을 위한 주형으로 사용하였다. 정량적 실시간 PCR을 위한 표준 프로토콜에 따라, 36B4 유전자를 표준으로 하고, SYBR 그린 염료 (카탈로그 번호 11760500, 인비트로젠(Invitrogen), 캘리포니아주 칼스배드) 및 7900HT 패스트 리얼-타임 PCR 시스템(Fast Real-Time PCR System) (어플라이드 바이오시스템즈 인코포레이티드, 캘리포니아주 포스터 시티)을 사용하여 cDNA를 정량하였다. 도 5를 참조하면, 결과는 천연 FGF19 폴리펩티드가 주사된 샘플에서 Egr-1 및 cFos mRNA 수준이 가장 높았던 반면, 천연 FGF21 폴리펩티드 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드가 주사된 샘플에서는 Egr-1 및 cFos mRNA 수준이 부재하거나 또는 유의하게 더 낮았음을 나타낸다. SHP mRNA 또는 Cyp7A1 mRNA의 상대적인 수준은 이러한 폴리펩티드들이 주사된 샘플들 간에 유사하였다. p 값이 < 0.05, < 0.01 및 < 0.0005인 수준이 각각 "*", "**" 및 "***"로 표시되어 있다.

[0360] 실시예 4: 키메라 및 천연 FGF 폴리펩티드에 의한 지방세포-특이적 유전자의 유도

이 실시예는 주사하고 나서 4시간 후에 수확되고 액체 질소에서 급속 동결된 갈색 지방 조직 (BAT) 및 백색 지방 조직 (WAT)을 이용하여, 실시예 3에 기재된 바와 같이 수행되었다. 도 6을 참조하면, 결과는 WAT 내의 Egr-1 mRNA 수준 및 BAT 내의 UCP-3 mRNA 수준 (양쪽 모두 검출가능한 FGFR4를 발현하지 않음)이 사용된 FGF 폴리펩티드들에 의해 유사하게 조절되었음을 나타낸다. p 값이 < 0.05, < 0.01 및 < 0.001인 수준이 각각 "*", "**" 및 "***"로 표시되어 있다.

[0362] 실시예 5: 키메라 FGF19 및 천연 FGF21 폴리펩티드에 의한 당뇨병 비만 마우스에서의 혈당 감소

이 실시예에서, 11주령 *ob/ob* 마우스 (스톡# 000632, 더 잭슨 래버러토리(The Jackson Laboratory), 메인주 바하버)에게 200 μ 의 천연 인간 FGF21 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-플래그N; PBS 내 1 mg/ml), 키메라 FGF19 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 서열 242) (PBS 내 1 mg/ml) 또는 비히를 대조군 (PBS)을 함유하는 삼투 펌프 (카탈로그 번호 2001, 알젯(Alzet), 캘리포니아주 쿠퍼티노)를 피하 이식하였다. 각각의 샘플 군은 마우스 9마리로 이루어졌다. 약 0.4 mg/kg/일의 속도로 폴리펩티드를 제공하도록 삼투 펌프를 설정하였다.

도 7A를 참조하면, 펌프 이식 3일 전에 시작하여 펌프 이식 5일 후까지 지시된 시점에 각각의 마우스의 체중 및 무작위 급식 혈당 수준을 측정하였다. 원터치 2 울트라(One Touch 2 Ultra) 혈당 모니터링 시스템 (라이프스캔 (LifeScan), 캘리포니아주 밀피타스)을 사용하여 혈당을 측정하였다. 도 7A는 각각의 샘플 군에 대한 평균 체중 및 혈당 수준을 나타낸다 (p 값이 < 0.05, < 0.001 및 $< 5 \times 10^{-7}$ 인 수준이 각각 "*", "**" 및 "***"로 표시되어 있다). 제5일에, 마우스를 밤새 단식시키고, 다음날 아침 공복 혈당을 측정하였다. 도 7B를 참조하면, 제5일 및 제6일 (밤새 단식시킴)의 각각의 마우스에 대한 혈당 수준이 제시된다 (p 값이 < 0.002, < 0.0005 및 $< 5 \times 10^{-10}$ 인 수준이 각각 "*", "**" 및 "***"로 표시되어 있다). 결과는 천연 인간 FGF21 폴리펩티드 및 키메라 FGF19 폴리펩티드 모두 이러한 마우스들에서 혈당을 유사한 수준으로 감소시켰음을 나타낸다.

[0365] 실시예 6: 키메라 FGF19 및 천연 FGF21 폴리펩티드에 의한 당뇨병 비만 마우스에서의 복강내 내당능

실시예 5로부터의 마우스에 제6일에 밤새 단식 후 PBS 내의 볼루스 글루코스 (1 g/kg)을 복강내 주사하여, 내당능을 검사하였다. 도 8A에서 시간 = 0에 상응하는 시점에 볼루스 주사를 실행하였다. 볼루스 주사에 이어서, 지시된 시점에서 각각의 마우스에 대한 혈당 수준을 측정하였고, 이때 각각의 샘플 군에 대한 평균 혈당 수준이 도 8A에서 제시된다. 도 8B를 참조하면, 각각의 동물에 대한 내당능 검사 (GTT) 동안의 t = 0분과 t = 120분 사이의 곡선하 면적 (AUC)이 제도되었다. PBS 대조군과 비교하여 천연 인간 FGF21 폴리펩티드 또는 키메라

FGF19 폴리펩티드가 주사된 샘플에 대한 p 값은 스튜던트(student) t-테스트에 따라 양쪽 모두 < 0.001이었다. 결과는 천연 인간 FGF21 폴리펩티드 및 키메라 FGF19 폴리펩티드 모두가 이러한 단식 마우스들에서 유사한 내당능을 나타냈음을 나타낸다.

[0367] 실시예 7: 천연 및 키메라 FGF-Fc 융합 폴리펩티드의 활성

이 실시예에서, FGF-Fc 융합 폴리펩티드를 함유하는 조건화 배지를 상응하는 발현 벡터로 형질감염된 세포로부터 수확하였다. HEK293S 세포를 21-아미노산 링커 GGGGSGGGSDYKDDDKGRAQVT (서열 286)를 통해 인간 IgG1-Fc 단편의 N-말단에 융합된 천연 인간 FGF19 폴리펩티드, 4-아미노산 링커 GGGG를 통해 인간 IgG1-Fc 단편의 N-말단에 융합된 인간 키메라 FGF19 폴리펩티드, 또는 4-아미노산 링커 GGGS를 통해 인간 IgG1-Fc 단편의 N-말단에 융합된 인간 키메라 FGF19 폴리펩티드 (cFGF21/19-2)를 코딩하는 발현 벡터로 일시적으로 형질감염시켰다. 모조-형질감염 세포가 대조군으로서 사용되었다. 세포를 상기와 같이 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, 2일 동안 F12/DME 50:50 블렌드로부터 유래된 무혈청 강화 배지에서 배양하였다. 각각의 샘플로부터, 조건화 배지를 수확하였다. 각각의 샘플로부터의 동일한 부피 (6.5 μ l)의 각각의 조건화 배지를 인간 IgG-Fc 단편에 대해 특이적인 항체를 사용하는 면역블롯 분석에 사용하였다. 면역블롯 결과가 도 9B에서 제시되며, 이는 FGF19-Fc, FGF21-Fc 및 cFGF21/19-2-Fc 융합물로 형질전환된 세포로부터 수확된 조건화 배지 내에 예상 분자량의 Fc 단편-함유 폴리펩티드가 존재함을 나타낸다.

[0369] 이 실시예에서, 조건화 배지를 사용하여 FGF-Fc 융합 폴리펩티드의 활성을 입증하였다. 96-웰 플레이트 내의 HEK293S 세포를 GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 및 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (pFR-luc, 스트라타진)로 일시적으로 형질감염시켰다. 일부 실험에서, 세포를 클로토-베타 (KLB) 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터로 또한 형질감염시켰다. 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (pRL-SV40, 프로메가)를 또한 세포 내로 형질감염시켰다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (로슈 어플라이드 사이언스)을 제조사의 설명서에 따라 사용하여 형질감염을 수행하였다.

[0370] 형질감염된 세포를 상기와 같이 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, F12/DME 50:50 블렌드로부터 유래된 무혈청 강화 배지 3부로 희석된 조건화 배지 1부로부터 제조된 배지에서 추가로 6시간 동안 배양하였고, 이때 최종 배지는 25 mg / l 돼지 혜파린을 함유하였다. 그 후, 세포를 PLB 시약 (카탈로그 번호 E1941, 프로메가)으로 용해시키고, 각각의 웰 내의 루시퍼라제 활성을 듀얼-글로 루시퍼라제 어세이 시스템 (프로메가) 및 인비전 멀티레이블 리더 (퍼킨엘머)를 각각의 제조사의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 각각의 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다.

[0371] 도 9A를 참조하면, 각각의 표준화된 루시퍼라제 활성이 3개의 반복물의 평균 및 평균의 표준 오차로서 제시되어 있다. 결과는 형질전환된 HEK293S 세포의 루시퍼라제 활성이, KLB의 존재 하에, 천연 인간 FGF19-Fc 폴리펩티드 또는 키메라 FGF19-Fc 폴리펩티드에 의해 이들 각각의 비-Fc-융합물 유사체와 유사한 방식으로 활성화될 수 있다는 것을 나타낸다. 그러나, 천연 FGF21 폴리펩티드의 상응하는 비-Fc-융합물과 대조적으로, FGF21-Fc 융합 폴리펩티드는 KLB의 존재 하에서도 반딧불이 루시퍼라제에 대한 실질적으로 더 낮은 활성화를 나타냈다.

[0372] 실시예 8: 천연 및 키메라 FGF 폴리펩티드의 수용체 특이성

[0373] 이 실시예에서, 48-웰 플레이트 내의 래트 L6 근육모세포를 인간 FGFR4 폴리펩티드 또는 인간 FGFR1c 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터 또는 벡터 대조군으로 일시적으로 형질감염시켰다. 각각의 세포 샘플 내에 클로토-베타 (KLB) 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터, GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (pFR-luc, 스트라타진), 및 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (pRL-SV40, 프로메가)를 또한 형질감염시켰다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (로슈 어플라이드 사이언스)을 제조사의 설명서에 따라 사용하여 형질감염을 수행하였다.

[0374] 형질감염된 L6 세포를 상기와 같이 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, 25 mg / l 돼지 혜파린을 함유하는 무혈청 조건화 배지 (각각의 조건화 배지는 실시예 7에 따라 생산 및 수확하였고, 사용을 위해 동일한 부피의 무혈청 배지로 희석하였다)에서 추가로 6시간 동안 배양하였다. 조건화 배지는 벡터 대조군 (도 10의 군 A) (CMV 프로모터를 함유하는 pUC-유래 벡터); 천연 인간 FGF21-플래그C 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-플래그C; 도 10의 군 B); 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그; 도

10의 군 C); 천연 인간 FGF21로부터 유래된 N-말단 서열을 가진 제1 키메라 FGF19 폴리펩티드 (도 10의 군 D) (표 10의 cFGF21/19-13/플래그,

HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTAEAHLEIREDTVGGAADQSPESLIQLKALKP
GVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGPLHLPG
NKSPhRDPApRGPARFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAV

[0375] RSPSFEKDYKDDDDK; 서열 253)

; 천연 인간 FGF21로부터 유래된 N-

말단 서열을 가진 제2 키메라 FGF19 폴리펩티드 (도 10의 군 E) (표 10의 cFGF21/19-2/플래그;

HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVL
RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEERPDGYNVYRSEKHRLPVSL
SAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAV

[0376] EAVRSPSFEKDYKDDDDK; 서열 242)

또는 천연 인간 FGF19로부터 유래된

N-말단 서열을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드 (도 10의 군 F) (표 10의 cFGF19/21-2/플래그;

RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTDDAQQTAEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQL
KALKPGVIIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLSHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLP
LHLPGNKSPhRDPApRGPARFLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSP

[0377] SYASDYKDDDDK; 서열 255)

를 함유하였다. 그 후, 세포를 PLB

시약 (프로메가)으로 용해시키고, 각각의 웰 내의 루시퍼라제 활성을 듀얼-글로 루시퍼라제 어세이 시스템 (프로메가) 및 인비전 멀티레이블 리더 (퍼킨엘머)를 각각의 제조사의 설명서에 따라 사용하여 결정하였다. 각각의 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다.

[0378] 도 10을 참조하면, 각각의 표준화된 루시퍼라제 활성이 벡터 대조군으로 형질감염된 세포로부터 유래된 대조군 조건화 배지에서 인큐베이션된, 샘플 군 A 내의 상응하게 형질감염된 세포에 비교된 유도 배수로서 제시되어 있다. 각각의 유도 배수는 3개의 반복물의 평균 및 평균의 표준 오차로서 제시된다. 결과는 FGFR1c를 발현하는 L6 세포에서의 표준화된 루시퍼라제 활성의 유도 배수가 비-대조군 샘플들 간에 유사하였음을 나타낸다. 그러나, FGFR4를 발현하는 L6 세포에서의 유도 배수는 천연 FGF21 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드와 함께 인큐베이션된 세포들보다 천연 FGF19와 함께 인큐베이션된 세포에서 유의하게 더 높았다.

실시예 9: 키메라 FGF19 폴리펩티드의 활성 - 파트 1

[0380] 이 실시예에서, 천연 인간 FGF19 폴리펩티드로부터 유래된 N-말단 도메인을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드를 활성에 대해 검정하였다. 검정된 모든 폴리펩티드는 C-말단 플래그 에피토프 태그를 또한 함유하였다. HEK293S 세포를 클로토-베타 (KLB) 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터, GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (pFR-luc, 스트라타진), 및 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (pRL-SV40, 프로메가)로 일시적으로 형질감염시켰다. 래트 L6 근육모세포를 인간 FGFR4 폴리펩티드 또는 인간 FGFR1c 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터, 클로토-베타 (KLB) 폴리펩티드를 코딩하는 발현 벡터, GAL4-E1k-1 전사 활성화제를 코딩하는 발현 벡터 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 효모 GAL4 상류 활성화제의 제어 하의 반딧불이 루시퍼라제 리포터 유전자를 코딩하는 발현 벡터 (pFR-luc, 스트라타진), 및 레닐라 루시퍼라제의 구성적 발현을 위한 벡터 (pRL-SV40, 프로메가)로 일시적으로 형질감염시켰다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (로슈 어플라이드 사이언스)을 제조사의 설명서에 따라 사용하여 형질감염을 수행하였다.

[0381] 형질감염된 HEK293S 및 L6 세포를 상기와 같이 10% FBS를 함유하는 DMEM에서 밤새 배양하였다. 그 후, 세포를 세척하고, 25 mg/l 돼지 혈액을 함유하는 무혈청 조건화 배지 (각각의 조건화 배지는 실시예 7에 따라 생산 및 수확하였고, 사용을 위해 동일한 부피의 무혈청 배지로 희석하였다)에서 추가로 6시간 동안 배양하였다. 천연 인간 FGF21-플래그C 폴리펩티드 (도 11의 A), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-1/플래그 (표 10의 cFGF19/21-1/플래그; 도 11의 B), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-2/플래그 (표 10의 cFGF19/21-2/플래그; 도 11의 C), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-3/플래그 (표 10의 cFGF19/21-3/플래그; 도 11의 D), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-4/플래그 (표 10의 cFGF19/21-4/플래그; 도 11의 E), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-5/플래그 (표 10의 cFGF19/21-5/플래그; 도 11의 F), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-6/플래그 (표 10의 cFGF19/21-6/플래그; 도 11의 G), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-7/플래그 (표 10의 cFGF19/21-7/플래그; 도 11의 H), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-8/플래그 (표 10의 cFGF19/21-8/플래그; 도 11의

I), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-9/플래그 (표 10의 cFGF19/21-9/플래그; 도 11의 J), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-29/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-29/플래그; 도 11의 K), 또는 천연 FGF19-플래그 폴리펩티드 (도 11의 L)로 형질감염된 세포로부터 조건화 배지를 수확하였다.

[0382] 도 11을 참조하면, 각각의 샘플에 대한 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다. 표준화된 루시퍼라제 활성을 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드에 대한 활성과 비교하였고, 이때 "+"는 천연 인간 FGF19-Fc 융합 폴리펩티드의 활성에 대해 실질적으로 등가인 활성을 가리키고, "+/-"는 중간 정도의 활성을 가리키며, "-"는 검출가능한 활성이 없음을 가리킨다. HEK293S 세포에서 검출가능한 활성을 나타내지 않거나 중간 정도의 활성을 나타낸 조건화 배지는 L6 세포에서 시험하지 않았다.

실시예 10: 키메라 FGF19 폴리펩티드의 활성 - 파트 2

[0384] 이 실시예에서, 천연 인간 FGF21 폴리펩티드로부터 유래된 N-말단 도메인을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드를 활성에 대해 검정하였다. 검정된 모든 폴리펩티드는 C-말단 플래그 애피토프 태그를 또한 함유하였다. 실시예 9에 기재된 바와 같이 검정을 수행하였다. 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그; 도 12의 A), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-1/플래그 (표 10의 cFGF21/19-1/플래그; 도 12의 B), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-2/플래그 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 도 12의 C), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-7/플래그 (표 10의 cFGF21/19-7/플래그; 도 12의 D), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-8/플래그 (표 10의 cFGF21/19-8/플래그; 도 12의 E), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-9/플래그 (표 10의 cFGF21/19-9/플래그; 도 12의 F), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-10/플래그 (표 10의 cFGF21/19-10/플래그; 도 12의 G), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-11/플래그 (표 10의 cFGF21/19-11/플래그; 도 12의 H), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-12/플래그 (표 10의 cFGF21/19-12/플래그; 도 12의 I), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-13/플래그 (표 10의 cFGF21/19-13/플래그; 도 12의 J), 또는 천연 FGF21-플래그C 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-플래그C; 도 12의 K)로 형질감염된 세포로부터 조건화 배지를 수확하였다.

[0385] 도 12를 참조하면, 각각의 샘플에 대한 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다. 표준화된 루시퍼라제 활성을 천연 인간 FGF19-Fc 융합 폴리펩티드에 대한 활성과 비교하였고, 이때 "+"는 천연 인간 FGF19-Fc 융합 폴리펩티드의 활성에 대해 실질적으로 등가인 활성을 가리키고, "+/-"는 중간 정도의 활성을 가리키며, "-"는 검출가능한 활성이 없음을 가리킨다. HEK293S 세포에서 검출가능한 활성을 나타내지 않거나 중간 정도의 활성을 나타낸 조건화 배지는 L6 세포에서 시험하지 않았다.

실시예 11: 키메라 FGF19 폴리펩티드의 활성 - 파트 3

[0387] 이 실시예에서, 천연 인간 FGF21 폴리펩티드로부터 유래된 N-말단 도메인을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드를 활성에 대해 검정하였다. 검정된 모든 폴리펩티드는 C-말단 플래그 애피토프 태그를 또한 함유하였다. 형질감염된 HEK293S 세포 및 FGFR4-형질감염 L6 세포만 검정에서 사용된 것을 제외하고, 실시예 9에 기재된 바와 같이 검정을 수행하였다. 천연 인간 FGF21-플래그C 폴리펩티드 (표 10의 FGF21-플래그C; 도 13의 A), 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 FGF19-플래그; 도 13의 B), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-1/플래그 (표 10의 cFGF21/19-1/플래그; 도 13의 C), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-2/플래그 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 도 13의 D), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-3/플래그 (표 10의 cFGF21/19-3/플래그; 도 13의 E), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-4/플래그 (표 10의 cFGF21/19-4/플래그; 도 13의 F), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-5/플래그 (표 10의 cFGF21/19-5/플래그; 도 13의 G), 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-6/플래그 (표 10의 cFGF21/19-6/플래그; 도 13의 H)로 형질감염된 세포로부터 조건화 배지를 수확하였다.

[0388] 도 13을 참조하면, 각각의 샘플에 대한 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다. 표준화된 루시퍼라제 활성을 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드에 대한 활성과 비교하였고, 이때 "+"는 천연 인간 FGF19-플래그C 폴리펩티드의 활성에 대해 실질적으로 등가인 활성을 가리키고, "+/-"는 중간 정도의 활성을 가리키며, "-"는 검출가능한 활성이 없음을 가리킨다. HEK293S 세포에서 검출가능한 활성을 나타내지 않거나 중간 정도의 활성을 나타낸 조건화 배지는 L6 세포에서 시험하지 않았다.

[0389] 도 13은 검정된 폴리펩티드들의 N-말단 부분의 각각의 아미노산 서열의 제안된 정렬을 추가로 나타낸다. 각각

의 폴리펩티드 내의 보존된 LYT 및 LxxIxxG 모티프에 상응하는 선택된 아미노산 잔기가 이 정렬에서 상자로 표시되어 있다.

[0390] 실시예 12: 키메라 FGF19 폴리펩티드의 활성 - 파트 4

이 실시예에서, 천연 인간 FGF21 폴리펩티드로부터 유래된 N-말단 및 내부 도메인을 가진 키메라 FGF19 폴리펩티드를 활성에 대해 검정하였다. 검정된 모든 폴리펩티드는 C-말단 플래그 에피토프 태그를 또한 함유하였다. 실시예 9에 기재된 바와 같이 검정을 수행하였다. 천연 인간 FGF21-플래그C 폴리펩티드 (도 14에 지시된 바와 같음), 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드 (도 14에 지시된 바와 같음), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-2/플래그 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 도 14의 A), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-3/플래그 (표 10의 cFGF21/19-3/플래그; 도 14의 B), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-4/플래그 (표 10의 cFGF21/19-4/플래그; 도 14의 C), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-5/플래그 (표 10의 cFGF21/19-5/플래그; 도 14의 D), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF21/19-6/플래그 (표 10의 cFGF21/19-6/플래그; 도 14의 E), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-1/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-1/플래그; 도 14의 F), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-2/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-2/플래그; 도 14의 G), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-3/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-3/플래그; 도 14의 H), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-4/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-4/플래그; 도 14의 I), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-5/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-5/플래그; 도 14의 J), 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21/19-6/플래그 (표 10의 cFGF19/21/19-6/플래그; 도 14의 K), 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드 cFGF19/21-1/플래그 (표 10의 cFGF19/21-1/플래그; 도 14의 L)로 형질감염된 세포로부터 조건화 배지를 수확하였다.

[0392] 도 14를 참조하면, 각각의 샘플에 대한 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 각각의 샘플 조건을 3중으로 수행하였다. 표준화된 루시퍼라제 활성을 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드에 대한 활성과 비교하였고, 이때 "+"는 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드의 활성에 대해 실질적으로 등가인 활성을 가리키고, "+/-"는 중간 정도의 활성을 가리키며, "-"는 검출가능한 활성이 없음을 가리킨다. HEK293S 세포에서 검출가능한 활성을 나타내지 않거나 중간 정도의 활성을 나타낸 조건화 배지는 L6 세포에서 시험하지 않았다.

[0393] 도 14는 검정된 폴리펩티드들의 N-말단 부분의 각각의 아미노산 서열의 제안된 정렬을 추가로 나타낸다. 각각의 폴리펩티드 내의 보존된 LYT 및 LxxIxxG 모티프에 상응하는 선택된 아미노산 잔기가 이 정렬에서 상자로 표시되어 있다.

[0394] 실시예 13: 키메라 FGF19 폴리펩티드에 의한 감소된 STAT5 탈인산화

이 실시예에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 STAT5 탈인산화에 대한 이의 효과에 대해 시험하였다. 5 주령 수컷 C57BL/6J 마우스 (각각 약 18 g 내지 19 g)에 천연 인간 FGF21-His 폴리펩티드 (카탈로그 번호 2539-FG-025/CF, R&D 시스템즈 인코포레이티드, 미네소타주 미니애폴리스), 키메라 FGF19-플래그 폴리펩티드 (표 10의 cFGF21/19-2/플래그; 서열 242) 또는 포스페이트-완충 염수 (PBS) 담체 대조군을 피하 주사하되, 각각 이중으로 하였다. 폴리펩티드들을 PBS에 가용화하고, 1 mg/kg의 투여량 (주사 당 약 20 µg 폴리펩티드)으로 2 일 동안 하루에 2번 제공하였다. 제3일 아침에, 마우스에 다섯 번째인 마지막 1 mg/kg 용량의 각각의 폴리펩티드 또는 대조군을 복강내 주사하고, 2시간 후에 희생시켰다. 각각의 마우스로부터 간을 회수하고, 뉴클리어 익스트랙션 키트(Nuclear Extraction Kit) (카탈로그 번호 10009277, 케이맨 케미컬(Cayman Chemical), 미시간주 앤 아버)를 사용하여 간으로부터 핵 추출물을 제조하였다. 각각의 핵 추출물 샘플에 대해, 22.5 µg의 단백질을 SDS 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분해하고, Tyr694에서 인산화된 Stat5 단백질에 대해 특이적인 항체 (카탈로그 번호 9314, 셀 시그널링 테크놀러지(Cell Signaling Technology), 매사추세츠주 단버스)를 사용하는 면역블롯팅에 의해 분석하였다. 로딩/loading 대조군으로 사용된 비-특이적 밴드 ("NS")는 각각의 레인에서 거의 동일한 양으로 검출가능한 것으로 나타났다. Tyr694-인산화-Stat5에 대해 특이적인 또 다른 모노클로날 항체 (카탈로그 번호 9359, 셀 시그널링 테크놀러지)를 이용시 Tyr694-인산화-Stat5 수준에 관하여 유사한 결과가 관찰되었다 (데이터는 제시되지 않음).

[0396] 도 15를 참조하면, 결과는 Tyr694-인산화 Stat5 단백질이 천연 인간 FGF21 폴리펩티드가 주사된 마우스에서 검출가능하지 않았음을 나타낸다. 그러나, 키메라 FGF19 폴리펩티드가 주사된 마우스는 유의한 수준의 인산화된 Stat5 단백질을 나타냈다.

[0397] 실시예 14: 키메라 FGF19 폴리펩티드에 의한 부착 비의존적 성장의 촉진 감소

- [0398] 이 실시예에서, 본 발명의 키메라 FGF19 폴리펩티드를 KLB 및 FGFR4를 발현하는 인간 간세포암 HepG2 세포의 부착 의존적 성장에 대한 그의 효과에 대해 시험하였다. 96-웰 플레이트에 50 μl /웰의 용융된 기저부 한천 (DMEM, 0.5% 아가로스 및 10% FBS)을 채웠다. 기저부 한천이 고체화된 후, 각각의 웰 내의 기저부 한천에 50 μl 의 용융된 상부 한천 용액 (DMEM, 0.35% 아가로스 및 10% FBS) 내에 혼탁된 약 670개의 HepG2 세포를 첨가하고, 고체화되도록 하였다.
- [0399] 세포 혼탁액의 고체화 후, 제0일로 지정된 날에 20 μl 의 성장 배지 (DMEM 및 10% FBS)를 각각의 웰에 첨가하였다. 소정의 실험 샘플에 대해, 성장 배지는 천연 인간 FGF19-플래그 폴리펩티드, 천연 인간 FGF21-His 폴리펩티드 (카탈로그 번호 2539-FG-025/CF, R&D 시스템즈 인코포레이티드, 미네소타주 미니애폴리스), 키메라 FGF19 플래그-태그 폴리펩티드 (cFGF21/19-2/플래그; 서열 242)를 추가로 포함하였거나, 또는 대조군으로서 FGF 폴리펩티드를 포함하지 않았다. 제0일에 첨가된 성장 배지 내의 폴리펩티드 농도는 각각의 웰 내의 최종 농도가 각각 20 ng/ml 또는 200 ng/ml이도록 120 ng/ml 또는 1200 ng/ml이었다. 이어지는 제2일, 제4일, 제6일 및 제8일 각각에, 추가적인 20 μl 의 성장 배지를 각각의 웰에 첨가하였고, 이때 소정의 웰에 대한 추가로 첨가된 성장 배지는 이러한 웰에 대한 이전의 적용에서와 동일한 FGF 폴리펩티드를 함유하였지만, FGF 폴리펩티드의 농도는 제0일 양의 농도의 1/6 (즉 20 ng/ml 또는 200 ng/ml)이었다. 일부 샘플 웰을 G418 단백질 합성 억제제로 또한 처리하여, 배경 형광 신호를 제공하였다.
- [0400] 제9일에, 10 μl 의 알라마블루(AlamarBlue) 시약 (카탈로그 번호 DAL1100, 인비트로젠)을 각각의 샘플 웰에 첨가하였고, 플레이트를 5시간 동안 추가로 인큐베이션하여, 각각의 웰 내의 총 대사 활성을 검정하였다. 생성된 형광 강도를 인비전 멀티레이저 리더 (퍼킨엘머)를 사용하여 측정하였다. 각각의 샘플의 5개의 반복물을 시험하였다.
- [0401] 도 16을 참조하면, 결과가 배경을 초과하는 형광 강도로서 제시되어 있고, 5개의 반복물의 평균 및 표준 편차를 나타낸다. 결과는 세포의 부착-비의존적 성장의 제안된 지표물로서의 총 대사 활성이 천연 인간 FGF19 폴리펩티드의 첨가에 의해 촉진되었지만, 이같은 활성은 천연 인간 FGF21 또는 키메라 FGF19 폴리펩티드의 첨가에 의해 감소되었음을 나타낸다 (스튜던트 t-테스트에 따라 모조 처리 샘플에 비교한 p 값 < 0.05).
- [0402] 실시예 15: FGF19는 FGFR4-의존적 및 비의존적 경로를 통해 세포 증식, 글루코스 및 담즙산 대사를 조절한다
- [0403] Fgfr4 결손 마우스, 뿐만 아니라 FGFR4를 활성화하는 능력이 특이적으로 손상된 FGF19의 단백질 변이체를 사용함으로써, FGF19 활성을 매개함에 있어서의 FGFR4에 대한 요구성을 연구하였다.
- [0404] 물질 및 방법
- [0405] **재조합 FGF 단백질의 발현.** FGF19, FGF21, 및 키메라의 아미노산 서열을 구축하였다 (제조된 키메라 구축물들의 도면은 도 18b에서 제시되어 있다). 도 18b에 제시된 번호 1-17의 구축물들은 각각 서열 1, 서열 270 (RPLAFSDAGPHVHYWGDPIRLRHLYTSGPHLSSCFLRIRADGVVDARGQSAHSLLIEIKALKPGTVIAKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEEIRPDGYNVYRSEKHLRVPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK), 서열 74, 서열 5, 서열 75, 서열 76, 서열 77, 서열 271, 서열 272, 서열 273, 서열 274, 서열 275, 서열 276, 서열 277, 서열 278, 서열 85, 및 서열 2의 아미노산 서열을 포함하는 구축물에 상응한다. 도 18b에 제시된 모든 구축물은 N-말단 끝부분의 신호 서열 (분비 시 절단됨) 및 C-말단 끝부분의 플래그 태그 (DYKDDDDK (서열 279))를 또한 포함하였다.
- [0406] 달리 언급되지 않는 한, 일시적으로 형질감염된 CHO 세포에서 생산되고 PBS 내에 균질하게 정제된 재조합 인간 FGF21, FGF19 및 변이체를 실험에 사용하였다. 일부 실험에서는, 이. 콜라이에서 유래된 FGF21 (2539-FG/CF, R&D 시스템즈)을 사용하였다. 정제된 모든 단백질을 세포 기반 GAL-E1k1 검정에 의해 활성을 시험한 후 다른 검정에 적용하였다. 도 18b, 18c, 및 20에서의 실험에서는, FGF 단백질들이 일시적으로 형질감염된 HEK293 세포에서 발현되었고, 신선한 무혈청 조건화 배지를 정제 없이 검정에 사용하였다.
- [0407] **루시퍼라제 검정.** 모든 세포를 37°C에서 5% CO₂ 하에 10% 소 태아 혈청 (FBS)이 보충된 둘베코 변형 이글 배지 (DMEM)에서 배양하였다. FuGENE HD 트랜스펙션 시약 (로슈 어플라이드 사이언스)을 사용하여, 96-웰 플레이트 내의 래트 L6 근육모세포를 레닐라 루시퍼라제 (pRL-SV40, 프로메가), 인간 KLB, 적합한 인간 FGFR, GAL4-E1k-1 전사 활성화제 (pFA2-E1k1, 스트라타진), 및 반딧불이 루시퍼라제 리포터 주도의 GAL4 결합 부위 (pFR-luc, 스트라타진)를 코딩하는 발현 벡터들로 일시적으로 형질감염시켰다. 다음 날, 형질감염된 세포를 25 mg/l 돼지 혈액 (시그마(Sigma)) 및 다양한 농도의 FGF 단백질을 함유하는 무혈청 배지에서 추가로 6-8시간 동안 배양하였다. 그 후, 세포를 PLB 시약 (프로메가)으로 용해시키고, 각각의 웰 내의 루시퍼라제 활성을 듀얼-

글로 루시퍼라제 어세이 시스템 (프로메가) 및 인비전 멀티레이블 리더 (퍼킨엘머)를 사용하여 결정하였다. 반딧불이 루시퍼라제 활성을 공동 발현된 레닐라 루시퍼라제 활성에 대해 표준화하였고, 이는 3개의 반복물의 평균 및 평균의 표준 오차로서 제시되었다.

[0408] **부착 비의존적 세포 증식 검정.** 96-웰 플레이트에 50 μl /웰의 성장 배지 중 0.5% 용융 아가로스를 채웠다. 기저부 아가로스가 고체화된 후, 50 μl 의 용융된 상부 아가로스 용액 (성장 배지 중 0.35% 아가로스) 내에 혼탁된 약 670개의 HepG2 세포를 각각의 웰 내의 기저부 한천에 첨가하고, 고체화되도록 하였다. 고체화 후, 제0일로 지정된 날에 적합한 양의 FGF 단백질을 함유하는 성장 배지 20 μl 를 각각의 웰에 첨가하였다. 이어지는 제2일, 제4일, 제6일 및 제8일 각각에, 적합한 양의 FGF 단백질을 함유한 추가적인 20 μl 의 성장 배지를 각각의 웰에 첨가하였다. 일부 샘플 웰을 단백질 합성 억제제인 제네티신(Geneticin) (인비트로젠)으로 또한 처리하여, 배경 형광 신호를 제공하였다. 제9일에, 10 μl 의 알라마블루 시약 (인비트로젠)을 각각의 샘플 웰에 첨가하였고, 플레이트를 5시간 동안 추가로 인큐베이션하였다. 생성된 형광 강도를 인비전 멀티레이블 리더 (퍼킨엘머)를 사용하여 측정하였고, 각 웰에서의 총 대사 활성의 표시물로서 사용하였다. 각각의 샘플의 5개의 반복물을 시험하였다.

[0409] **FGFR/리간드 결합 검정.** FGF19 및 FGF19v의 FGFR-결합 활성을 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 헤파린의 존재 하에 비오티닐화 항-FGF19 항체 (BAF969, R&D 시스템즈)를 사용하여 문헌 [Desnoyers et al., Oncogene 27(1):85-97 (2008)]에 기재된 바와 같이 측정하였다. 항-FGF19 항체 (AF969, R&D 시스템즈) 및 비오티닐화 항-FGF19 항체 (BAF969, R&D 시스템즈)를 사용하여 대조군 ELSA 실험을 수행하여, 항체가 구별할 수 없는 방식으로 FGF19 및 FGF19v에 반응함을 확증하였다.

[0410] **마우스 연구.** 표준 12시간/12시간 명/암 주기 하에 21°C의 병원체가 없는 동물 시설에서 마우스를 유지하였고, 이때 먹이 (표준 설치류 먹이 (랩다이어트(Labdiet) 5010, 지방으로부터의 12.7% 칼로리) 또는 고지방, 고탄수화물 식이 (할랜 테크래드(Harlan Teklad) TD.03584, 지방으로부터의 58.4% 칼로리) 및 물에 자유롭게 접근하게 하였다. 모든 실험에 수컷 마우스를 사용하였다. C57BL/6 배경의 FGFR4 KO 마우스는 문헌 [Weinstein et al., Development 1998 125(18):3615-23 (1998)]에서 기준에 기술되었다. C57BL/6 마우스, C57BL/6 배경의 ob/ob 마우스 및 FVB/NJ 마우스는 잭슨 래버러토리에서 구입하였다. FGF 단백질의 연속 주입을 위해, 삼투 펌프 (알젯 2001)를 피하 이식하였다. 내당능 검사를 위해, 원터치 올트라(One Touch Ultra) 글루코미터 (glucometer)를 사용하여 글루코스 수준을 측정하였다. 스튜던트 t 테스트에 의해 통계를 수행하였다. 값들은 평균+/-SEM으로 제시되었다. BrdU 염색을 {Nicholes, 2002 #79}로서 기재된 바와 같이 수행하였고, 아리올(Ariol) 자동 영상 분석 시스템을 사용함으로써 BrdU 양성 간세포를 계수하였다. 모든 동물 연구는 제넨테크(Genentech)의 동물 실험 윤리 위원회에서 허가한 프로토콜 하에 수행되었다.

[0411] **혈청 분석.** 총 콜레스테롤, 트리글리세리드, β -히드록시부티레이트 (BHB), 락테이트 (써모 DMA(Thermo DMA)) 및 비-에스테르화 지방산 (로슈(Roche))은 효소적 반응을 사용하여 결정하였다. 혈청 인슐린 수준은 ELISA (크리스탈 캠(crystal chem))에 의해 결정하였다. BA 조성은 문헌 [Stedman et al., J Biol Chem. 279(12):11336-43 (2004)]에 기준에 기재된 바와 같이 액체 크로마토그래피-질량 분광법 분석에 의해 결정하였다.

[0412] **유전자 발현 분석.** 퀴아졸(QIAzo1) 시약 (퀴아젠)을 사용함으로써 조직 RNA를 단리하였다. 퀸티텍트 리버스 트랜스크립션 키트 (퀴아젠)으로 cDNA를 합성하였다. 실시간 qPCR을 위해, 샘플을 택맨(Taqman) 만능 혼합물 (로슈)에 의해 또는 SYBR 녹색 만능 혼합물 (인비트로젠)을 사용함으로써 ABI 프리즘 7900HT (어플라이드 바이오시스템즈)에서 삼중으로 실행시켰고, 36B4 수준에 의해 표준화하였다. GCK, SHP, Cyp8b1, IGFBP2, 및 AFP에 대한 미리 디자인된 퀸티텍트 프라이머들을 퀴아젠에서 수득하였고, 다른 모든 프라이머들은 프라이머 익스프레스(primer express) 소프트웨어 (어플라이드 바이오시스템즈)를 사용하여 디자인하였다.

[0413] A. FGFR4는 혈청 담즙산을 조절하지만, 재조합 FGF19에 의한 내당능의 개선은 조절하지 않는다

[0414] FGF19에 의해 도출되는 대사 효과 중 어느 것이 FGFR4에 의해 매개되는지를 결정하기 위해, HFD-급식 WT 또는 Fgfr4 KO 마우스를 재조합 FGF19 또는 비히클 대조군으로 처리하고, 대사 표현형 및 유전자 발현을 연구하였다. FGF19에 대한 지속적인 노출을 달성하기 위해, 6주 동안 고지방 식이가 제공되는 12주령 내지 15주령 FGFR4 WT 및 KO 마우스에 삼투 펌프를 이식하여, 1 ng/hr의 FGF19를 지속적으로 주입하였다. 이에 의해 ELISA에 의해 결정 시 26 ng/ml의 평균 FGF19 혈청 농도가 달성되었고, 이는 인간에서의 순환 FGF19 농도보다 약 50배 내지 250 배 더 높은 것이다. 제6일에, 밤새 단식시킨 마우스를 1 g/kg의 글루코스의 복강내 주사를 이용한 내당능 검사에 적용하였다. FGF19 주입은 WT 및 Fgfr4 KO 마우스 둘 모두에서 유사한 정도로 내당능을 개선하였고 (도

17a), 이는 FGFR4가 HFD-급식 마우스에서 내당능 개선에 없어도 된다는 것을 시사한다. FGF19의 지속 주입은 유의한 체중 감소를 유도하지 않았고, 따라서 내당능 개선은 체중과 무관하였다. 제7일까지, FGF19는 WT 및 Fgfr4 KO 마우스 둘 모두에서 간 중량 및 혈청 인슐린을 감소시켰을 뿐만 아니라, 케톤체 (BHB) 형성을 증가시켰다 (도 17b). FGF19는 또한 WT에서 혈청 락테이트 및 트리글리세리드를 감소시켰지만, Fgfr4 KO 마우스가 처리 전과 비교하여 감소된 락테이트 및 트리글리세리드 수준을 나타냈음에도 불구하고 Fgfr4 KO 마우스에서는 그 렇지 않았다 (도 17b).

[0415]

BA 대사에서의 변화를 평가하기 위해, 액체 크로마토그래피-질량 분광법에 의해 혈청 BA 조성을 결정하였다 (도 17c). FGF19 주입은 WT 마우스에서 유리 및 타우린-접합 콜산 (CA) 및 CA-유래 2차 담즙산인 데옥시콜산을 감소시켰지만, CDCA (CDCA) 대사산물에 대한 효과는 최소였다. 이러한 발견은 FGF19-억제 Cyp7a1을 우회하고 Cyp7b1을 지나 진행되는 대안적인 (산성) 경로로의 BA 합성 이동과 부합된다 (도 17d). 상응하여, Fgfr4의 상실은 CA 및 이의 대사산물의 기저 수준을 증가시킨 한편, 뮤리콜산 (CDCA의 허드록실화 대사산물)을 감소시켰고, 이는 FGFR4가 담즙산 합성의 조절제로서 중요할 뿐만 아니라, 또한 CA 대 CDCA 생산 비율의 결정인 자라는 것을 시사한다. 간 유전자 발현 조절에서의 FGFR4의 역할을 결정하기 위해, QPCR에 의해 다양한 간 mRNA를 시험하였다 (도 17d). FGF19 주입은 WT에서 세포 증식 마커 예컨대 Egr-1, c-Fos, 및 AFP의 발현을 유도하였고 Cyp7a1의 발현을 억제하였지만, Fgfr4 KO 마우스에서는 그렇지 않았다. 대조적으로, FGF19가 WT 및 Fgfr4 KO 마우스 모두에서 Cyp8b1 및 글루코키나제 (GK)를 억제한 한편, Cyp8b1 및 Cyp27a1 수준의 기저 발현은 WT 마우스에 비해 Fgfr4 KO 마우스에서 훨씬 더 높았다. Cyp8b1은 콜산의 합성에 필수적이지만, CDCA에 대해서는 그렇지 않고, 따라서 관찰된 Cyp8b1 발현 변화는 Fgfr4 KO 마우스에서의 CA와 CDCA 대사산물 (뮤리콜산) 간의 변경된 균형에 기여한다 (도 17c 및 d). 총괄적으로, 본 발명자들의 발견은 FGFR4가 BA 합성의 조절제이고 간세포 증식에 영향을 미치지만, FGF19에 의한 글루코스 활용, 인슐린 감수성 및 케톤체 생산의 조절에 요구되지는 않는다는 것을 나타낸다.

[0416]

B. FGFR4 활성화가 특이적으로 감소된 FGF19 변이체의 확인.

[0417]

FGF19에 의한 FGFR의 특이적 활성화를 정량적으로 평가하기 위해, FGF-반응성 GAL-E1k1 루시퍼라제 리포터 검정을 래트 L6 세포 내로 도입하였다. 이러한 검정에서, FGFR에 대한 리간드의 효과적인 결합은 내인성 MAP 키나제 경로의 활성화를 초래하여, E1k-1 활성화 도메인 및 GAL4 DNA 결합 도메인을 포함하는 키메라 전사 활성화제의 활성화를 야기한다. L6 세포는 기능성 FGFR 또는 KLB가 없고, 동족 수용체와 공동-형질감염되는 경우에만 FGF19 또는 FGF21에 반응성이다. L6 세포를 GAL-E1k1, SV40-레닐라 루시퍼라제, 및 Gal-반응성 반딧불이 루시퍼라제 리포터와 함께 KLB 및 FGFR (FGF1c 또는 FGFR4)에 대한 발현 백터로 공동-형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 루시퍼라제 검정 전에 증가되는 농도의 FGF19 또는 FGF21을 함유하는 배지와 함께 6시간 동안 인큐베이션하였다. 루시퍼라제 검정으로부터의 결과는 FGF19 및 FGF21이 KLB의 존재 하에 유사한 효력 및 효능으로 FGF1c, 2c 및 3c를 활성화시켰음을 나타낸다 (도 18a 및 19). 대조적으로, FGF19는 KLB의 존재 하에서도 FGFR4를 효율적으로 활성화시켰지만, FGF21은 그렇지 않았다 (도 18a). FGFR4 활성화에 요구되는 신호의 지도를 작성하기 위해, 보존된 잔기들을 사용하여 FGF19와 FGF21 간의 다수의 키메라 구축물을 생성시켜, 접합물을 형성시켰다 (도 18b). 재조합 FGF 단백질의 발현이라는 제목으로 물질 및 방법 섹션에서 서열들이 상기에서 논의되어 있다. 각각의 FGF 구축물을 일시적으로 형질감염된 HEK293 세포에서 발현시키고, 분비된 키메라 FGF 단백질을 함유하는 배양 상청액을 GAL-E1k1 리포터 검정을 사용하여 KLB-발현 L6 세포에서 FGF1c 및/또는 FGFR4의 활성화에 대해 시험하였다. FGF1c 및 FGFR4의 활성을 기초로, 키메라 구축물들을 4가지 클래스로 분류하였다: 높은 FGF1c 및 FGFR4 활성 (클래스 I, FGF19-유사); 높은 FGF1c 활성 및 낮지만 검출가능한 FGFR4 활성 (클래스 II); 검출가능한 FGFR4 활성이 없으면서 높은 FGF1c 활성 (클래스 III, FGF21-유사) 및 불량한 발현으로 인한 매우 낮거나 검출불가능한 FGF1c 및 FGFR4 활성 (클래스 IV) (I-III, 도 18c 및 20; IV는 제시되지 않음). 이러한 지도작성은 FGF19의 N-말단의 39개 아미노산이 FGF21에 이전되는 경우에 약간의 FGFR4 활성을 부여하는데 충분하다는 것을 가리켰다. 또한, FGF19의 N-말단의 24개 아미노산 및 C-말단의 49개 아미노산이 완전한 FGFR4 활성에 필요하지만, FGF21에 이전되는 경우에 FGFR4 활성을 부여하는데 충분하지 않다. 따라서, FGF19의 N-말단 및 C-말단 둘 모두에서의 다중 신호가 FGFR4 활성화에 기여한다.

[0418]

FGF21의 아미노산 1-20 및 FGF19의 25-194로 이루어진, 클래스 II 문자로 분류된 1개의 키메라 구축물 (FGF19에 대해 > 90% 동일)을 CHO 세포에서의 대규모 합성용으로 선택하였고, 이러한 변이체를 "FGF19v"로 지칭하였다. 루시퍼라제 리포터 검정을 사용하여 FGF19와 비교했을 때, FGF19v 단백질은 KLB 및 FGFR1c로 공동-형질감염된 L6 세포에서 FGF19와 유사한 용량 의존적 활성을 나타냈다 (도 18d). 그러나, FGF19v 활성은 FGFR4 단독 또는 FGFR4 및 KLB의 조합물로 공동-형질감염된 L6 세포에서 유의하게 감소된 반면 (도 18d), FGF19는 KLB의 부재 하

에서도 FGFR4에 직접적으로 결합하는 것으로 기존에 제시되었다. FGF19는 FGFR4에 대한 용량 의존적 결합 활성을 나타냈지만, FGF19v는 그렇지 않았다 (도 18e 및 f).

C. FGFR4는 시험관 내에서 및 생체 내에서 간세포 증식을 매개한다

[0419] 밤새 단식시킨 FVB 마우스 내로의 정맥내 주사에 의해 FGF19 및 FGF21과 비교하여 FGF19v의 활성을 생체 내에서 추가로 시험하였다. 주사하고 나서 4시간 후에 간을 수확하고, 간 mRNA 발현을 QPCR에 의해 결정하였다. FGF19에 의해 급성으로 유도되었지만 FGF21에 대해서는 그렇지 않은 유전자, 예컨대 Egr-1 및 c-Fos는 FGF19v에 의해 효율적으로 유도되지 않았고, 이는 FGF19v의 감소된 FGFR4 활성과 일치한다 (도 21a). FGF19 및 FGF21에 의해 공동-조절되는 유전자, 예컨대 GK에 대한 FGF19v의 활성은 FGF19 또는 FGF21과 유사하였다. Fgfr4 KO 마우스를 사용하면, FGFR4는 FGF19에 의한 Egr-1 및 c-Fos의 조절에 기여하지만, GK에 대해서는 그렇지 않다 (도 21b). 예상밖으로, FGF21 (뿐만 아니라 FGF19 및 FGF19v)은 FGF19에 의한 FGFR4-의존적 조절에 대한 주요 표적인 것으로 제안된 SHP 및 Cyp7a1의 발현을 변경시켰다 (도 21a). FGF19 및 FGF21에 의한 SHP 및 Cyp7a1 변경이 Fgfr4 KO 마우스에서도 관찰되었고, 이는 이러한 급성 처리로 양측의 내분비 FGF가 FGFR4-비의존적 경로를 통해 이러한 유전자들의 발현을 조정할 수 있음을 시사한다 (도 21b).

[0420] FGF19는 연질 한천에서 HepG2 세포의 부착 비의존적 증식을 증가시켰고, 이러한 효과는 FGF19v 또는 FGF21 단백질에 대해서는 훨씬 덜 명백하였다 (도 21c). FGF19v가 생체 내에서 간세포 증식을 유도하는 능력의 감소를 또한 나타냈는지 여부를 알아보기 위해, 마우스에 FGF19, FGF19v (1 ng/h) 또는 비히클 대조군을 삼투 미니펌프에 의해 주입하였다. 또한, 동일한 마우스에 1 mg/kg/일의 FGF 단백질을 7일 동안 매일 복강내 주사하여, 높은 피크 노출을 달성하였다. 간헐적인 증식 이벤트를 포착하기 위해, BrdU 용액 (30 mg/kg)을 하루에 2번씩 총 13회 주사하였다. 제7일에 수확된 간 내의 BrdU 양성 간세포를 측정함으로써 간세포 증식을 결정하였다. 기존에 보고된 바와 같이, FGF19 처리는 BrdU 혼입에서의 극적인 증가를 초래하였다; 그러나, 이러한 반응은 FGF19v에 대해서 유의하게 둔해졌다 (도 21d 및 e). Egr-1, c-Fos 및 간세포 증식 마커 AFP에 대한 간 mRNA는 FGF19에 의해 모두 극적으로 유도되었고, FGF19v에 대해서는 이러한 유도가 대부분 부재한 한편, GK, Cyp7a1 및 Cyp8b1의 조절은 FGF19와 FGF19v 간에 상이하지 않았다 (도 21f).

D. FGFR4는 FGF19에 의한 ob/ob 마우스에서의 고혈당증 완화에 요구되지 않는다

[0421] 상기 기재된 시험관내 및 생체내 결과는 FGFR4 활성 및 증식 잠재력이 감소된 FGF19 변이체인 FGF19v가 FGF21이 그려하듯이 당뇨병 동물에서 고혈당증을 개선할 수 있는지 여부에 관한 의문을 제기하였다. FGF21, FGF19v (1 ng/h) 또는 비히클 대조군을 삼투 미니펌프를 사용하여 ob/ob 마우스 내로 지속적으로 피하 주입하였다. 주입 이 체중에 유의하게 영향을 미치지 않았지만 (도 22a), FGF21 및 FGF19v 모두 무작위 급식 마우스 및 단식 마우스 양측에서 혈당 수준을 극적으로 감소시켰고 (도 22a 및 b), 순환 유리 지방산 수준을 감소시켰으며 (도 22c), 내당능을 개선시켰다 (도 22d).

[0422] 간세포 증식을 가시화하기 위해, 제7일에 희생시키기 4시간 전에 동물에게 BrdU를 주사하였다. FGF21이나 FGF19v 모두 간 BrdU 혼입을 증가시키지 않았고 (제시되지 않음), 오히려 총체적 간 중량이 유의하게 감소되었으며 (도 22e), AFP mRNA의 간 발현에서의 유의한 변화가 관찰되지 않았다 (도 22f). 총괄적으로, FGF19v는 간세포 증식을 유도하지 않으면서 비만 마우스의 대사 상태를 개선시킬 수 있다.

[0423] FGF21 및 FGF19v로 처리된 ob/ob 마우스에서 통상적으로 변경된 발현을 나타낸 다수의 유전자가 확인되었다. 간에서, 두 단백질 모두 IGFBP2 (최근에 입증된 항-당뇨병 단백질)를 유도하였고, 스테아로일-조효소 A 데제타라제(desaturase) 1 (SCD-1; 지방생성 유전자) 및 Cyp8b1 (CA와 CDCA 생산 간의 균형 결정인자)을 억제하였다. 또한, 이들 모두가 갈색 지방 조직 내의 UCP-1 (적응성 열발생), SCD-1 및 중간-사슬 아실-CoA 데히드로게나제 (MCAD; 미토콘드리아 지방산 산화), 및 백색 지방 조직 내의 SREBP-1c (지방생성 전사 인자)를 유도하였다 (도 22f). 따라서, 다중 조직에서의 작용이 FGFR4 독립적 메커니즘을 통해 작용하는 FGF21 및 FGF19v의 항-당뇨병 효과를 매개할 수 있다.

[0424] 개체의 혈청 BA를 검사함으로서, Fgfr4를 통해 작용하는 재조합 FGF19가 Cyp7a1을 억제함으로써, 담즙산 합성이 Cyp7a1-비의존적 대안 (산성) 경로에 의해 진행되도록 야기하여, CA를 희생시키는 CDCA의 생산에 이르게 하는 것으로 입증되었다. Cyp8b1 발현은 Fgfr4 녹아웃 마우스에서 수배 증가되었고, FGF19 처리는 CA 합성을 위한 필수적인 효소적 단계인 Cyp8b1을 억제하였다. FGFR4는 Cyp7a1 및 Cyp8b1 둘 모두의 음성 조절을 통한 CDCA 대 CA 생산 비율의 결정인자였다. FGFR4 활성화는 BA 생산을 CDCA 쪽으로 이동시키는 한편, 이의 철폐는 CA 형성을 초래하였다. 또한, FGF19는 Fgfr4 의존적 방식으로 간 AFP 발현을 증가시켰다. FGF19는 HFD-급식 FGFR4

KO 마우스에서 내당능을 개선시켰고 (도 17), FGFR4 결합 및 활성화에 대해 특이적으로 손상된 단백질인 FGF19v는 ob/ob 마우스에서 고혈당증을 완화시켰다 (도 18 및 21-22). 인슐린 저항성 및 글루코스 대사에서의 효과에 더하여, FGF19는 FGFR21과 유사하게 FGFR4 KO 마우스에서 혈청 BHB 수준을 증가시켰다 (도 17). FGF19 및 FGFR21 모두 KLB의 존재 하에 FGFR1c, FGFR2c, 및 FGFR3c에 결합하여 이를 활성화시킬 수 있다. 따라서, FGFR1c, FGFR2c, 또는 FGFR3c는 KLB와 협력하여 FGF19 및 FGFR21의 통상적인 대사 효과를 매개할 수 있다.

도면

도면1

서열 1 - hFGF19 (194 aa)

```

1      RPLAF SDAGP HVHYG WGDPI RLRHL YTSGP HGLSS CFLRI RADGV VDCAR
51     GQSAH SLLEI KAVAL RTVAI KGVHS VRYLC MGADG KMQGL LQYSE EDCAF
101    EEEIR PDGYN VYRSE KHRLP VSLSS AKQRQ LYKNR GFLPL SHFLP MLPMV
151    PEEPE DLRGH LESDM FSSPL ETDSM DPFGT VTGLE AVRSP SFEK

```

서열 3 - 프리-hFGF19 (216 aa)

```

1      MRSGC VVVHV WILAG LWLAV AG
23     RPLAF SDAGP HVHYG WGDPI RLRHL YTSGP HGLSS CFLRI RADGV VDCAR
74     GQSAH SLLEI KAVAL RTVAI KGVHS VRYLC MGADG KMQGL LQYSE EDCAF
123    EEEIR PDGYN VYRSE KHRLP VSLSS AKQRQ LYKNR GFLPL SHFLP MLPMV
174    PEEPE DLRGH LESDM FSSPL ETDSM DPFGT VTGLE AVRSP SFEK

```

도면2

서열 2 - hFGF21 (181 aa)

```

1      HPIPD SPPLL QFGQQ VRQRY LYTDD AQQTE AHLEI REDGT VGGAA DQSPE
51     SLLQL KALKP GVIQI LGVKT SRFLC QRPDG ALYGS LHFDP EACSF RELLL
101    EDGYN VYQSE AHGLP LHLPG NKSPP RDPAP RGPAR FLPLP GLPPA LPEPP
151    GILAP QPPDV GSSDP LSMVG PSQGR SPSYA S

```

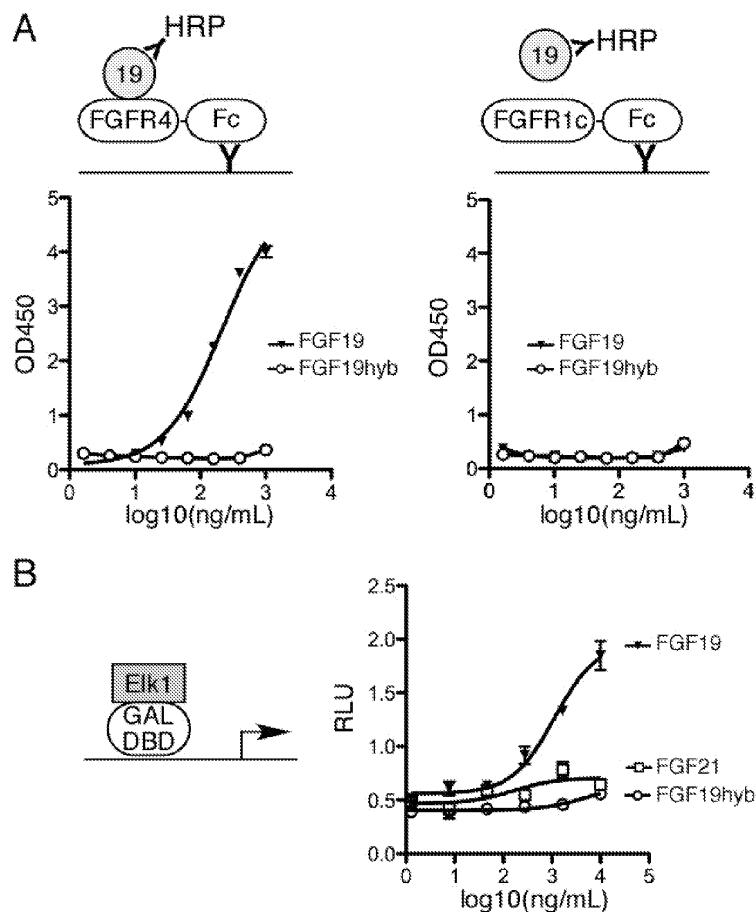
서열 4 - 프리-hFGF21 (209 aa)

```

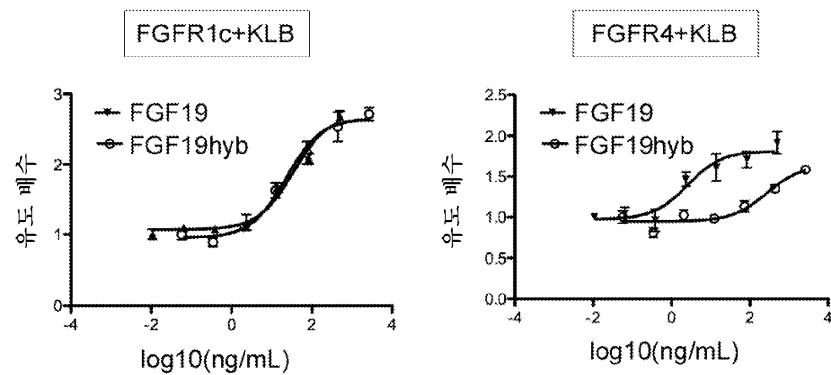
1      MDSDE TGFEH SGLWV SVLAG LLLGA CQA
29     HPIPD SPPLL QFGQQ VRQRY LYTDD AQQTE AHLEI REDGT VGGAA DQSPE
79     SLLQL KALKP GVIQI LGVKT SRFLC QRPDG ALYGS LHFDP EACSF RELLL
129    EDGYN VYQSE AHGLP LHLPG NKSPP RDPAP RGPAR FLPLP GLPPA LPEPP
179    GILAP QPPDV GSSDP LSMVG PSQGR SPSYA S

```

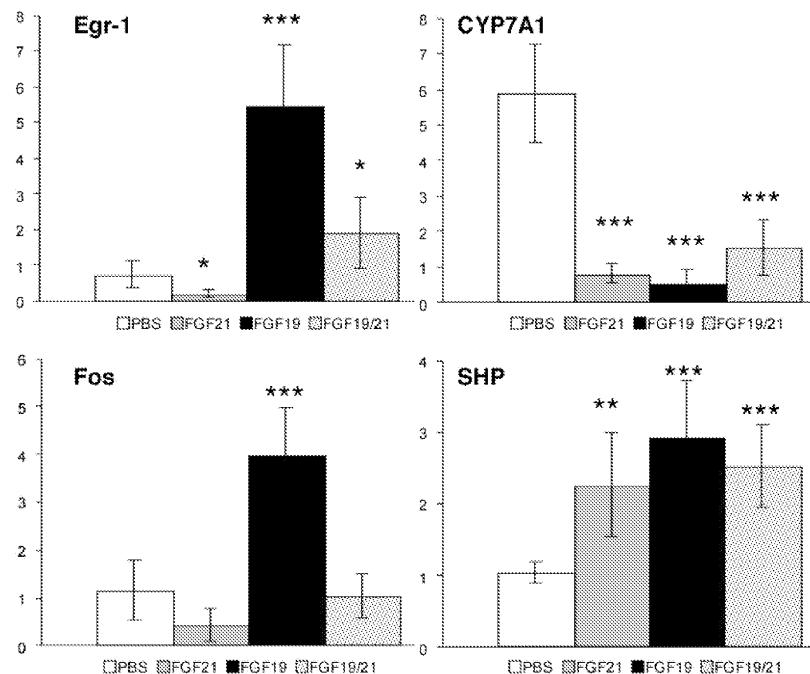
도면3



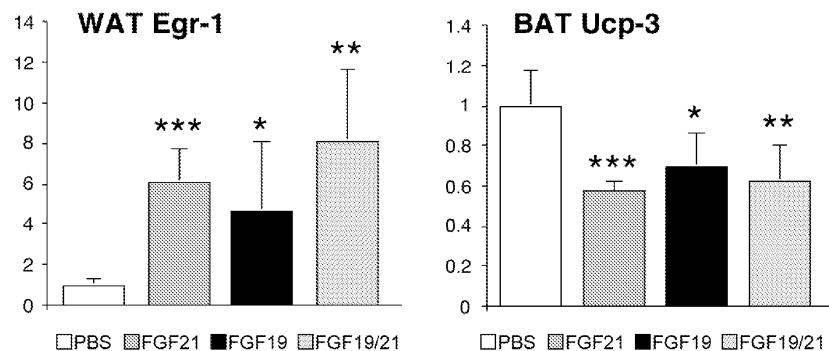
도면4



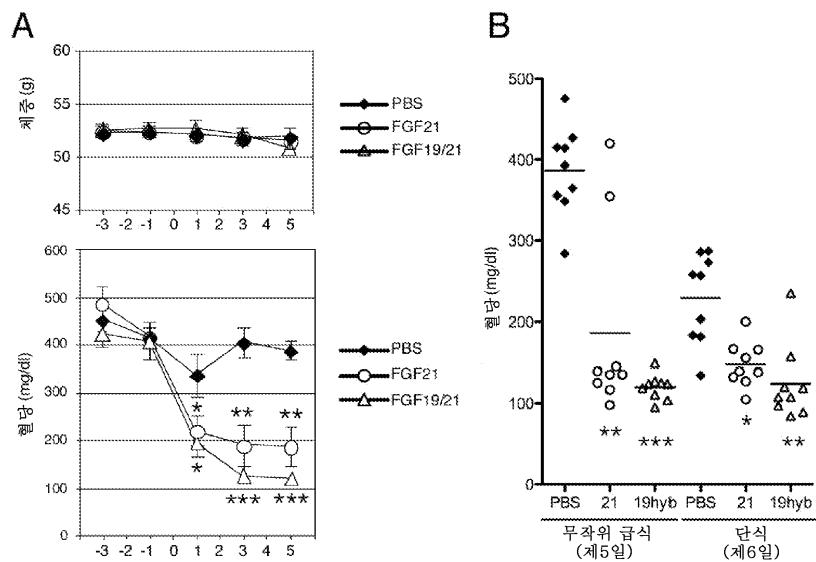
도면5



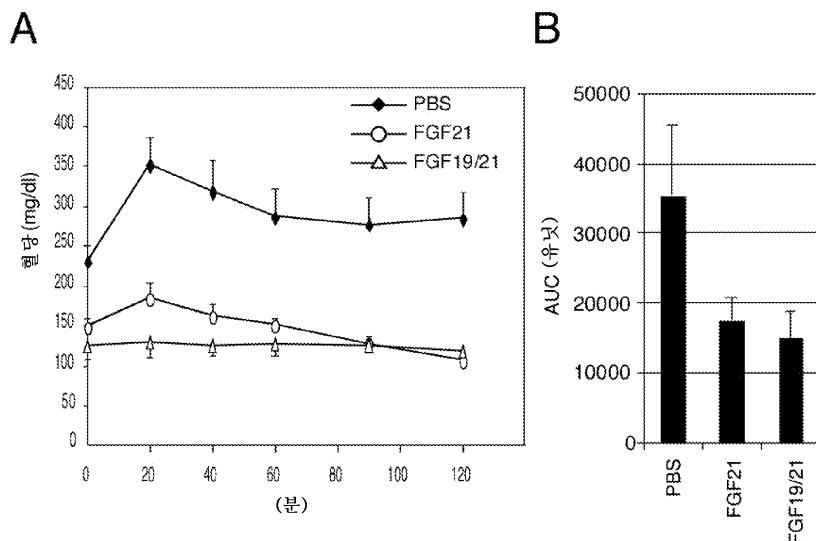
도면6



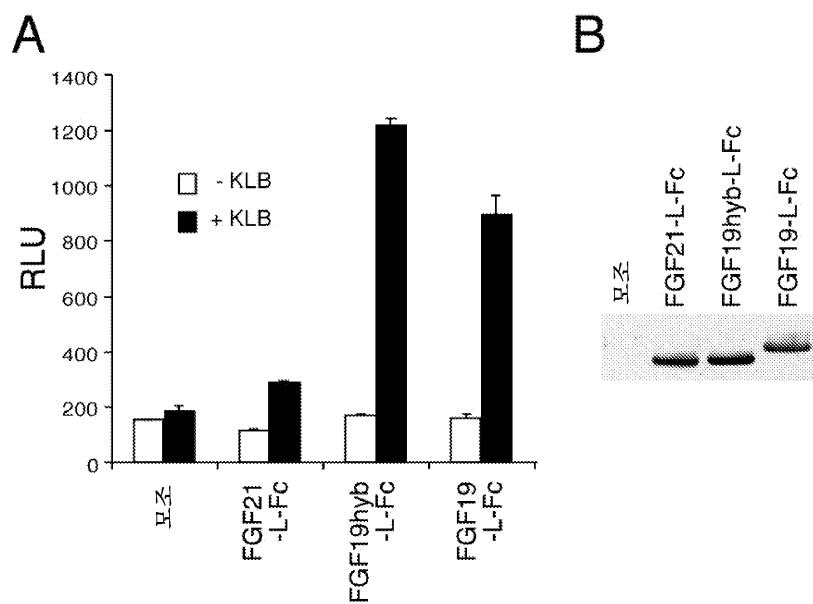
도면7



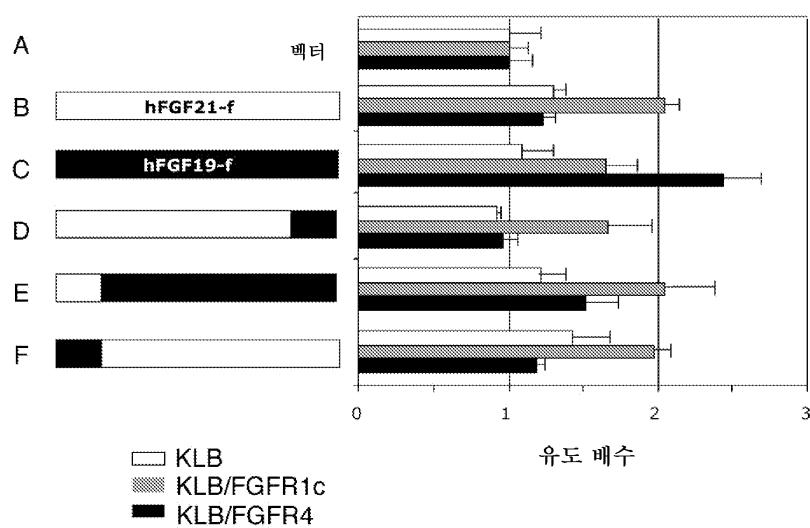
도면8



도면9



도면10



도면11

		293	R1c	R4
A	hFGF21-f	+	+	-
B		+	+	-
C		+	+	-
D		+	+	+/-
E		+	+	+/-
F		+	+	+
G		+	+	+
H		+	+	+
I		+/-		
J		-		
K		+	+	+
L	hFGF19-f	+	+	+

도면12

		293	R1c	R4
A	hFGF19-f	+	+	+
B		+	+	+
C	293	+	+	+/-
D		-		
E		-		
F		-		
G		-		
H		-		
I		-		
J		+	+	-
K	hFGF21-f	+	+	-

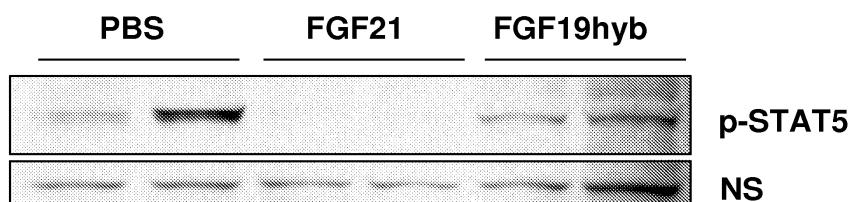
도면13

			293/ KLB	L6/ R4+KLB
A	hFGF21:	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAHLEREDG..	+	-
B	hFGF19:	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+
C		HPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+
D		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+/-
E		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADG..	+	+/-
F		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_LSSCFLRIRADG..	+	-
G		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTSCFLRIRADG..	+	-
H		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAFLRIRADG..	-	NT

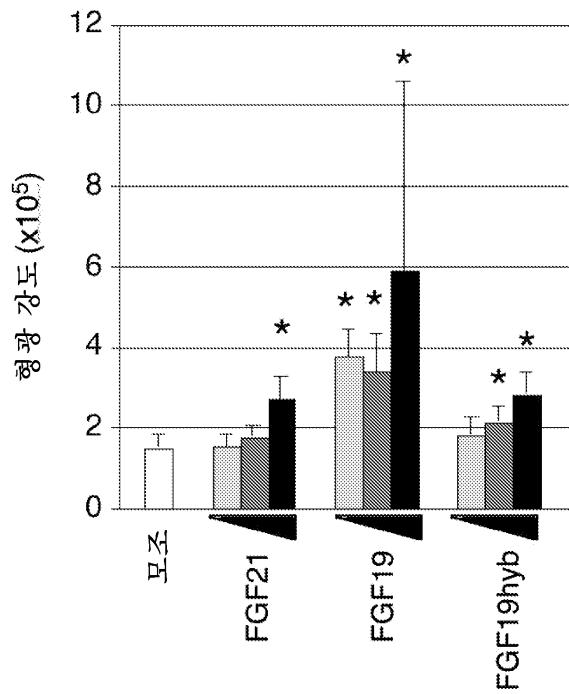
도면14

			293/ KLB	L6/KLB+ R1c	R4
	hFGF21:	HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAHLEREDG..	+	+	-
	hFGF19:	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+	+
A		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+	+/-
B		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADG..	+	+	+/-
C		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_LSSCFLRIRADG..	+	+	-
D		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTSCFLRIRADG..	+	+	-
E		HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAFLRIRADG..	-	NT	NT
F		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTSGPHGLSSCFLRIRADG..	+	+	+/-
G		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDPHGLSSCFLRIRADG..	+/-	NT	NT
H		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQGLSSCFLRIRADG..	-	NT	NT
I		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_LSSCFLRIRADG..	-	NT	NT
J		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTSCFLRIRADG..	-	NT	NT
K		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAFLRIRADG..	-	NT	NT
L		RPLAFSDAGPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ_QTEAHLEREDG..	+	+	-

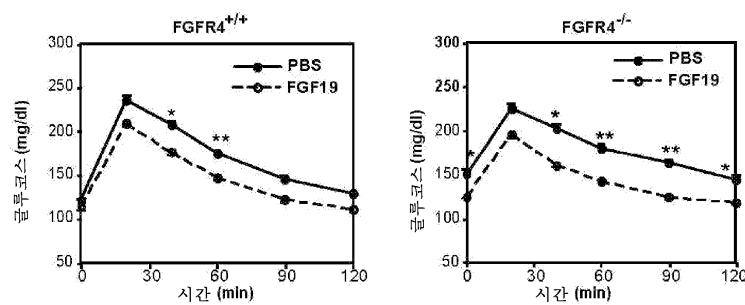
도면15



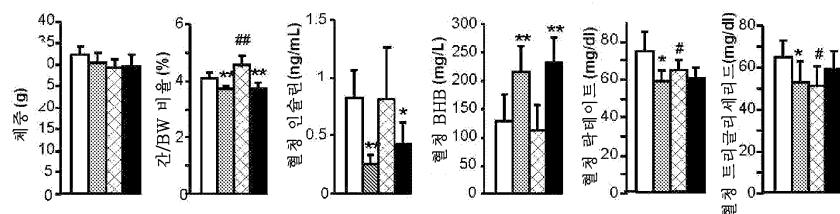
도면16



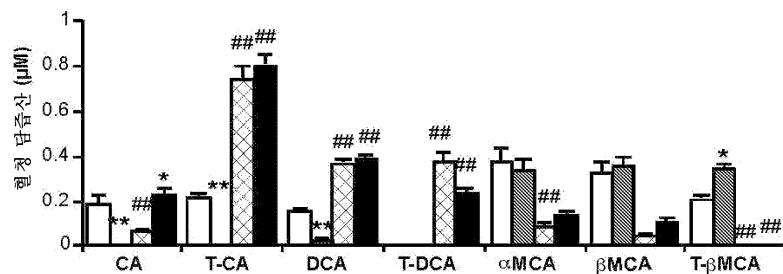
도면17a



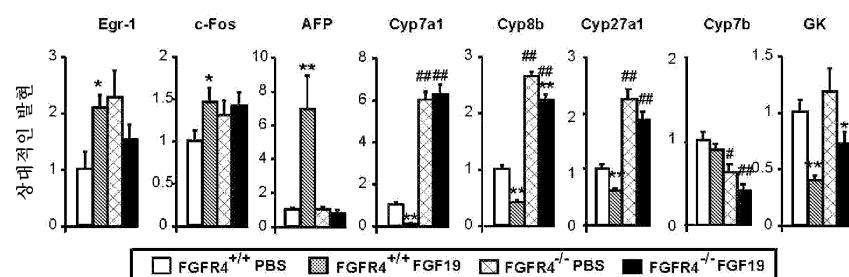
도면17b



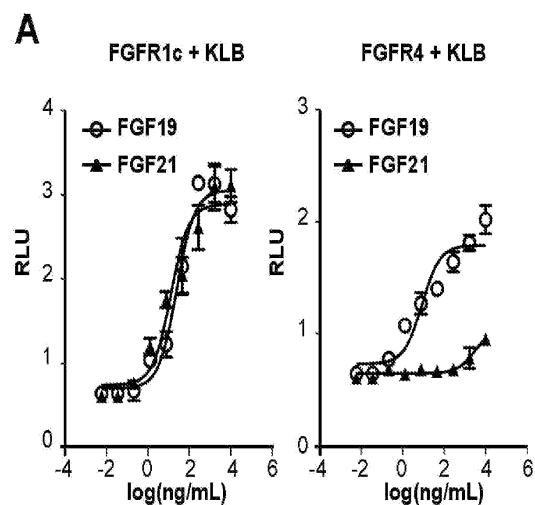
도면17c



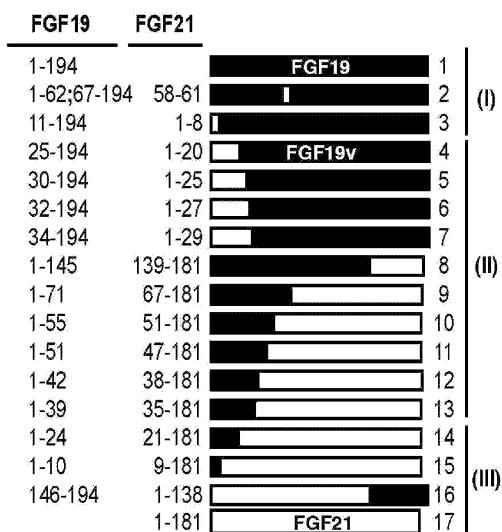
도면17d



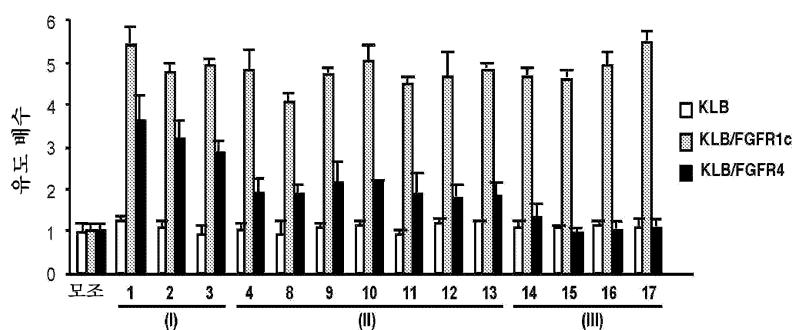
도면18a



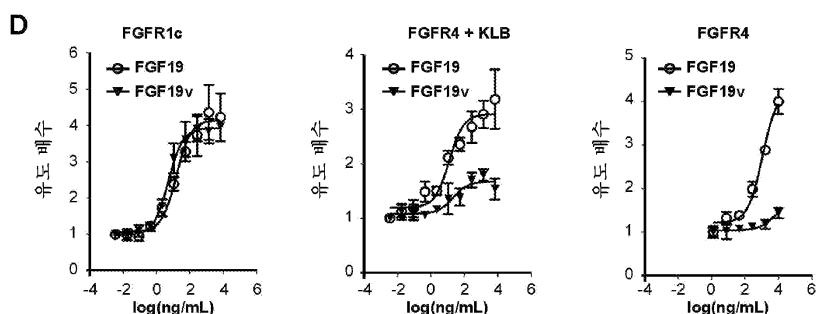
도면18b



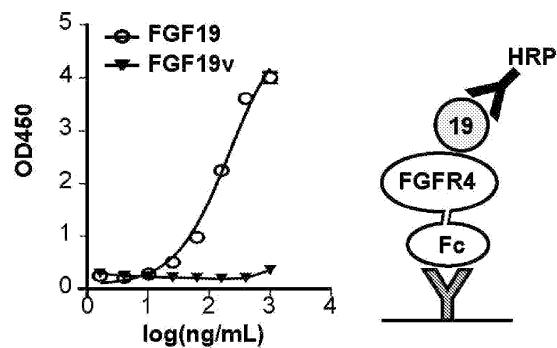
도면18c



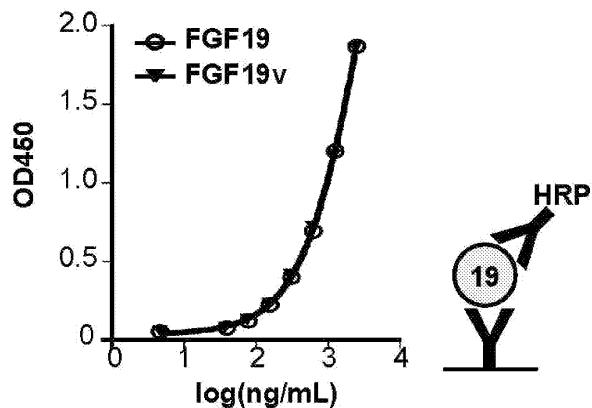
도면18d



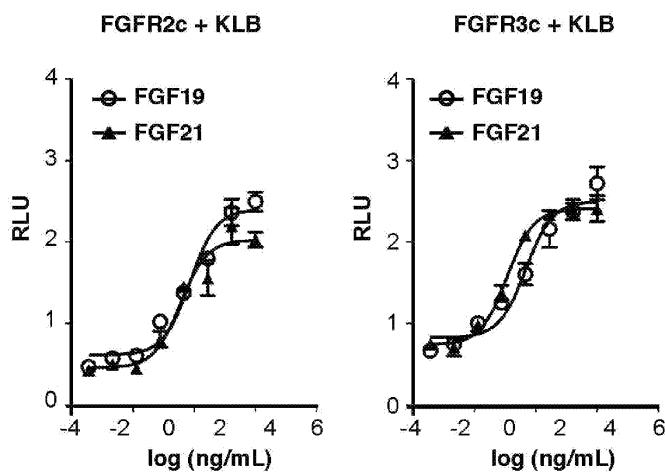
도면18e



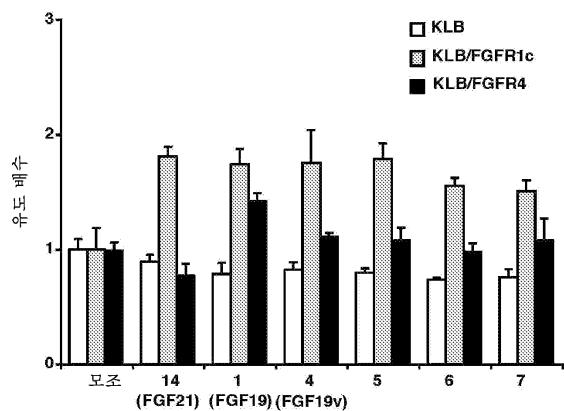
도면18f



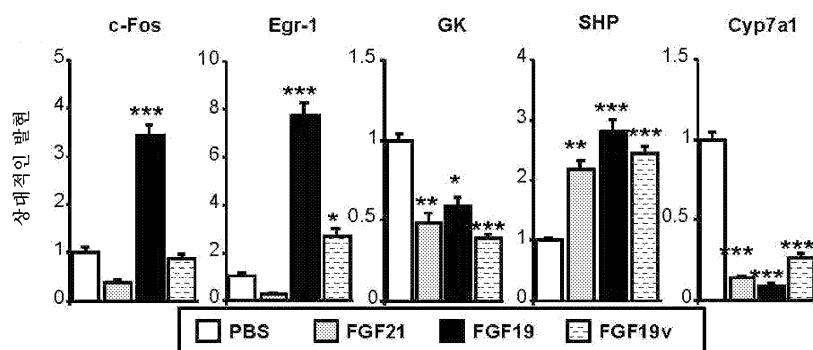
도면19



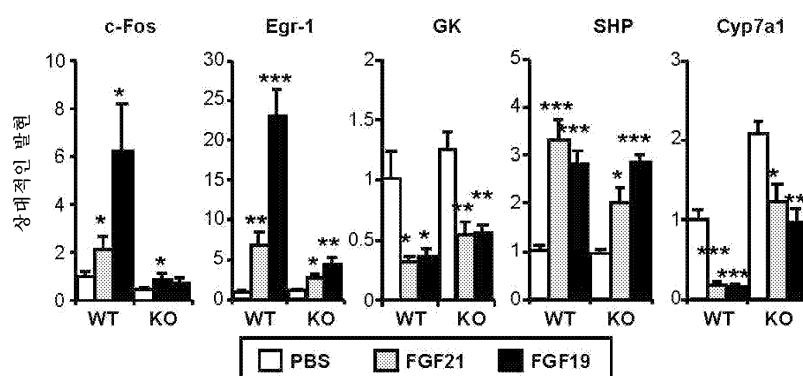
도면20



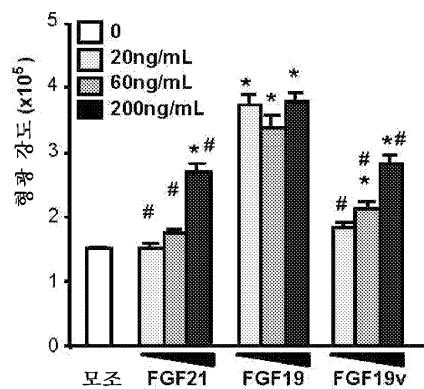
도면21a



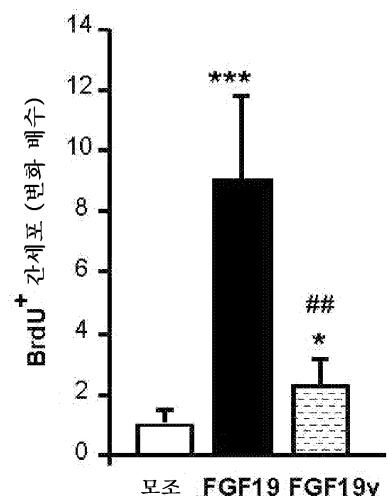
도면21b



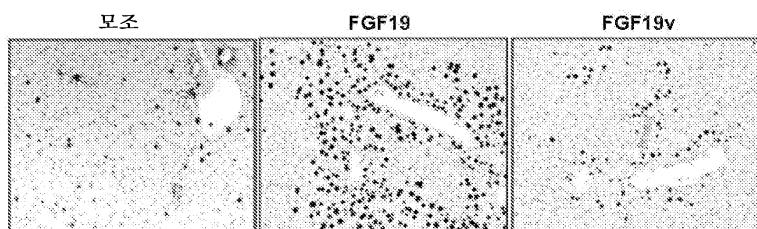
도면21c



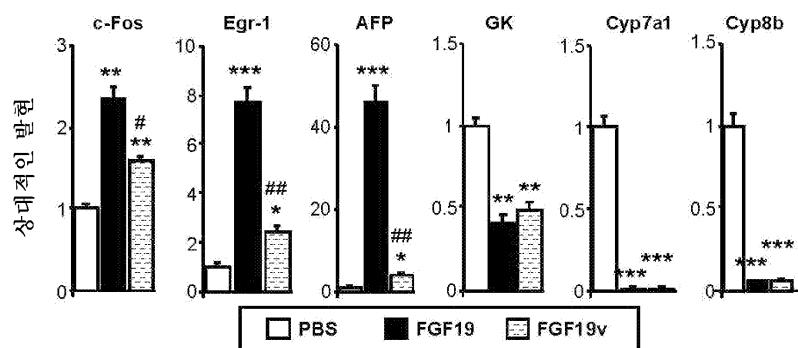
도면21d



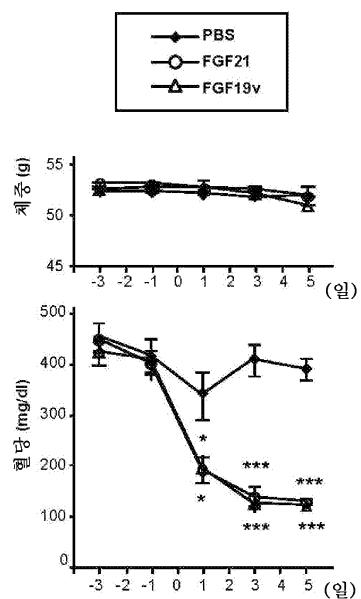
도면21e



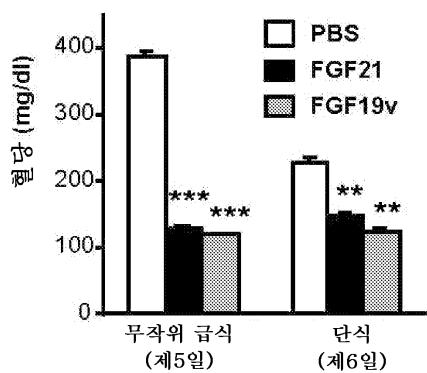
도면21f



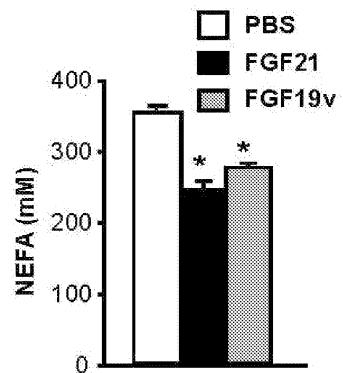
도면22a



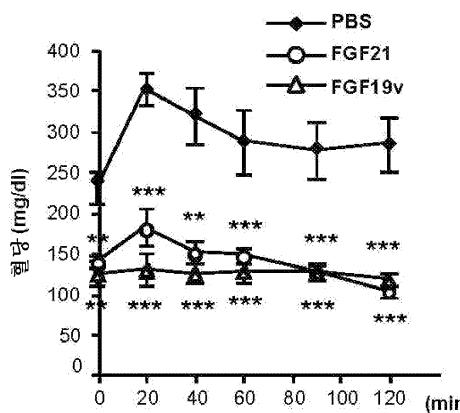
도면22b



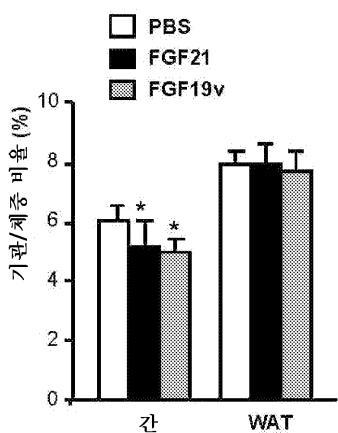
도면22c



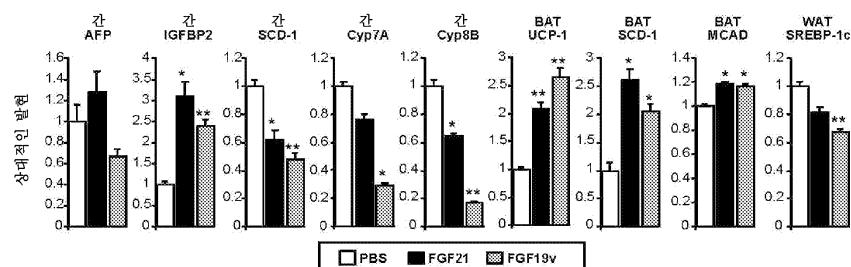
도면22d



도면22e



도면22f



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC.

<120> CHIMERIC FIBROBLAST GROWTH FACTORS WITH ALTERED RECEPTOR

SPECIFICITY

<130> 146392006840

<140> PCT/US2010/052852

<141> 2010-10-15

<150> 61/252,074

<151> 2009-10-15

<160> 317

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 194

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys

<210> 2

<211> 181

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro

115	120	125
-----	-----	-----

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

130	135	140
-----	-----	-----

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser

165	170	175
-----	-----	-----

Pro Ser Tyr Ala Ser

180

<210> 3

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 3

Met Arg Ser Gly Cys Val Val Val His Val Trp Ile Leu Ala Gly Leu

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

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

20	25	30
----	----	----

His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr

35	40	45
----	----	----

Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala

50	55	60
----	----	----

Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu

65	70	75	80
Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His			
85	90	95	
Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu			
100	105	110	
Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro			
115	120	125	
Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser			
130	135	140	
Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu			
145	150	155	160
Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro			
165	170	175	
Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu			
180	185	190	
Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala			
195	200	205	
Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys			
210	215		
<210> 4			
<211> 209			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide			
<400> 4			
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser			
1	5	10	15
Val Leu Ala Gly Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro			
20	25	30	
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr			
35	40	45	

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
 50 55 60

Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
 85 90 95

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
 100 105 110

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
 115 120 125

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
 130 135 140

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
 145 150 155 160

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu
 165 170 175

Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
 180 185 190

Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
 195 200 205

Ser

<210> 5

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 5

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

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

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

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

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<211> 570

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 7

caccccatcc ctgactccag tccttcctg caattcgggg gccaagtccg gcagcgtac 60

ctctacacct ccggcccca cgggctctcc agctgtttcc tgcgcatccg tgccgacggc	120
gtcggtggact gcgcgcgggg ccagagcgcg cacagttgc tggagatcaa ggcagtcgt	180
ctgcggaccg tggccatcaa gggcgtgcac agcgtgcgtt acctctgtat gggcggcac	240
ggcaagatgc agggctgtct ctagtactcg gaggaagact gtgcittcga ggaggagatc	300

cgcgcagatg gctacaatgt gtaccgatcc gagaagcacc gcctccggc ctccctgagc	360
agtgc当地aaac agcggcagct gtacaagaac agaggcttc ttccactctc tcattcctg	420
cccatgtgc ccatggtccc agaggagcct gaggaccta gggccactt ggaatctgac	480
atgttctttt ccccccttggaa gaccgacaggc atggaccat ttggccttgt caccggactg	540
gaggccgtga ggagtccag ctttgagaag	570

<210> 8

<211> 185

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

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

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

20	25	30
----	----	----

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu

35	40	45
----	----	----

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val

50	55	60
----	----	----

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly

65	70	75	80
----	----	----	----

Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg

85	90	95
----	----	----

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe

115	120	125
-----	-----	-----

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu

130	135	140
Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro		
145	150	155
Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu		
165	170	175
Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys		
180	185	

<210> 9

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr

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

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

130	135	140
Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu		
145	150	155
160		

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

165

170

175

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

180

<210> 10

<211> 170

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser

20

25

30

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly

35

40

45

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln

50

55

60

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile

65 70 75 80

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro

85

90

95

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

100

105

110

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu

115

120

125

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

130

135

140

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu

145 150 155 160

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

165

170

<210> 11

<211> 169

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

1 5 10 15

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu

20 25 30

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val

35 40 45

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly

50 55 60

Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg

65 70 75 80

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val

85 90 95

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe

100 105 110

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu

115 120 125

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

130 135 140

Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu

145 150 155 160

Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

165

<210> 12

<211> 168

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala

1	5	10	15
Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu			
20	25	30	
Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His			
35	40	45	
Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu			
50	55	60	
Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro			
65	70	75	80
Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser			
85	90	95	
Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu			
100	105	110	
Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro			
115	120	125	
Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu			
130	135	140	
Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala			
145	150	155	160
Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys			
165			

<210> 13

<211> 167

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu

50 55 60
Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp

65 70 75 80
Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu

85 90 95
Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro

100 105 110
Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu

115 120 125
Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu

130 135 140
Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val

145 150 155 160
Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

165
<210> 14

<211> 165

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val

1 5 10 15
Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys

20 25 30

Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg

35 40 45

Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr

50 55 60

Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr

65 70 75 80

Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser

85 90 95

Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser

100 105 110

His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu

115 120 125

Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Ser Phe Glu Lys

165

<210> 15

<211> 162

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

1 5 10 15

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

20 25 30

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

35 40 45

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

50 55 60

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

65 70 75 80

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

85 90 95

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

100 105 110

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Lys

<210> 16

<211> 160

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg

1 5 10 15

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg

20 25 30

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly

35 40 45

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys

50 55 60

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser

65 70 75 80

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln

85 90 95

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met

100 105 110

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

<210> 17

<211> 158

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val

20 25 30

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp

35 40 45

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr

85 90 95

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro

100 105 110

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg His Leu Glu Ser Asp

115 120 125

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu

130 135 140

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

145 150 155

<210> 18

<211> 155

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His

1 5 10 15

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys

20 25 30

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met

35 40 45

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu

50 55 60

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro

100 105 110

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

115 120 125

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly

130 135 140

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

145 150 155

<210> 19

<211> 154

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly

20 25 30

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln

35 40 45

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile

50 55 60

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu

130 135 140

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

145 150

<210> 20

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu

1 5 10 15

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val

20 25 30

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly

35 40 45

Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg

50 55 60

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val

65 70 75 80

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe

85 90 95

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu

100 105 110

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

115 120 125

Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu

130 135 140

Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

145 150

<210> 21

<211> 152

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu

1 5 10 15

Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His

20 25 30

Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu

35 40 45

Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro

50 55 60

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser

65 70 75 80

Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu

85 90 95

Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

145 150

<210> 22

<211> 151

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser

20 25 30

Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu

35 40 45

Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp

50 55 60

Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu

65 70 75 80

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro

85 90 95

Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

145 150

<210> 23

<211> 150

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile

1 5 10 15

Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val

20	25	30
Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln		
35	40	45
Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly		
50	55	60
Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser		
65	70	75
Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu		
85	90	95
Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp		
100	105	110
Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr		
115	120	125
Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg		
130	135	140
Ser Pro Ser Phe Glu Lys		
145	150	
<210> 24		
<211> 143		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 24		
Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr		
1	5	10
Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala		
20	25	30
Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala		
35	40	45
Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu		
50	55	60
Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu		
65	70	75
Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala		

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 85 90 95
 Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser

100 105 110
 Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 115 120 125

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 130 135 140
 <210> 25

<211> 142

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 1 5 10 15

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
 20 25 30

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
 35 40 45

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
 50 55 60

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
 65 70 75 80

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
 85 90 95

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
 100 105 110

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
 115 120 125

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 130 135 140

<210> 26

<211> 141

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

1 5 10 15

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

20 25 30

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

35 40 45

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

50 55 60

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

65 70 75 80

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

85 90 95

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

100 105 110

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

115 120 125

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

130 135 140

<210> 27

<211> 139

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys

1 5 10 15

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met

20 25 30

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu

35 40 45

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro

85 90 95

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

100 105 110

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly

115 120 125

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

130 135

<210> 28

<211> 138

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly

1 5 10 15

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln

20 25 30

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile

35 40 45

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu

85 90 95

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

100 105 110

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu

115 120 125

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

130 135

<210> 29

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val

1 5 10 15

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly

20 25 30

Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg

35 40 45

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe

65 70 75 80

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu

85 90 95

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

100 105 110

Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu

115 120 125

Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

130 135

<210> 30

<211> 136

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His

1 5 10 15

Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu

20 25 30

Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro

35 40 45

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu

65 70 75 80

Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

130 135

<210> 31

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met

1 5 10 15

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu

20 25 30

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu

35 40 45

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

50	55	60
Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro		
65	70	75
Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser		
85	90	95
Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly		

100	105	110
Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys		

115	120
-----	-----

<210> 32

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln

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

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile		
20	25	30

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu

100	105	110
-----	-----	-----

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

115	120
-----	-----

<210> 33

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly

1 5 10 15

Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg

20 25 30

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val

35 40 45

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe

50 55 60

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu

100 105 110

Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

115 120

<210> 34

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser

1 5 10 15

Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn

20 25 30

Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala

35 40 45

Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His

50 55 60

Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser

85 90 95

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

100 105 110

Ser Phe Glu Lys

115

<210> 35

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu

1 5 10 15

Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val

20 25 30

Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys

35 40 45

Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe

50 55 60

Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly

65 70 75 80

His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met

85 90 95

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

100 105 110

Phe Glu Lys

115

<210> 36

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

1 5 10 15

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

20 25 30

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

35 40 45

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

50 55 60

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Glu Lys

<210> 37

<211> 52

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg

1 5 10 15

Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ser Phe Glu Lys

50

<210> 38

<211> 51

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 38

Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly

1 5 10 15

His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met

20 25 30

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

35 40 45

Phe Glu Lys

50

<210> 39

<211> 50

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 39

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Glu Lys

50

<210> 40

<211> 49

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser

1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro

1 5

<210> 43

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr

20

<210> 44

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu

20

<210> 45

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr

20

<210> 46

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

20

<210> 47

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp

20 25

<210> 48

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln

20	25
----	----

<210> 49

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr

20	25
----	----

<210> 50

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

20	25	30
----	----	----

<210> 51

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu

<210> 52

<211> 35

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 52

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Ile

35

<210> 53

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Ile Arg

35

<210> 54

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Ile Arg Glu

35

<210> 55

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Ile Arg Glu Asp

35

<210> 56

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

35

<210> 57

<211> 46

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp		
35	40	45
<210> 58		
<211> 47		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 58		
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val		
1	5	10
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His		
20	25	30
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln		
35	40	45
<210> 59		
<211> 48		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 59		
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val		
1	5	10
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His		
20	25	30
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser		
35	40	45
<210> 60		
<211> 50		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 60		
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val		
1	5	10
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His		

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Pro Glu

50

<210> 61

<211> 51

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Pro Glu Ser

50

<210> 62

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Pro Glu Ser Leu

50

<210> 63

<211> 53

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Pro Glu Ser Leu Leu

50

<210> 64

<211

> 66

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu

65

<210> 65

<211> 67

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1	5	10	15
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His			
20	25	30	
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser			
35	40	45	

50	55	60	
Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln			

Ile Leu Gly

65

<210> 66

<211> 68

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20	25	30	
----	----	----	--

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35	40	45	
----	----	----	--

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

50	55	60	
----	----	----	--

Ile Leu Gly Val

65

<210> 67

<211> 73

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe

65 70

<210> 68

<211> 74

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu

65 70

<210> 69

<211> 75

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75

<210> 70

<211> 135

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

85 90 95

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

100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro

115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg

130 135

<210> 71

<211> 136

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

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

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

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110
 Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125
 Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe
 130 135

<210> 72

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
 65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
 85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu

130 135

<210> 73

<211> 138

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<400> 73

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
 20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser
 35 40 45

Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
 50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
 65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
 85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
 130 135
 <210> 74
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 74
 His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15
 Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30
 Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45
 Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60
 Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80
 Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95
 Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110
 Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125
 Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140
 Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160
 Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175
 Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

180 185 190

<210> 75

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 75

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
 35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
 65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe

85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
 100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
 115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
 130 135 140

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

145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
 165 170 175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 76

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 76

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu Ser Ser Cys Phe
20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala
50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

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

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 77

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 77

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser Cys Phe
20 25 30Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser
35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu
85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 78

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 78

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

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

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

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

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

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 79

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 79

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 80

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 80

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 81

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 81

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 82

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 82

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 83

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 83

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 84

<211> 189

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 84

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185

<210> 85

<211> 187

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 85

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

85 90 95

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

100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro

115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly

165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

180 185

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly

1 5

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro

1 5 10

<210> 88

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His

20

<210> 89

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

20 25

<210> 90

<211> 26

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr

20 25

<210> 91

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr

20 25

<210> 92

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg

35

<210> 93

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

35 40

<210> 94

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

35 40

<210> 95

<211> 42

<212> PRT

<

<213> Homo sapiens

<400> 95

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala

35 40

<210> 96

<211> 43

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp

35 40

<210> 97

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 98

<211> 51

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly

50

<210> 99

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35

40

45

Ala Arg Gly Gln

50

<210> 100

<211> 53

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1

5

10

15

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

20

25

30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35

40

45

Ala Arg Gly Gln Ser

50

<210> 101

<211> 55

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1

5

10

15

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

20

25

30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35

40

45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His

50

55

<210> 102

<211> 56

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser

50 55

<210> 103

<211> 57

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu

50 55

<210> 104

<211> 58

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu

50 55

<210> 105

<211> 71

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys

65 70

<210> 106

<211> 72

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly

65 70

<210> 107

<211> 73

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val

65 70

<210> 108

<211> 78

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr

65 70 75

<210> 109

<211> 79

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu

65 70 75

<210> 110

<211> 80

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

<210> 111

<211> 142

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His

130 135 140

<210> 112

<211> 143

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe
 130 135 140

<210> 113

<211> 144

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115

120

125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130

135

140

<210> 114

<211> 145

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro

145

<210> 115

<211> 174

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
 1 5 10 15
 Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly
 20 25 30

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

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

Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
 65 70 75 80

Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly
 85 90 95

Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro
 100 105 110

Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg
 115 120 125

Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly
 130 135 140

Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
 145 150 155 160

Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

165 170

<210> 116

<211> 173

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp
 1 5 10 15
 Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr
 20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe

65 70 75 80

Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr

85 90 95

Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly

100 105 110

Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe

115 120 125

Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170

<210> 117

<211> 161

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val

35 40 45

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly

50 55 60

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

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

<210> 118
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 118

Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu

1 5 10 15
 Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
 20 25 30
 Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
 35 40 45

Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
 50 55 60
 Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu

65 70 75 80
 Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
 85 90 95
 Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro

100	105	110
Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro		
115	120	125
Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro		
130	135	140
Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser		
145	150	155
<210> 119		
<211> 159		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 119		
Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp		
1	5	10
Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln		
20	25	30
Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr		
35	40	45
Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu		
50	55	60
His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp		
65	70	75
Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu		
85	90	95
Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala		
100	105	110
Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro		
115	120	125
Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu		
130	135	140
Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser		

145 150 155

<210> 120

<211> 158

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro

85 90 95

Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg

100 105 110

Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly

115 120 125

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

130 135 140

Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

145 150 155

<210> 121

<211> 147

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

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

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

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro

85	90	95
----	----	----

Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu

100	105	110
-----	-----	-----

Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser

115	120	125
-----	-----	-----

Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser

130	135	140
-----	-----	-----

Tyr Ala Ser

145

<210> 122

<211> 146

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser

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

Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu

50	55	60
Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro		
65	70	75
Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg		
85	90	95
Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro		
100	105	110
Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser		
115	120	125
Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr		
130	135	140
Ala Ser		
145		
<210> 123		
<211> 145		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 123		
Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu		
1	5	10
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val		
20	25	30
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly		
35	40	45
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu		
50	55	60
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu		
65	70	75
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly		
85	90	95
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu		
100	105	110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ser

145

<210> 124

<211> 144

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

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

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys

20 25 30

Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser

35 40 45

Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu

50 55 60

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His

65 70 75 80

Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro

85 90 95

Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

<210> 125

<211> 143

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu

35 40 45

His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp

50 55 60

Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu

65 70 75 80

Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala

85 90 95

Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro

100 105 110

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

115 120 125

Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

130 135 140

<210> 126

<211> 142

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His

35 40 45

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

50	55	60
Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro		
65	70	75
Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg		

85	90	95
Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly		
100	105	110
Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser		
115	120	125
Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser		
130	135	140
<210> 127		
<211> 135		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 127		

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

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

115

120

125

Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

130

135

<210> 128

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

35

40

45

Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

50

55

60

His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp

65

70

75

80

Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

85

90

95

Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp

100

105

110

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg

115

120

125

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

130

<210> 129

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

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

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

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

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val			
100	105	110	
Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser			
115	120	125	
Pro Ser Tyr Ala Ser			
130			

<210> 130
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 130

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

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

65 70 75 80

Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu

85 90 95

Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser

100 105 110

Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser

115 120 125

Tyr Ala Ser

130

<210> 131

<211> 130

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu

35 40 45

Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro

85 90 95

Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser

100 105 110

Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr

115 120 125

Ala Ser

130

<210> 132

<211> 129

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val

1 5 10 15

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly

20 25 30

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu

35 40 45

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu

50 55 60

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly

65 70 75 80

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser

<210> 133

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys

1 5 10 15

Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser

20 25 30

Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu

35 40 45

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His

50 55 60

Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro

65 70 75 80

Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

<210> 134

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

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

1 5 10 15

Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu

20 25 30

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

35 40 45

Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro

50 55 60

Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu

65 70 75 80

Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser

85 90 95

Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser

100 105 110

Tyr Ala Ser

115

<210> 135

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

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

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

Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu

20	25	30
----	----	----

Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro

35	40	45
----	----	----

Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg

50	55	60
----	----	----

Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser

85	90	95
----	----	----

Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr

100	105	110
-----	-----	-----

Ala Ser

<210> 136

<211> 113

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly

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

Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu

20	25	30
----	----	----

Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu

35 40 45

His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly

50 55 60

Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ser

<210> 137

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp

1 5 10 15

Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn

20 25 30

Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn

35 40 45

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

50 55 60

Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

100 105

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro

1 5 10 15

Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val

20 25 30

Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys

35 40 45

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

50 55 60

Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

100 105

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

1 5 10 15

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

20 25 30

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

35 40 45

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

50 55 60

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

65 70 75 80

Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 85 90 95
 Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 100 105

<210> 140

<211> 46

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly
 1 5 10 15

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

20 25 30

Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

35 40 45

<210> 141

<211> 45

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile
 1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

<210> 142

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

35 40

<210> 143

<211> 43

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

35 40

<210> 144

<211> 183

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 144

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20 25 30

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp

35 40 45

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

50 55 60

Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro

65 70 75 80

Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser

85 90 95

Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu

100 105 110

Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg

115 120 125

Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180

<210> 145

<211> 185

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 145

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala

35 40 45

Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro

50 55 60

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln

65 70 75 80

Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala

85 90 95

Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln

100 105 110

Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro

115 120 125

His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser

165 170 175

Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 146

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 146

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly

35 40 45

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys

50 55 60

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
 85 90 95
 Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110
 Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
 115 120 125
 Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
 130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
 145 150 155 160
 Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 165 170 175
 Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180 185

<210> 147

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 147

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15
 Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Thr Val Gly Gly
 35 40 45

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
 50 55 60
 Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80
 Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85	90	95
Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr		
100	105	110
Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser		
115	120	125
Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu		

130	135	140
Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro		
145	150	155
Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro		
165	170	175
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser		
180	185	

<210> 148

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 148

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

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

50 55 60

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110
 Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
 115 120 125

 Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
 130 135 140
 Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
 145 150 155 160
 Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 165 170 175
 Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180 185
<210> 149
<211> 186
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
<400> 149
 Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15
 Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30
 Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

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

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 150

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 150

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 151

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 151

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
 115 120 125
 Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
 130 135 140
 Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
 145 150 155 160

Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 165 170 175
 Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180 185

<210> 152

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 152

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

20 25 30
 Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60
 Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80
 Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

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

115	120	125
Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu		
130	135	140
Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu		

145	150	155	160
Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val			
165	170	175	
Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser			
180	185		

<210> 153

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

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

Tyr Thr

<210> 154

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

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

Tyr Thr Ser Gly

20

<210> 155

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His

20

<210> 156

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly

20

<210> 157

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser

20 25

<210> 158

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25

<210> 159

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

20 25 30

<210> 160

<211> 35

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

20 25 30

Ala Asp Gly

35

<210> 161

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu

1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg

20 25 30

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40

<210> 162

<211> 49

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

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

<210> 163

<211> 64

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu
 1 5 10 15
 Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg
 20 25 30

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu

35 40 45

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val
 50 55 60

<210> 164

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr

1 5 10

<210> 165

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

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

1 5 10

<210> 166

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

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

1 5 10 15

<210> 167

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

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

1 5 10 15

<210> 168

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

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

1 5 10 15

Leu Ser

<210> 169

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

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

1 5 10 15

Leu Ser Ser Cys

20

<210> 170

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr

1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly

1 5

<210> 172

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His

1 5 10

<210> 173

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly

1 5 10

<210> 174

<211> 14

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<400> 174

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser

1 5 10

<210> 175

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

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

1 5 10 15

<210> 176

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg

<210> 177

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg Ala Asp Gly

20

<210> 178

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser
20 25

<210> 179

<211> 34

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser

20 25 30

Leu Leu

<210> 180

<211> 49

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile

1 5 10 15

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser

20 25 30

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly

35 40 45

Val

<210> 181

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Val Ala Leu Arg

1

<210> 182

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

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

1

5

10

15

<210> 183

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

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

1

5

10

15

Asp Asp

<210> 184

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

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

1

5

10

15

Asp Asp Ala Gln

20

<210> 185

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

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

1

5

10

15

Asp Asp Ala Gln Gln Thr

20

<210> 186

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

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

1 5 10 15

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

20

<210> 187

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

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

1 5 10 15

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

20 25

<210> 188

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

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

1 5 10 15

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

20 25 30

<210> 189

<211> 41

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

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

<210> 190

<211> 46

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

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

<210> 191

<211> 55

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

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

<210> 192

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

1 5 10

<210> 193

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

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

1 5 10

<210> 194

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

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

1 5 10 15

<210> 195

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

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

1 5 10 15

Thr

<210> 196

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
 1 5 10 15
 Thr Glu Ala

<210> 197

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

1 5

<210> 198

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp

1 5

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln

1 5 10

<210> 200

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr

1 5 10

<210> 201

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

1 5 10 15

<210> 202

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 202

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

<210> 203

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 203

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

Glu Asp Gly

<210> 204

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 204

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

20 25

<210> 205

<211> 33

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 205

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu

<210> 206

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 206

Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val

35 40

<210> 207

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 207

Leu Lys Pro Gly

1

<210> 208

<211> 192

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 208

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

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

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

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 209

<211> 192

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 209

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

1	5	10	15
Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser			
20	25	30	
Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg			
35	40	45	
Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg			
50	55	60	
Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly			
65	70	75	80
Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys			
85	90	95	
Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser			
100	105	110	
Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln			
115	120	125	
Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met			
130	135	140	
Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu			
145	150	155	160
Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe			
165	170	175	
Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys			
180	185	190	
<210> 210			
<211> 192			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic			
polypeptide			
<400> 210			
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly			

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

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gly Leu Ser

20	25	30
----	----	----

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg

35	40	45
----	----	----

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg

50	55	60
----	----	----

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly

65	70	75	80
----	----	----	----

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys

85	90	95
----	----	----

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser

100	105	110
-----	-----	-----

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln

115	120	125
-----	-----	-----

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met

130	135	140
-----	-----	-----

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

<210> 211

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 211

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

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

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

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

<210> 212

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 212

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser

20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165 170 175

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

180 185 190

<210> 213

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 213

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20	25	30
----	----	----

Ala Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35	40	45
----	----	----

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50	55	60
----	----	----

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85	90	95
----	----	----

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100	105	110
-----	-----	-----

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115	120	125
-----	-----	-----

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

<210> 214

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 214

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

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

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20	25	30
Ala His Leu Glu Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly		
35	40	45
Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr		
50	55	60
Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala		
65	70	75
Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala		
85	90	95
Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu		
100	105	110
Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu		
115	120	125
Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu		
130	135	140
Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser		
145	150	155
Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly		
165	170	175
Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys		
180	185	190
<210> 215		
<211> 191		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic		

polypeptide

<400> 215		
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly		
1	5	10
Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu		
20	25	30

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165 170 175

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

180 185 190

<210> 216

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 216

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20 25 30

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp

35	40	45
----	----	----

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

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

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

180	185	190
-----	-----	-----

<210> 217

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 217

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

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

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20	25	30
----	----	----

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp

35 40 45

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

50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165 170 175

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

180 185 190

<210> 218

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 218

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20 25 30

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp

35 40 45

Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
 50 55 60
 Ile Gln Ile Leu Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95
 Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110
 Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125
 Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160
 Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175
 Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 219

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 219

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

50	55	60
Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys		
65	70	75
Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu		
85	90	95
Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr		
100	105	110
Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln		
115	120	125
Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu		
130	135	140
Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His		
145	150	155
Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp		
165	170	175
Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe		
180	185	190

Glu Lys

<210> 220
<211> 194
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 220
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15
Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly
20 25 30
Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

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

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

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190
 Glu Lys

<210> 221
<211> 194
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 221
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15
Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gly

20	25	30
----	----	----

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35	40	45
----	----	----

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50	55	60
----	----	----

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65	70	75	80
----	----	----	----

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85	90	95
----	----	----

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115	120	125
-----	-----	-----

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Glu Lys

<210> 222

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 222

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

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

<210> 223

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 223

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

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

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

20	25	30
----	----	----

Thr Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala

35	40	45
----	----	----

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu

50	55	60
----	----	----

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65	70	75	80
----	----	----	----

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85	90	95
----	----	----

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115	120	125
-----	-----	-----

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130	135	140
-----	-----	-----

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Lys

<210> 224

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 224

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Glu Ala Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala

35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu

50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 225

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 225

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys

<210> 226

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 226

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys

<210> 227

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 227

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gly

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys

<210> 228

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 228

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu

20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala

35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu

50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 229

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 229

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
20 25 30Thr Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 230

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 230

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 231

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 231

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

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

35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu

50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 232

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 232

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 233

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 233

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala

35 40 45

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

50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Lys

<210> 234

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 234

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala

35 40 45

Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu

50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro

130	135	140
Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu		
145	150	155
Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro		
165	170	175
Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu		
180	185	190
Lys		

<210> 235

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 235

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala

35 40 45

Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro

50 55 60

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met

65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp

85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg

100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg

115 120 125

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

Lys

<210> 236

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 236

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

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

50 55 60

Pro Gly Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys

<210> 237

<211> 202

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 237

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85	90	95
----	----	----

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100	105	110
-----	-----	-----

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115	120	125
-----	-----	-----

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

195	200	
-----	-----	--

<210> 238

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 238

His His His His His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln

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

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

20	25	30
----	----	----

Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly

35	40	45
----	----	----

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys

50	55	60
----	----	----

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65	70	75	80
Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu			
85	90	95	
Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr			
100	105	110	
Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser			
115	120	125	
Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu			
130	135	140	
Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro			
145	150	155	160
Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro			
165	170	175	
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser			
180	185		
<210> 239			
<211> 189			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide			
<400> 239			
His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val			
1	5	10	15
Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His			
20	25	30	
Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser			
35	40	45	
Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln			
50	55	60	
Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly			
65	70	75	80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
 85 90 95
 Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110
 Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
 130 135 140
 Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
 145 150 155 160
 Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
 165 170 175
 Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
 180 185
 <210> 240

<211> 192
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 240
 Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Leu Glu His Pro Ile Pro Asp
 1 5 10 15
 Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
 20 25 30
 Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
 35 40 45

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

85 90 95

Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu

100 105 110

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His

115 120 125

Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro

130 135 140

Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

<210> 241

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 241

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg

35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg

50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly

65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys

85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser

100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln

115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met

130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

195 200

<210> 242

<211> 198

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 242

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln

35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val

50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp

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

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
 115 120 125
 Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro

130 135 140
 Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
 145 150 155 160
 Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
 165 170 175
 Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr
 180 185 190
 Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 195

<210> 243
<211> 198
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 243
 His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15
 Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
 20 25 30
 Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
 35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

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

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

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr
 180 185 190
 Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 195
<210> 244

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 244

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

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu Ser Ser Cys Phe
 20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50	55	60	
Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly			
65	70	75	80
Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu			

85	90	95	
Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His			
100	105	110	
Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys			
115	120	125	
Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met			
130	135	140	
Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met			

145	150	155	160	
Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val				
165	170	175		
Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr Lys				
180	185	190		
Asp Asp Asp Asp Lys				

195

<210> 245

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 245

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

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 246

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 246

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 247

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 247

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser

35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala

50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 248

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 248

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

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

 115 120 125
 Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met
 130 135 140
 Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met
 145 150 155 160
 Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val
 165 170 175
 Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr Lys

 180 185 190
 Asp Asp Asp Asp Lys
 195
 <210> 249
 <211> 197
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 249

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

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

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

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val
 165 170 175
 Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr Lys
 180 185 190
 Asp Asp Asp Asp Lys
 195

<210> 250

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 250

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

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

<210

> 251

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 251

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 252

<211> 197

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 252

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly

65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu

85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His

100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys

115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val

165 170 175

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

180 185 190

Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 253

<211> 195

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 253

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

85 90 95

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

100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro

115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly

165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp

180 185 190

Asp Asp Lys

195

<210> 254

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 254

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20 25 30

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp

35 40 45

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

50 55 60

Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro

65 70 75 80

Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser

85 90 95

Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu

100 105 110

Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg

115 120 125

Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

180 185 190

<210> 255

<211> 193

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 255

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala

35 40 45

Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro

50 55 60

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln

65 70 75 80

Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala

85 90 95

Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln

100 105 110

Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro

115 120 125

His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser

165 170 175

Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

180 185 190

Lys

<210> 256

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 256

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

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

<210> 257

<211> 194

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 257

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Thr Val Gly Gly
35 40 45Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
50 55 60Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
65 70 75 80Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
85 90 95Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
115 120 125Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
130 135 140Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
145 150 155 160Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

180	185	190	
Asp Lys			
<210> 258			
<211> 194			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide			
<400> 258			
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp			
1	5	10	15
Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly			
20	25	30	
Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys			
35	40	45	
Ala Arg Gly Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys			
50	55	60	
Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys			
65	70	75	80
Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu			
85	90	95	
Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr			
100	105	110	
Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser			
115	120	125	
Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu			
130	135	140	
Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro			
145	150	155	160
Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro			
165	170	175	

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
 180 185 190
 Asp Lys

<210> 259

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 259

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
 50 55 60

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
 65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
 85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
 115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
 130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
 145 150 155 160

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

165	170	175
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp		
180	185	190
Asp Lys		

<210> 260

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 260

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 165 170 175
 Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
 180 185 190

Asp Lys

<210> 261

<211> 194

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 261

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

180 185 190

Asp Lys

<210> 262

<211> 196

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 262

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
 145 150 155 160

Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
 165 170 175
 Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Asp Tyr Lys Asp
 180 185 190
 Asp Asp Asp Lys
 195

<210> 263

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 263

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

1 5 10 15
 Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45
 Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg

50 55 60
 Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly

65 70 75 80
 Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110
 Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met

130	135	140
Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu		
145	150	155
Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe		
165	170	175
Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys		
180	185	190
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys		
195		200

<210> 264

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 264

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

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

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

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 195 200

<210> 265

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 265

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
 1 5 10 15
 Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gly Leu Ser

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

100	105	110
Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln		
115	120	125
Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met		
130	135	140
Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu		

145	150	155	160
Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe			
165	170	175	
Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys			
180	185	190	
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys			

195 200

<210> 266

<211> 199

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 266

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

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

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu Ser Ser

20	25	30
----	----	----

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35	40	45
----	----	----

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50	55	60
----	----	----

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85	90	95
----	----	----

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110
 Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

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

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 195

<210> 267

<211> 199

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 267

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
 1 5 10 15
 Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

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

85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

195

<210> 268

<211> 199

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 268

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20 25 30

Ala Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala

85	90	95	
----	----	----	--

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100	105	110	
-----	-----	-----	--

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115	120	125	
-----	-----	-----	--

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu

130	135	140	
-----	-----	-----	--

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly

165	170	175	
-----	-----	-----	--

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

180	185	190	
-----	-----	-----	--

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

195			
-----	--	--	--

<210> 269

<211> 202

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 269

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

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

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

20	25	30	
----	----	----	--

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35	40	45	
----	----	----	--

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

50	55	60
Pro Gly Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys		
65	70	75
Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu		
85	90	95
Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr		
100	105	110
Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln		
115	120	125
Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu		
130	135	140
Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His		
145	150	155
Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp		
165	170	175
Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe		
180	185	190
Glu Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
195	200	
<210> 270		
<211> 194		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide		
<400> 270		
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp		
1	5	10
Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly		
20	25	30
Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys		
35	40	45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Leu Lys
 50 55 60

Pro Gly Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 271

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 271

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys

65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln

115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu

130 135 140

Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 272

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400

> 272

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala

50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 273

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 273

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

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

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser
 115 120 125
 Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
 130 135 140
 Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
 145 150 155 160
 Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro
 165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180 185

<210> 274

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 274

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35 40 45

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

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

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

165	170	175	
Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser			
180	185		
<210> 275			
<211> 186			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide			

<400> 275			
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp			
1	5	10	15
Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly			
20	25	30	

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Thr Val Gly Gly			
35	40	45	
Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys			
50	55	60	

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 276

<211> 186

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 276

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly

35 40 45

Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys

50 55 60

Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys

65 70 75 80

Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu

85 90 95

Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100 105 110

Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser

115 120 125

Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

130 135 140

Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180 185

<210> 277

<211> 185

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 277

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala

35 40 45

Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro

50 55 60

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln

65	70	75	80
----	----	----	----

Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala

85	90	95
----	----	----

Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln

100	105	110
-----	-----	-----

Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro

115	120	125
-----	-----	-----

His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser

165	170	175
-----	-----	-----

Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180	185
-----	-----

<210> 278

<211> 183

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 278

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

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

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

20	25	30
----	----	----

Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala Ala Asp

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro

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

Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg
 115 120 125

Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu

130 135 140
Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
145 150 155 160
Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly
 165 170 175

Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

180

<210> 279

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 279

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 280

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 280

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 281

<211> 681

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 281

atggactcg acgagaccgg gttcgagcac tcagggctgt gggtttctgt gctggctggt 60

cttcgtctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtccct cctgcaattc
 gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acctccggcc cccacgggct ctccagctgc
 ttccctgcga tccgtgccga cggcgtcgtg gactgcccgc ggggcccagag cgccacagt
 ttgctggaga tcaaggcagt cgctctgcgg accgtggcca tcaaggcgt gcacagcgtg
 cggtaacctt gcatggcgc cgacggcaag atgcagggc tgcttcagta ctggaggaa
 gactgtgcct tcgaggagga gatccgcccc gatggctaca atgtgtaccg atccgagaag
 caccgcctcc cggctccct gagcagtgcc aaacagcggc agctgtacaa gaacagaggc 480

tttcttccac tctctcattt cctgcccattt ctgccccatgg tcccaaggaa gcctgaggac
 ctcaggggcc acttggaaatc tgacatgttc tcttcgcccc tggagaccga cagcatggac
 ccatttggcc ttgtcaccgg actggaggcc gtgaggagtc ccagcttga gaaggactac
 aaagacgatg acgacaagt a 681

<210> 282

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 282

Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser

1 5 10 15

Val Leu Ala Gly Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala

20 25

<210> 283

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 283

atgcggagcg gggtgtgtt ggtccacgtt tggatctttt cggcccttctg gctggccgtt	60
gccggggcgc cccctgcctt ctggacgctt gggccccacg tgactacgg ctggggcgac	120
cccatccgcc tgcggcacct gtacacagat gatgccaggc agacagaagg ccacctggag	180
atcaggaggat atgggacggt ggggggcgtt gctgaccaga gccccgaaag ttcctgcag	240

ctgaaaggct tgaagccggg agttattcaa atcttggag tcaagacatc caggttctt	300
tgcgcggc cagatggggc cctgtatgg tgcgtccact ttgaccctga ggcctgcagc	360
ttccgggagc tgcttcttga ggacggatac aatgttacc agtccgaagg ccacggcctc	420
ccgctgcacc tgcaggggaa caagtccca caccgggacc ctgcaccccg aggaccagct	480
cgcttcctgc cactaccagg cctgggggg gcactcccgg agccacccgg aatcctggcc	540
ccccagcccc ccgtatgtggg ctctcgac cctctgagca tggtggttggacc ttcccaggc	600
cgaagccccca gctacgcttc cgactacaag gacgacgatg acaagtga	648

<210> 284

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Met Arg Ser Gly Cys Val Val Val His Val Trp Ile Leu Ala Gly Leu

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

Trp Leu Ala Val Ala Gly

20

<210> 285

<211> 690

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 285

atggactcg acgagaccgg gttcgagcac tcagggctgtt gggttctgtt gctggctgtt	60
cttctgtgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtccctt cctgcaattt	120

ggggccaag tccggcagcg gtacctcac acagatgtg cccagcagac agaagcccac	180
ctggagatca gggaggatgg gacgggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc	240
ctgcagctga aagcctgaa gccgggagtt attcaaattt tgggagtcaa gacatccagg	300
tccctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccacttga ccctgagggcc	360
tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg ttaccagtc cgaagcccac	420
ggcctccgc tgacacctgcc agggacaacag tccccacacc gggacctgc accccgagga	480
ccagctcgct tcctccact ctctcatttc ctgcccattgc tgcccatggt cccagaggag	540

cctgaggacc tcagggcca cttggaatct gacatgttct cttcgccct ggagaccgac	600
agcatggacc cattggct tgtcaccgga ctggaggccg tgaggagtcc cagctttag	660
aaggactaca aagacgatga cgacaagtga	690

<210> 286

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 286

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp

1 5 10 15

Asp Lys Gly Arg Ala Gln Val Thr

20

<210> 287

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 287

Trp Gly Asp Pro Ile

1 5

<210> 288

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser

1 5

<210> 289

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 289

Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

1 5

<210> 290

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 290

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro

1 5 10 15

Leu

<210> 291

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro

1 5 10 15

<210> 292

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 1 to 30 repeating "Gly" residues

<400> 292

Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly

20 25 30

<210> 293

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(24)

<223> This sequence may encompass 1 to 6 'Gly Gly Gly Ser'

repeating units

<400> 293

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser

20

<210> 294

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 1 to 6 'Gly Gly Gly Ser'

repeating units

<400> 294

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 295

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 295

Leu Glu Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5 10

<210> 296

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 296

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

35

<210> 297

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 298

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 298

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 299

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 299

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 300

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 300

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 301

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 301

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu Ser Ser Cys Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 302

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 302

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser Cys Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 303

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 303

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala Phe
20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 304

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 304

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

35

<210> 305

<211> 44

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 305

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 306

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 306

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 307

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 307

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser Ser Cys

20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 308

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 308

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Leu Ser Ser Cys Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 309

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 309

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser Cys Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 310

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 310

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala Phe

20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35

<210> 311

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 311

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 312

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 312

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

1 5 10 15

Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Pro His Gly Leu Ser

20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly

35 40

<210> 313

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 313

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

<210> 314

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 314

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

<210> 315

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 315

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly			
1	5	10	15
Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Ser			

20	25	30
Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly		
35	40	
<210> 316		
<211> 41		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide		
<400> 316		
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly		
1	5	10
Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu		
20	25	30
Ala Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly		
35	40	
<210> 317		
<211> 41		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide		
<400> 317		
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly		
1	5	10
Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu		
20	25	30
Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly		
35	40	