



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0054009
(43) 공개일자 2014년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 19/00 (2006.01) C07K 14/64 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7002543
(22) 출원일자(국제) 2012년06월29일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2014년01월28일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2012/062665
(87) 국제공개번호 WO 2013/004607
국제공개일자 2013년01월10일
(30) 우선권주장
11172413.4 2011년07월01일
유럽특허청(EPO)(EP)
11172681.6 2011년07월05일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
바이엘 인텔렉처 프로퍼티 게엠베하
독일, 40789 몬헤임 엠 레인, 알프레드-노엘-스트
라쎄 10
(72) 발명자
빌멘 안드레아스
독일 50676 쾰른 아른트슈트라쎄 5
하웁츠 올리히
독일 51519 오펜탈 드취네르 아우에 35
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
최규팔

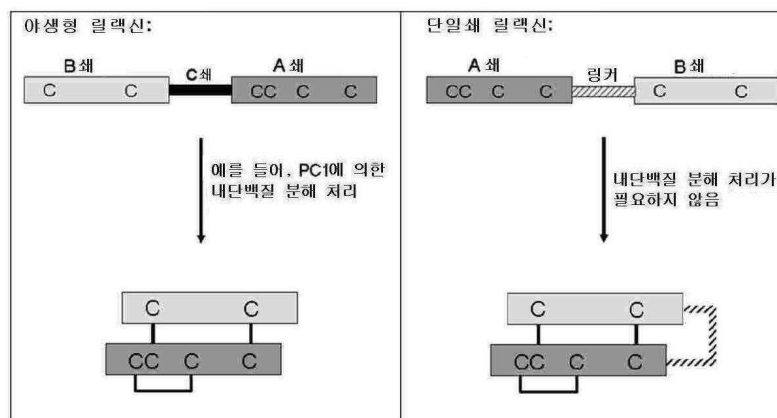
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **릴렉신 융합 폴리펩타이드 및 그의 용도**

(57) 요약

본 발명은 릴렉신 A-쇄 및 릴렉신 B-쇄의 비-야생형 어레이를 갖는 릴렉신 융합 폴리펩타이드 A-L-B를 제공하며, 여기에서 A- 및 B-쇄는 링커 펩타이드에 의해서 연결된다. 본 발명은 또한, 연장된 반감기를 갖는 릴렉신 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 추가로, 본 발명은 전술한 융합 폴리펩타이드를 코드화한 핵산, 이를 함유하는 벡터, 이러한 융합 폴리펩타이드의 약제학적 조성물 및 의학적 용도를 제공한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

프라이베르크 크리스토프

독일 42115 부퍼탈 뢰러르 슈트라쎈 83

트라우트바인 마르크

독일 42489 뵐프라스 뵐켄베르크 2

린덴 라르스

독일 40235 뉘셀도르프 부르크슈트라쎈 72

라이네베버 키르스텐

독일 42553 뵐베르트-네비게스 콘라트-아데나우어-슈트라쎈 24

티넬 한나

독일 42113 부퍼탈 인 데르 비크 16

특허청구의 범위

청구항 1

A-L-B (여기에서, B는 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, A는 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며, L은 링커 폴리펩타이드이다)를 포함하는 틸락신 활성을 갖는 융합 폴리펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 추가로 적어도 하나의 반감기 연장 부분을 포함하는 융합 폴리펩타이드.

청구항 3

제2항에 있어서, 반감기 연장 부분이 IgG1 Fc 영역, PEG 또는 HES인 융합 폴리펩타이드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중의 어느 하나에 있어서, 링커 폴리펩타이드가 길이가 6-14 개의 아미노산인 융합 폴리펩타이드.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중의 어느 하나에 있어서, 틸락신 A 쇠가 인간 틸락신 2 A 쇠 (SEQ ID NO: 117)이고, 틸락신 B 쇠가 인간 틸락신 2 B 쇠 (SEQ ID NO: 119)인 융합 폴리펩타이드.

청구항 6

표 3에 도시된 바와 같은 폴리펩타이드를 포함하는 융합 폴리펩타이드.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중의 어느 하나에 있어서, A-L-B가 scR3, scR4, scR5, scR3 w/o Tag, scR4 w/o Tag, scR5 w/o Tag, scR-Fc5, scR-Fc6 및 scR-Fc7로 구성된 A-L-B 폴리펩타이드의 그룹으로부터 선택되는 융합 폴리펩타이드.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 폴리펩타이드를 코드화한 폴리뉴클레오타이드.

청구항 9

제8항에 따르는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.

청구항 10

제9항에 따르는 벡터 또는 제8항에 따르는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포.

청구항 11

제10항의 숙주 세포를 배양하고, 폴리펩타이드를 분리시키는 단계를 포함하여, 제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 폴리펩타이드를 생산하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 13

약제로서의 제12항에 따르는 약제학적 조성물 또는 제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드

드.

청구항 14

심혈관 질환, 폐 질환, 섬유성 장애 또는 신장 질환의 치료용 약제로서의 제12항 또는 제13항에 따르는 약제학적 조성물 또는 제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.

청구항 15

치료학적 유효량의 제12항 또는 제13항에 따르는 약제학적 조성물 또는 제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드를 투여하는 것을 포함하여, 심혈관 질환, 폐 질환, 섬유성 장애 또는 신장 질환을 치료하는 방법.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 심혈관 질환이 관상동맥 심장 질환, 급성 관상동맥 증후군, 심부전 및 심근 경색인 치료 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 릴렉신 A-쇄 및 릴렉신 B-쇄의 비-야생형 어레이를 갖는 릴렉신 융합 폴리펩타이드 A-L-B를 제공하며, 여기에서 A- 및 B-쇄는 링커 펩타이드에 의해서 연결된다. 본 발명은 또한, 연장된 반감기를 갖는 릴렉신 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 추가로, 본 발명은 전술한 융합 폴리펩타이드를 코드화한 핵산, 이를 함유하는 벡터, 이러한 융합 폴리펩타이드의 약제학적 조성물 및 의학적 용도를 제공한다.

배경기술

[0002] 인슐린 슈퍼패밀리의 구성원으로서 릴렉신 2 (H2 릴렉신, RLN2)은 유전적 레벨에서 N-으로부터 C-말단으로 배열된 전형적인 B-C-A 쇠 프로호르몬 (prohormone) 구조를 나타내는 2-쇄 펩타이드이다. 인간에게서 7 개의 유전자에 의해서 코드화된 이 슈퍼패밀리의 다른 구성원은 릴렉신 유전자 RLN 1, RLN3, 및 인슐린-유사 펩타이드 유전자 INSL3, INSL4, INSL5, 및 INSL6이다. 이 패밀리의 구성원들 사이의 전반적인 서열 상동성은 낮으며; 그럼에도 불구하고, 계통발생학적 분석 (phylogenetic analysis)은 이들 유전자가 RLN3 선구 유전자로부터 진화하였음을 나타낸다 (Hsu, S. Y. (2003); Wilkinson, T. N. et al. (2005)). 성숙 단백질은 약 6000 Da의 분자량을 가지며, 프로호르몬-컨버타제 (Convertase) 1 (PC1) 및 2 (PC2)에 의해서 촉진된 프로호르몬의 효소적 분해의 생성물이다 (Hudson P. et al. (1983)). 생성된 A- 및 B-쇄는 2 개의 분자간 시스테인 브릿지에 의해서 접합되며; A-쇄는 추가의 분자내 디설파이드 결합을 나타낸다.

[0003] 릴렉신은 다양한 세포 타입 상에서 다수의 경로를 통해 다면발현성 효과 (pleiotropic effect)를 개시한다. 이것은 RXFP1 (릴렉신 패밀리의 펩타이드 1 수용체)로 또한 불리며, LRG8/RXFP2 (릴렉신 패밀리의 펩타이드 2 수용체)에 대해서 상당히 더 낮은 친화성을 갖는 LGR7 (류신-풍부 G 단백질-커플링된 수용체 7)으로 불리는 클래스 I (로돕신 유사) G-단백질-커플링된 수용체에 결합함으로써 그의 활성을 부여한다 (Kong RC et al. (2010) Mol Cell Endocrinol. 320:1-15). 릴렉신 분자 내에서, B-쇄 내의 아미노산 모티프 (Arg-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X) (Schwabe and Bullesbach (2007) Adv Exp Med Biol. 612:14-25; 및 Bullesbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10;275(45):35276-80)는 모든 릴렉신 펩타이드 내에서 보존되며, 이들 펩타이드와 상응하는 수용체와의 상호작용에 매우 결정적이다. LGR7/RXFP1에 대한 릴렉신의 결합은 아데닐레이트 사이클라제의 활성화 및 제2 메신저 분자 (second messenger molecule) cAMP의 증가를 유도한다. 이 기전에 의해서, 릴렉신 2는 예를 들어, 랫트 심장에서 심방 나트륨이노 펩타이드의 방출을 매개한다 (Toth, M. et al. (1996)). 랫트 심방 근세포에 대한 릴렉신 2의 양성 변력성 효과 (positive inotropic effect)도 또한 나타났다 (Piedras-Renteria, E. S. et al. (1997)). 릴렉신/LGR7 컴플렉스에 의해서 활성화된 그 밖의 다른 시그널 전달 분자는 포스포이노시타이드-3 키나제, 티로신 키나제, 및 포스포디에스테라제이다 (Bartsch, O. et al. (2001), Bartsch, O. et al. (2004)). 이 시스템에 의해서 활성화된 추가의 시그널 전달 경로에는 랫트 및 기니아-피그 심장에서 사이클릭 GMP의 증가된 레벨을 유도하는 산화질소 (NO) 경로가 포함된다 (Bani-Sacchi, T. et al. (1995)).

[0004] 릴렉신은 폐, 신장, 뇌, 및 심장과 같은 기관에 대한 생물학적 활성을 갖는 다면발현성 호르몬 (Dschiertzig T.

et al. (2006))으로 작용한다. 릴렉신의 강력한 항섬유성 및 혈관확장 활성은 다양한 동물 질병 모델에서만 아니라 임상시험에서 이 펩타이드에 의해서 수득된 포지티브 효과에 가장 명백하게 책임이 있다 (McGuane J.T. et al. (2005)). RLN2는 병리학적 조건 하의 심혈관계에서 다수의 유익한 작용을 갖는다. 이것은 조직 항상성을 유지하며, 다양한 병태생리학적 과정 중에 손상된 심근을 보호한다. 이것은 예를 들어, 설치류의 관상동맥에서 (Nistri, S. et al. (2003)) 및 다른 기관의 혈관상에서 혈류 및 혈관확장에 영향을 미치는 현저한 혈관확장 효과를 나타낸다. 자발적 고혈압 랫트에서, RLN2는 증가된 NO 생산에 의해서 매개된 효과로서 혈압을 저하시켰다.

[0005] 릴렉신 2의 심장보호 활성은 기니아 피그, 랫트 및 돼지와 같은 다양한 동물 모델에서 평가되었다 (Perna A.M. et al. (2005), Bani, D. et al. (1998)). RLN2는 심근 손상, 염증 세포 침윤 및 후속 섬유증을 개선시킴으로써 심각한 심실 기능부전을 완화시킨다 (Zhang J. et al. (2005)).

[0006] 릴렉신 2는 강력한 항섬유성 활성을 나타낸다. 손상된 조직에서, 섬유아세포 활성화 및 증식은 증가된 콜라겐 생산 및 간질성 섬유증을 야기한다. 심장에서 섬유증은 생체역학적 과부하 (biomechanical overload)에 의해서 증가되며, 심실 기능부전, 리모델링 (remodeling) 및 부정맥 야기성 (arrhythmogenesis)에 영향을 미친다. 동물 모델에서, 릴렉신 2의 연속 주입은 심근증, 고혈압, 이소프레날린-유도된 심장 독성, 당뇨병성 심근증 및 심근 경색에 의해서 야기된 심장 기능부전을 억제하거나 반전시키기도 한다. 이러한 섬유증의 억제 또는 정화된 섬유증의 반전은 심실 강직 (ventricular stiffening)을 감소시키고, 확장기 기능을 개선시킬 수 있다. 특히, 릴렉신 2는 이상 콜라겐 축적을 감소시키지만, 이것은 건강한 조직에서 기본 콜라겐 함량에 영향을 미치지 않아 치료학적 사용을 위한 그의 안전성을 강조한다.

[0007] 릴렉신 2는 몇 가지의 임상 연구에서 급성 심부전이 있는 환자의 치료를 위한 다면발현성 혈관확장제로서 매우 유망한 결과를 가지고 시험하였다. 이들 연구에서, 릴렉신 2는 호흡곤란의 바람직한 경감 및 그 밖의 다른 임상적 결과와 연관된다 (Teerlink J.R. et al. (2009), Metra M. et al. (2010)).

[0008] 릴렉신의 제한된 생체내 반감기로 인하여, 환자의 치료는 매 14 내지 21일마다 반복되어야 하며, 이에 의해서 화합물 투여는 적어도 48 시간 동안 연속 주입으로 수행되어야 한다.

[0009] 또한, 릴렉신 2는 췌장염, 류마티스 관절염과 같은 염증-관련된 질병, 및 암 (Cosen-Binker L.I. et al. (2006) Santora K. Et al. (2007)) 또는 공포증, 폐, 신장 및 간 섬유증 (Bennett RG. (2009))과 같은 질병의 치료에도 유용할 수 있다. 릴렉신 2는 인간 MDA-MB-231 유방암 세포의 이중이식 종양 성장을 감소시킨다 (Radestock Y, Hoang-Vu C, Hombach-Klonisch S. (2008) Breast Cancer Res. 10:R71).

[0010] 화학적 방법에 의한 릴렉신 2의 합성은 어렵다. B-쇄의 낮은 용해도 및 A와 B-쇄 사이의 시스테인 브릿지의 힘이 드는 특정한 도입으로 인하여, 이들 방법에 의해서 수득된 활성 펩타이드의 수율은 극도로 낮다 (Barlos K.K. et al. (2010)). 대신으로, 릴렉신 2의 재조합체 발현이 수행될 수 있다. 해독-후 변형 중의 프리프로-펩타이드의 효율적인 분해 및 성숙하며 생물학적 활성인 펩타이드의 분비를 허용하기 위해서, 발현 숙주 세포는 일상적으로 프로호르몬-컨버타제 1 및/또는 2를 코드화한 발현 구조물에 의해서 공동-형질감염된다 (Park J.I. et al. (2008)). 그럼에도 불구하고, 이중 세포에서 프리프로-펩타이드의 내단백질 분해 처리 효율은 종종 생물활성 분자의 생산을 현저하게 제한한다 (Shaw J.A. et al. (2002)).

[0011] 따라서, 특정한 프로테아제에 의해서 매개된 내단백질 분해 처리와는 무관하게 완전한 생물학적 활성을 나타내며, 이중 발현 시스템을 사용하여 상당한 수율로 생산될 수 있는 릴렉신 분자를 생성시키는 것이 큰 이점이 있을 것이다.

[0012] 인간 인슐린의 경우에는, 분해할 수 없는 폴리펩타이드가 인슐린 B-쇄를 인슐린 A-쇄와 연결시킨 단일-쇄 변이체가 생성되었다 (Rajpal G. et al. (2009)). 이들 변이체의 경우에, 내단백질 분해 처리는 불필요하다.

[0013] 놀랍게도, 본 발명자들은 A 쇄 및 B 쇄로 지정된 2 개의 활성 쇄의 배향이 교환되고, 분해가능한 C 쇄가 링커 펩타이드에 의해서 치환된 릴렉신 변이체를 확인하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, 릴렉신을 코드화한 단일 쇄의 유전적으로 결정된 배향, 즉 B 쇄 - C 쇄 - A 쇄 대신에 변형된 분자의 쇄의 배향은 A 쇄 - 링커 펩타이드 - B 쇄이다. 생성된 분자는 어떤 내단백질 분해 처리와도 무관하게 완전한 생물학적 활성을 나타낸다. 따라서, 본 발명에 의해서 제공된 이러한 새로운 단일-쇄 릴렉신 변이체는 낮은 발현 수율의 문제 또는 처리 프로테아제에 의한 공동-형질감염의 필요성을 해결한다.

[0014] 인간에게서 정맥내로 투여된 릴렉신 2의 반감기는 10 분 미만이다 (Dschietsig T. et al. (2009)). 결과적으로, 임상 시험에서 릴렉신 2는 48 시간에 걸쳐서 연속적으로 투여되어야 한다. 따라서, 릴렉신의 생물

학적 반감기의 개선은 큰 이점이 될 수 있었다.

[0015] 생물학적 반감기의 개선은 관심이 있는 폴리펩타이드의 PEGyl화 또는 HESyl화, 추가의 비-천연 N-글리코실화 부위의 도입과 같은 화학적 변형에 의해서, 또는 이 폴리펩타이드를 각각 항체의 면역글로불린 Fc 단편, 트랜스페린, 알부민, 더 긴 반감기를 매개하는 다른 분자에 생체내 결합하는 결합 분자, 또는 다른 단백질과 같은 다른 분자와 유전적으로 융합시킴으로써 수행될 수 있다. 본 발명은 개선된 반감기를 갖는 항체의 Fc 부분에 융합된 단일-쇄 티렉신 변이체를 제공한다. 놀랍게도, 이들 변이체는 야생형 티렉신의 범위 내의 생물학적 활성을 나타낸다.

발명의 내용

[0016] 발명의 요약

[0017] 본 발명은 이하에서 또한 단일쇄 티렉신 (sc티렉신)으로 불리는 융합 폴리펩타이드에 관한 것이다.

[0018] 티렉신 2 생산의 현행 표준은 복잡하고 비용이 많이 드는 절차인 이 분자의 화학적 합성이다. 티렉신은 해독후 변형, 특히 프로호르몬 컨버타제 1 및 프로호르몬 컨버타제 2에 의한 프리프로-단백질의 분해를 겪는 다는 사실로 인하여, 적절한 발현 시스템의 선택은 재조합체 발현에 필수적이다. 인슐린 슈퍼패밀리에 속하는 단백질의 내단백질 분해 처리는 종종 이중 세포로부터 생물활성 분자의 생산을 제한한다. 티렉신의 내단백질 분해 처리를 피하기 위해서, 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 A 쇠 및 B 쇠로 지정된 티렉신의 2 개의 활성 쇠의 유전적으로 코드화된 배향이 반전된 분자이며, 여기에서 A 쇠 및 B 쇠는 링커 펩타이드에 의해서 연결된다. 상세하게는, 티렉신 영역을 코드화한 개별적인 DNA 분절의 유전적으로 결정된 배향, 즉 B 쇠 - C 쇠 - A 쇠 대신에, 본 발명에 의해서 제공된 티렉신 변이체 내의 DNA 분절의 배향은 A 쇠 - 펩타이드 링커 - B 쇠이다. 이것은 단일쇄 티렉신을 제공하며, 여기에서 티렉신 A 쇠의 카복시-말단은 링커 폴리펩타이드 L의 아미노-말단에 융합되며, 이 카복시-말단은 A-L-B로 지정된 티렉신 B 쇠의 아미노-말단에 융합된다 (예시를 위한 도 1을 참조). 생성된 분자는 야생형 티렉신과 유사한 생물학적 활성을 나타내지만, 그의 발현은 내단백질 분해 처리와는 무관하다.

[0019] 본 발명의 한가지 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 티렉신 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체이며, B는 티렉신 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체이고, L은 링커 폴리펩타이드이다.

[0020] 추가의 구체예에서, A-L-B의 티렉신 A 쇠 폴리펩타이드는 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, 티렉신 B 쇠 폴리펩타이드는 티렉신 2 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0021] 바람직한 구체예에서, A-L-B의 티렉신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 최소 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 118) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나, 인간 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0022] 바람직한 구체예에서, A-L-B의 티렉신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 티렉신 2 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0023] 더욱 바람직한 구체예에서, A-L-B의 티렉신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 최소 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 118) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나, 인간 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며, 티렉신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 티렉신 2 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0024] 더 더욱 바람직한 구체예에서, A-L-B의 티렉신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 티렉신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며, 티렉신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 티렉신 2 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0025] 한가지 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 링커 폴리펩타이드 L은 길이가 6-14 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로 바람직한 것은 길이가 7-13 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 추가로 바람직한 것은 길이가 8-12 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 더 더욱 바람직한 것은 길이가 7-11 또는 9-11 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 더 더욱 바람직한 것은 길이가 9 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 추가의 바람직한 구체예에서, 폴리펩타이드 링커 L의 길이의 정수는 정수 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

- [0026] 링커 펩타이드 L은 어떤 아미노산으로나 구성될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 적어도 하나의 Gly, Ser, Arg, Leu, Cys, Ala, Leu 및/또는 Lys 잔기를 포함한다. 더욱 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly 및 Ser 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 3 대 1인 링커 L이다.
- [0027] 추가의 구체예에서, 전술한 링커 L은 반감기 연장 부분의 공유적 커플링을 위한 적어도 하나의 부착 부위를 포함한다. 본 발명의 구체예에서, 전술한 부착 부위는 Lys 또는 Cys 잔기이다.
- [0028] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0029] A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0030] B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0031] L은 길이가 6-14, 7-13, 8-12, 7-11, 9-11, 또는 9 개의 아미노산 잔기인 링커 폴리펩타이드이다. 링커 펩타이드 L은 어떤 아미노산으로나 구성될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 적어도 하나의 Gly, Ser, Arg, Leu, Cys, Ala, Leu 및/또는 Lys 잔기를 포함한다. 더욱 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly 및 Ser 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 3 대 1인 링커 L이다. 추가의 구체예에서, 전술한 링커 L은 비-단백질성 폴리머 반감기 연장 부분의 공유적 커플링을 위한 적어도 하나의 부착 부위를 포함한다. 본 발명의 구체예에서, 전술한 부착 부위는 Lys 또는 Cys 잔기이다.
- [0032] 본 발명의 바람직한 구체예는 추가로 반감기 연장 부분을 포함하는 융합 폴리펩타이드 A-L-B이다.
- [0033] 추가의 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드는 틸렉신 활성을 갖는다. 추가의 바람직한 구체예에서, 틸렉신 활성은 틸렉신 수용체 LGR7의 활성화이다. 추가의 더욱 바람직한 구체예에서, 틸렉신 수용체 LGR7의 활성화는 실험 방법에 기술된 방법에 의해서 결정된다.
- [0034] 또 다른 관점에서, 본 발명은 전술한 융합 폴리펩타이드를 코드화한 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 이러한 폴리뉴클레오타이드는 융합 폴리펩타이드의 분비를 허용하는 시그널 펩타이드에 대한 코드화 서열을 더 포함할 수 있다. 이러한 융합 폴리펩타이드에 대한 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 벡터도 역시 포함된다. 적합한 벡터는 예를 들어, 발현 벡터이다. 본 발명의 추가의 구체예는 전술한 융합 폴리펩타이드를 코드화한 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포이다. 본 발명의 숙주 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포일 수 있다. 진핵 세포는 포유동물 세포 또는 효모 또는 곤충 세포, 바람직하게는 포유동물 세포일 수 있다. 원핵 세포는 예를 들어, 이. 콜라이 세포일 수 있다.
- [0035] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 전술한 융합 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 조성물은 정맥내, 복강내 또는 피하 투여를 위해서 제제화될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 구체예는 의약으로서의 약제학적 조성물 또는 융합 폴리펩타이드를 제공한다. 추가의 구체예는 심혈관 질환, 체강염, 염증, 암, 공포증, 폐, 신장 및 간 섬유증의 치료에 있어서의 약제학적 조성물 또는 융합 폴리펩타이드의 용도이다.

도면의 간단한 설명

- [0037] 도 1은 야생형 틸렉신 및 단일쇄 틸렉신의 영역의 유전적 조직뿐만 아니라 그들의 상응하는 폴리펩타이드의 개략적 표현이다.
- 도 2는 단일쇄 틸렉신 변이체의 개략적 표현이다.
- 도 3은 단일쇄 틸렉신 융합 단백질 변이체뿐만 아니라 PEGylation을 위해서 디자인된 단일쇄 틸렉신 변이체의 영역 조직의 개략적 표현이다.
- 도 4a-e는 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용한 scR 3, scR 4, 및 scR 5 (도 4a), scR 7, scR 8, scR9, 및 scR10 (도 4b), scR11 및 scE12 (도 4c), 인간 틸렉신 3, scR14, 및 scR15 (도 4d) 및 scR17 (도 4e)의 기능적 시험에서의 활성을 나타낸다. 대조군으로는, h틸렉신 2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025)가 사용되었다. 데이터는 단일쇄 틸렉신 변이체 및 틸렉신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유니트 (Relative Light Units)로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바 (error bars)는 S.E.M.을 나타낸다.
- 도 5는 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용한 scR-Fc 1의 기능적 시험에서의 활성을 나타낸다. 대조군으로는, h틸렉신

2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025)가 사용되었다. 데이터는 scR-Fc 1 및 h릴랙신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유닛으로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바는 S.E.M.을 나타낸다.

도 6은 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용한 scR-Fc 5, scR-Fc 6, 및 scR-Fc 7의 기능적 시험에서의 활성을 나타낸다. h릴랙신 2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025)가 대조군으로 사용되었다. 데이터는 scR-Fc 변이체 및 h릴랙신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유닛으로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바는 S.E.M.을 나타낸다.

도 7은 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용한 scR-Fc 11, scR-Fc 12, 및 scR-Fc 13의 기능적 시험에서의 활성을 나타낸다. 대조군으로는, h릴랙신 2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025)가 사용되었다. 데이터는 scR-Fc 변이체 및 h릴랙신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유닛으로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바는 S.E.M.을 나타낸다.

도 8은 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용한 scR-Var 3, scR-Var 4, scR-Var 5, 및 scR-Var 6의 기능적 시험에서의 활성을 나타낸다. 대조군으로는, h릴랙신 2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025)가 사용되었다. 데이터는 scR-Fc 변이체 및 h릴랙신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유닛으로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바는 S.E.M.을 나타낸다.

도 9는 정맥내로 투여된 h릴랙신 2 또는 scR-Fc 13의 생체내 반감기 분석을 나타낸다. 8 주령의 수컷 위스타(Wistar) 랫트 (그룹당 3 마리의 동물)에게 각각 인간 릴랙신 2 및 scR-Fc 13의 단일 적용 (0.24 mg/kg)을 제공하였다. 혈액 샘플을 적용 후의 지시된 시점에 수거하고, 각 단백질의 혈청 레벨을 정량적 ELISA를 사용함으로써 측정하였다.

도 10은 혈청 샘플에서 릴랙신 2 및 릴랙신 변이체의 활성을 나타낸다.

CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용하여 scR-Fc 13 처리된 랫트로부터 수득된 혈액 샘플에서 릴랙신 활성을 결정하였다. scR-Fc 13의 정맥내 투여 후 3, 5, 및 7일에 수거된 혈액 샘플을 CHO-CRE-LGR7 세포주 상에서 배양하고, 상대적 광 유닛을 결정하였다. 검정곡선 (calibration curves)은 h릴랙신 2 (R&D Systems, 카탈로그 번호 6586-RN-025) 및 정제된 scR-Fc 13을 사용하여 결정하였다. 용량 반응 곡선 내에서 EC50은 X로 표시된다. 데이터는 scR-Fc 변이체 및 h릴랙신 2 유도된 루시퍼라제 발현의 활성을 나타내는 상대적 광 유닛으로서 표현된다. 심볼은 평균을 나타내며, 오차 바는 S.E.M.을 나타낸다.

도 11은 분리된 관류 랫트 심장 모델에서 심박수, 관상 혈류 및 수축성에 대한 h릴랙신 2 및 scR-Fc 13의 영향을 나타낸다.

1 nM의 농도에서, h릴랙신 2의 적용은 심박수 및 관상 혈류의 증가를 유도하고, 음성 변력 활성을 나타낸다 (도 11 a-d). 동등한 효과는 비록 10 배 더 큰 농도에서지만 scR-Fc 13에 의해서 수득되었다 (도 11 e-h).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의:

용어 "아미노산 잔기"는 알라닌 (Ala 또는 A), 시스테인 (Cys 또는 C), 아스파르트산 (Asp 또는 D), 글루탐산 (Glu 또는 E), 페닐알라닌 (Phe 또는 F), 글리신 (Gly 또는 G), 히스티딘 (His 또는 H), 이소류신 (Ile 또는 I), 리신 (Lys 또는 K), 류신 (Leu 또는 L), 메티오닌 (Met 또는 M), 아스파라긴 (Asn 또는 N), 프롤린 (Pro 또는 P), 글루타민 (Gln 또는 Q), 아르기닌 (Arg 또는 R), 세린 (Ser 또는 S), 트레오닌 (Thr 또는 T), 발린 (Val 또는 V), 트립토판 (Trp 또는 W), 및 티로신 (Tyr 또는 Y) 잔기로 구성된 그룹 내에 함유된 아미노산 잔기를 나타내고자 하는 것이다.

용어 "릴랙신의 활성" 또는 "릴랙신 활성"은 자극성 G-단백질 Gs의 활성화, 따라서 제2 메신저 사이클릭 AMP의 후속 생성, 및/또는 PI3-키나제의 자극에 대한 릴랙신 또는 그의 변이체의 능력에 의해서 정의된다. 릴랙신 또는 그의 변이체는 LGR7에 결합하여 자극성 G-단백질 Gs의 세포내 활성화를 유도하여 제2 메신저 사이클릭 AMP (cAMP)의 후속 생성을 야기한다. 그러나, cAMP 생성은 시간-의존적 2상 반응 (time-dependent biphasic response)이다. 초기의 짧은 Gs-아데닐레이트 사이클라제-매개된 cAMP 반응 후에, 수용체 시그날은 억제성 G 단백질 활성화로, 및 이에 의해서 PI3-키나제-매개된 반응으로 바뀐다 (Halls M.L., Bathgate R.A., Summers, R.J. (2005) Signal Switching after Stimulation of LGR7 Receptors by Human Relaxin 2. Ann. N.Y. Acad.

Sci. 1041:288-291).

- [0041] 용어 "반감기 연장 부분"은 틸락신 융합 폴리펩타이드의 비컨쥬게이션된 형태에 비해서 틸락신 융합 폴리펩타이드의 생체내 단백질분해적 분해 또는 그 밖의 다른 활성-감소 화학적 변형을 방지하거나 완하시키고, 흡수율을 증가시키는 것과 같은 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 반감기 또는 그 밖의 다른 약력학적 특성을 증가시키고, 독성을 감소시키며, 용해도를 개선시키고, 틸락신 융합 폴리펩타이드의 생물학적 활성 및/또는 표적 선택성을 증가시키고, 생산능력을 증가시키고/시키거나, 틸락신 융합 폴리펩타이드의 면역원성을 감소시키는 링커를 통해서, 또는 직접적으로 틸락신 융합 폴리펩타이드에 공유적으로 연결된 ("컨쥬게이트된") 약제학적으로 허용되는 부분, 영역, 또는 비히클에 관한 것이다. 용어 "반감기 연장 부분"은 PEG 또는 HES와 같은 비-단백질성 반감기 연장 부분, 및 혈청 알부민, 트랜스페린 또는 Fc 영역과 같은 단백질성 반감기 연장 부분을 포함한다.
- [0042] "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 본 명세서에서 상호 교환하여 사용되며, 펩타이드 결합을 통해서 연결된 2 개 또는 그 이상의 아미노산의 분자 쌍을 포함한다. 상기 용어는 특정한 길이의 생성물을 나타내지는 않는다. 상기 용어는 폴리펩타이드의 해독-후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화, 포스포릴화 등을 포함한다. 또한, 단백질 단편, 유사체, 돌연변이 또는 변이체 단백질, 융합 단백질 등이 폴리펩타이드의 의미에 포함된다. 상기 용어는 또한, 합성될 수 있거나, 공지의 단백질 엔지니어링 기술을 사용하여 재조합적으로 발현될 수 있는 것으로서, 하나 또는 그 이상의 아미노산 유사체 또는 비-표준 (non-canonical) 또는 비천연 아미노산이 포함된 분자를 포함한다. 또한, 본 발명의 융합 단백질은 잘 알려진 유기 화학 기술에 의해서, 본 명세서에 기술된 바와 같이 유도체화될 수 있다.
- [0043] 용어 "기능적 변이체"는 적어도 그의 천연적 생물학적 활성 중의 일부분을 보유하는 변이체 폴리펩타이드를 나타낸다. 본 발명에 따르는 틸락신 2 변이체의 경우에, 기능적 변이체는 틸락신 수용체 LGR7의 활성화와 같은 그의 천연적 활성 중의 적어도 일부분을 나타내는 변이체이다. 틸락신 수용체 LGR7의 활성화는 실험 방법에 기술된 방법에 의해서 결정될 수 있다.
- [0044] 본 발명의 폴리펩타이드를 언급하는 경우에 용어 "단편", "변이체", "유도체" 및 "유사체"는 상응하는 야생형 틸락신 폴리펩타이드의 수용체 결합 특성 중의 적어도 일부분을 보유하는 모든 폴리펩타이드를 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 단편은 단백질분해성 단편뿐만 아니라 결실 단편, 및 또한 아미노산 치환, 결실 또는 삽입에 기인한 변화된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다. 변이체는 천연적으로 또는 비-천연적으로 존재할 수 있다. 비-천연적으로 존재하는 변이체는 본 기술분야에서 공지된 돌연변이유발 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비-보존적 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 포함할 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 또한, 본 명세서에서 "폴리펩타이드 유사체"로 나타낼 수 있다. 본 명세서에서 사용된 것으로서, 폴리펩타이드의 "유도체"는 기능적 측쇄 그룹의 반응에 의해서 화학적으로 유도체화된 하나 또는 그 이상의 잔기를 갖는 대상 폴리펩타이드를 나타낸다. 또한, "유도체"로는 20 개의 표준 아미노산의 하나 또는 그 이상의 천연적으로 존재하는 아미노산 유도체를 함유하는 이들 펩타이드가 포함된다. 예를 들어, 4-하이드록시프롤린이 프롤린에 대해 치환될 수 있고; 5-하이드록시리신이 리신에 대해 치환될 수 있으며; 3-메틸히스티딘이 히스티딘에 대해서 치환될 수 있고; 호모세린이 세린에 대해 치환될 수 있으며; 오르니틴이 리신에 대해 치환될 수 있다.
- [0045] 용어 "융합 단백질"은 단백질이 하나 이상의 어버이 단백질 또는 폴리펩타이드로부터 유도된 폴리펩타이드 성분을 포함하고/하거나 융합 단백질이 그들의 야생형 배향으로 배열되지 않은 하나 또는 그 이상의 어버이 단백질 또는 폴리펩타이드로부터 유도된 단백질 영역을 포함하는 것을 나타낸다. 전형적으로, 융합 단백질은 하나의 단백질로부터의 폴리펩타이드 서열을 코드화한 뉴클레오타이드 서열이 상이한 단백질로부터의 폴리펩타이드 서열을 코드화한 뉴클레오타이드 서열과 함께 골격 내에 첨부되고, 그들로부터 임의로 링커 또는 스트레처 (stretcher)에 의해서 분리되는 융합 유전자로부터 발현된다. 그 후, 융합 유전자는 재조합 숙주 세포에 의해서 단일 단백질로 발현될 수 있다.
- [0046] 용어 "뉴클레오타이드 서열" 또는 "폴리뉴클레오타이드"는 2 개 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 분자의 연속적 스트레치를 나타내고자 하는 것이다. 뉴클레오타이드 서열은 게놈, cDNA, RNA, 반합성, 합성 기원, 또는 이들의 모든 조합의 것일 수 있다.
- [0047] 용어 "EC₅₀" (최대 유효 농도의 절반)은 기준선과 일부의 명시된 노출 시간 후의 최대치 사이의 중간의 반응을 유도하는 치료학적 화합물의 유효 농도를 나타낸다.
- [0048] 소정의 물질과 관련하여 사용된 것으로서 용어 "면역원성"은 면역 시스템으로부터의 반응을 유도하는 물질의 능

력을 나타내고자 하는 것이다. 면역 반응은 세포 또는 항체 매개된 반응일 수 있다 (참조: 예를 들어, Roitt: Essential Immunology (8th Edition, Black-well) for further definition of immunogenicity). 보통으로, 감소된 항체 반응성은 감소된 면역원성의 지표일 수 있다. 감소된 면역원성은 예를 들어, 생체내 또는 시험관 내에서, 본 기술분야에서 공지된 어떤 적합한 방법이라도 사용하여 결정될 수 있다.

[0049] 용어 "폴리머라제 연쇄 반응" 또는 "PCR"은 일반적으로, 예를 들어, 미국 특허 제 US 4,683,195 및 US 4,683,195호에 기술된 바와 같은, 시험관내에서의 원하는 뉴클레오타이드 서열의 증폭 방법을 나타낸다. 일반적으로, PCR 방법은 주형 핵산에 대해서 선택적으로 하이브리드화할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하는 프라이머 연장 합성의 반복된 사이클을 포함한다.

[0050] 용어 "백터"는 숙주 세포 내에서 복제할 수 있거나 숙주 세포 계능 내로 통합될 수 있으며, 그 자체로서 상화적인 숙주 세포와 함께 (백터-숙주 시스템) 다양한 기능을 수행하는데, 즉 뉴클레오타이드 서열의 클로닝을 용이하게 하고, 즉 사용할 수 있는 양의 서열을 생산하고, 서열에 의해서 코드화된 유전자 생성물의 발현을 지시하고, 뉴클레오타이드 서열을 숙주 세포의 계능 내로 통합시키는데 유용한 플라스미드 또는 그 밖의 다른 뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 백터는 이것이 수행하는 기능에 따라 상이한 성분들을 함유할 것이다.

[0051] "세포", "숙주 세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 본 명세서에서 상호 교환하여 사용되며, 이러한 용어들은 모두 세포의 성장 또는 배양으로부터 유래하는 자손을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0052] 용어 "기능적 생체내 반감기"는 그의 보통의 의미로, 즉 폴리펩타이드의 생물학적 활성의 50%가 여전히 신체/표적 기관 내에 존재하는 시간, 또는 폴리펩타이드의 활성이 초기값의 50%인 시간으로 사용된다.

[0053] 기능적 생체내 반감기를 결정하기 위한 대안으로서, "혈청 반감기", 즉 폴리펩타이드의 50%가 제거되기 전에 혈장 또는 혈류 내에서 순환하는 시간이 결정될 수 있다. 혈청 반감기의 결정은 종종, 기능적 생체내 반감기를 결정하는 것보다 더 단순하며, 혈청 반감기의 크기는 통상적으로 기능적 생체내 반감기의 크기의 우수한 지표이다. 혈청 반감기에 대한 대체 용어에는 "혈장 반감기", "순환 반감기", "혈청 청소율", "혈장 청소율" 및 "청소 반감기"가 포함된다. 폴리펩타이드는 세망내피 시스템 (RES), 신장, 비장 또는 간 중의 하나 또는 그 이상의 작용에 의해서, 조직 인자, SEC 수용체 또는 그 밖의 다른 수용체 매개된 제거에 의해서, 또는 특이적 또는 비특이적 단백질분해에 의해서 청소된다. 통상적으로, 청소율은 크기 (사구체 여과에 대한 컷오프에 관하여), 전하, 부착된 탄수화물 채, 및 단백질에 대한 세포 수용체의 존재에 따라 좌우된다. 보유될 기능성은 통상적으로, 수용체 결합 또는 수용체 활성화로부터 선택된다. 기능적 생체내 반감기 및 혈청 반감기는 본 기술분야에서 공지된 어떤 적합한 방법에 의해서라도 결정될 수 있으며, 예를 들어, 일반적으로 포유동물에게 치료하고자 하는 아미노산 서열 또는 화합물의 적합한 용량을 적합하게 투여하고; 상기의 포유동물로부터 규칙적인 간격으로 혈액 샘플 또는 그 밖의 다른 샘플을 수거하고; 상기의 혈액 샘플 내에서 본 발명의 아미노산 서열 또는 화합물의 레벨 또는 농도를 측정하고; 이렇게 수득된 데이터(의 플롯)로부터 본 발명의 아미노산 서열 또는 화합물의 레벨 또는 농도가 투약시의 초기 레벨에 비해 50%만큼 감소될 때까지의 시간을 계산하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌 (Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and in Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996))과 같은 표준 참고서를 참고로 한다. 또한, 문헌 ("Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982))을 참고로 한다.

[0054] "글리코실화"는 당 부분을 폴리펩타이드에 특정한 부위에서 부가하는 화학적 변형이다. 폴리펩타이드의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 부분의 부착을 나타낸다. 트리펩타이드 서열 Asn-X-Ser 및 Asn-X-Thr ("N-X-S/T") (여기에서 X는 프롤린을 제외한 모든 아미노산이다)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 부분의 효소적 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드 내에 이들 트리펩타이드 서열 (또는 모티프) 중의 어느 하나가 존재하는 것은 잠재적인 N-연결 글리코실화 부위를 생성시킨다. O-연결은 세린 및 트레오닌의 하이드록실-그룹 산소에 대한 탄수화물 부분의 부착을 나타낸다.

[0055] "분리된" 용합 폴리펩타이드는 이것을 발현한 세포의 성분으로부터 확인 및 분리된 것이다. 세포의 오염 성분은 용합 폴리펩타이드의 진단 또는 치료학적 용도를 저해할 수 있는 물질이며, 효소, 호르몬, 및 그 밖의 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 바람직한 구체예에서, 용합 폴리펩타이드는 (1) 예를 들어, 로리 (Lowry) 방법, UV-Vis 분광학에 의해서, 또는 SDS-모세관 겔 전기영동 (예를 들어, 캘리퍼 랩칩 (Caliper LabChip) GXII, GX 90 또는 비오라드 바이오애널리저 (Biorad Bioanalyzer) 장치 상에서)에 의해서 측정된 것으로서, 용합 폴리펩타이드의 95 중량% 이상까지, (2) N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15 잔기를

수득하기에 충분한 정도까지, 또는 (3) 쿠마시 블루 (Coomassie blue) 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비-환원성 조건 하에 SDS-PAGE에 의한 균질성까지 정제된다. 그러나, 통상적으로 분리된 융합 폴리펩타이드는 적어도 하나의 정제 단계에 의해서 제조될 것이다.

[0056] 개요

[0057] 본 발명은 본 명세서에서 또한 sc틸락신 또는 scR로 약칭된 단일쇄 틸락신이란 명칭으로 사용되는 A-L-B 융합 폴리펩타이드를 제공하며, 여기에서 "A"는 틸락신 A 쇠이며, "B"는 틸락신 B 쇠이고, "L"은 링커 폴리펩타이드이다. 본 발명은 개선된 틸락신 분자를 기술하며, 여기에서 A 쇠의 C-말단은 폴리펩타이드 링커를 통해서 B 쇠의 N-말단에 연결되어 융합 폴리펩타이드가 기능적 sc틸락신으로 발현되도록 허용한다. 본 발명은 부분적으로, A-L-B 융합 폴리펩타이드가 야생형 틸락신에 대해서 공지된 바와 같은 내단백질 분해 프로호르몬 처리에 대한 필요성이 없이 기능적으로 발현될 수 있다는 놀라운 발견에 관한 것이다.

[0058] 틸락신의 단일쇄 버전

[0059] 틸락신 A 및 B 영역:

[0060] 본 발명의 한가지 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, B는 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며, L은 링커 폴리펩타이드이다.

[0061] 본 발명의 추가의 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, B는 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며, L은 링커 폴리펩타이드이고, 여기에서 틸락신은 틸락신 1, 틸락신 2, 틸락신 3, INSL3, INSL4, INSL5, 및 INSL6으로 구성된 틸락신의 그룹으로부터 선택된다. 추가의 바람직한 구체예에서, 틸락신은 틸락신 2 또는 틸락신 3이다. 추가의 구체예에서, 전술한 틸락신은 인간 틸락신이다.

[0062] 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다. 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 2 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0063] 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 2 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0064] 바람직한 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 최소 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 118) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나, 인간 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다. 바람직한 구체예에서, A-L-B의 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 2 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0065] 더욱 바람직한 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 최소 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 118) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나, 인간 틸락신 2 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 2 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0066] 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 3 A 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다. 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 틸락신 3 B 쇠 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0067] 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 3 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 124) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다. 추가의 구체예에서, A-L-B의 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 3 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 125) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다. 바람직한 구체예에서, A-L-B의 틸락신 A 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 3 A 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 124) 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, 틸락신 B 쇠 폴리펩타이드는 인간 틸락신 3 B 쇠 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 125) 또는 그의 기능적 변이체를 포함한다.

[0068] 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 바람직한 구체예에서, 틸락신 A 또는 B 쇠의 기능적 변이체는 각각 야생형 틸락신 및 B 쇠와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 갖는다. 추가로 바람직한 것은 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 더 포함하는 전술한 틸락신 2 B 변

이체이다.

- [0069] 릴렉신 A 및 B쇄 변이체는 본 기술분야에서 공지되어 있다. 릴렉신의 잘 특정화된 결합 부위 기하학은 숙련된 전문가에게 릴렉신 A 및 B쇄 변이체를 디자인하는데 대한 지침을 제공한다 (예를 들어, 릴렉신 B쇄의 변이에 대해서는 Bullesbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10; 275(45):35276-80을 참조하고, 릴렉신 A쇄 및 "최소" 릴렉신 A쇄의 변이에 대해서는 Hossain et al. J Biol Chem. 2008 Jun 20; 283(25):17287-97을 참조). 예를 들어, 보존된 릴렉신 2 B 모티프 (Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X)의 경우에, 3개의 정의된 아미노산은 릴렉신 B쇄의 표면 상에서 삼각형 접촉 지역을 형성하기 때문에, X는 보존된 모티프 내에 적절한 아미노산 X를 선택하여 나선 구조 예를 형성할 수 있는 아미노산을 나타낸다 (Bullesbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10; 275(45)).
- [0070] 더 더욱 바람직한 구체예에서, A-L-B의 릴렉신 A쇄 폴리펩타이드는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이며, 릴렉신 B쇄 폴리펩타이드는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이다. 더 더욱 바람직한 구체예에서, 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)의 기능적 변이체는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는 기능적 변이체이다. 추가로 바람직한 것은 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)의 기능적 변이체이며, 여기에서 기능적 변이체는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 갖는다. 더 더욱 바람직한 것은 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 더 포함하는 전술한 인간 릴렉신 2 B 변이체이다.
- [0071] 더 더욱 바람직한 구체예에서, A-L-B의 릴렉신 A쇄 폴리펩타이드는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117), 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 교환을 갖는 그의 기능적 변이체이며, 릴렉신 B쇄 폴리펩타이드는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119), 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산 교환을 가지며, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이다.
- [0072] 본 기술분야에서 숙련된 전문가는 기능적 변이체를 어떻게 획득하는지를 안다. 기능적 변이체의 예는 릴렉신 A쇄의 경우에는 문헌 (Hossain et al J Biol Chem. 2008 Jun 20; 283(25):17287-97) 또는 미국 특허공개 제 US2011/0130332 호에, 릴렉신 B쇄의 경우에는 문헌 (Schwabe and Bullesbach (2007) Adv Exp Med Biol. 612:14-25 및 Bullesbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10;275(45):35276-80)에 기술되어 있다.
- [0073] **링커 L:**
- [0074] 한가지 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 링커 폴리펩타이드 L은 길이가 6-14개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로 바람직한 것은 길이가 7-13개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 추가로 바람직한 것은 길이가 8-12개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 더 더욱 바람직한 것은 길이가 7-11, 또는 9-11개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 더 더욱 바람직한 것은 길이가 9개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 추가의 바람직한 구체예에서, 폴리펩타이드 링커 L의 길이의 정수는 정수 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0075] 링커의 아미노산 조성은 달라질 수 있지만, 낮은 면역원성 스코어를 나타내는 링커가 바람직하다. 링커의 예는 본 기술분야에서 숙련된 전문가에게 잘 알려져 있으며, (GGGS)_n, (GGSG)_n (여기에서, n은 정수이다)과 같은 서열을 포함한다. 링커 펩타이드 L은 어떤 아미노산으로나 구성될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 적어도 하나의 Gly, Ser, Arg, Cys, Leu 및/또는 Lys 잔기를 포함한다. 더욱 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly 및 Ser 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 펩타이드 L은 예를 들어, 미국 특허 제 7,271,149 호에 기술된 바와 같은 서열 [GGGGS]_n을 포함하는 펩타이드와 같은 글리신-풍부 링커이다. 다른 구체예에서는, 예를 들어, 미국 특허 제 5,525,491 호에 기술된 바와 같은 세린-풍부 링커 펩타이드 L이 사용된다.
- [0076] 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 3 대 1인 링커 L이다.
- [0077] 추가의 구체예에서, 전술한 링커 L은 비-단백질성 폴리머 반감기 연장 부분의 공유적 커플링을 위한 적어도 하나의 부착 부위를 포함한다. 본 발명의 구체예에서, 전술한 부착 부위는 Lys 또는 Cys 잔기이다.
- [0078] 이러한 링커의 예는 [GlyGlyGlySerGlyGly] (SEQ ID NO: 137),
- [0079] [GlyGlyGlySerGlyGlyGly] (SEQ ID NO: 138),

- [0080] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 139),
- [0081] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySer] (SEQ ID NO: 140),
- [0082] [GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 141),
- [0083] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly] (SEQ ID NO: 143),
- [0084] [LysArgSerLeuSerArgLysLysArg] (SEQ ID NO: 144),
- [0085] [GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 142),
- [0086] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 145), 및
- [0087] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly] (SEQ ID NO: 146)이다.
- [0088] 최적 링커 길이 및 아미노산 조성은 본 기술분야에서 공지된 일상적인 방법에 의해서 결정될 수 있는 것으로 생각된다.
- [0089] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 림팩신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117), 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 림팩신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119), 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 6-14, 7-13, 8-12, 7-11, 9-11, 또는 9 개의 아미노산 잔기인 링커 폴리펩타이드이다.
- [0090] 바람직한 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 링커 폴리펩타이드 L은 길이가 7-11, 또는 9-11 개의 아미노산 잔기이다. 더 더욱 바람직한 것은 길이가 9 개의 아미노산 잔기인 폴리펩타이드 링커 L이다. 추가의 바람직한 구체예에서, 폴리펩타이드 링커 L의 길이의 정수는 정수 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 링커 폴리펩타이드 L은 어떤 아미노산으로나 구성될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 유연성 링커 (flexible linker)이다.
- [0091] 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 적어도 하나의 Gly, Ser, Arg, Leu, Cys, 및/또는 Lys 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly, Ser, Arg, Leu, Cys, 및 Lys 잔기로 구성된 아미노산의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성된다.
- [0092] 더욱 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly 및 Ser 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 펩타이드 L은 미국 특허 제 7,271,149 호에 기술된 바와 같은 서열 [GGGGS]_n을 포함하는 펩타이드와 같은 글리신-풍부 링커이다. 다른 구체예에서는, 미국 특허 제 5,525,491 호에 기술된 바와 같은 세린-풍부 링커 펩타이드 L이 사용된다.
- [0093] 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 2 대 1인 링커 폴리펩타이드 L이다.
- [0094] 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 3 대 1인 링커 폴리펩타이드 L이다.
- [0095] 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 1 대 2인 링커 폴리펩타이드 L이다.
- [0096] 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, Gly 대 Ser의 비가 적어도 1 대 3인 링커 폴리펩타이드 L이다.
- [0097] 추가의 바람직한 구체예는 전술한 바람직한 길이를 갖는 링커 폴리펩타이드 L이며, 여기에서 링커 L의 4 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 4 개의 아미노산 잔기는 천연 아미노산의 그룹으로부터 선택된다.
- [0098] 추가의 바람직한 구체예는 전술한 바람직한 길이를 갖는 링커 폴리펩타이드 L이며, 여기에서 링커 L의 3 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 3 개의 아미노산 잔기는 천연 아미노산의 그룹으로부터 선택된다.

- [0099] 추가의 바람직한 구체예는 전술한 바람직한 길이를 갖는 링커 폴리펩타이드 L이며, 여기에서 링커 L의 2 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 2 개의 아미노산 잔기는 천연 아미노산의 그룹으로부터 선택된다.
- [0100] 추가의 바람직한 구체예는 전술한 바람직한 길이를 갖는 링커 폴리펩타이드 L이며, 여기에서 링커 L의 1 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 아미노산 잔기는 천연 아미노산의 그룹으로부터 선택된다.
- [0101] 추가의 바람직한 구체예에서, 전술한 천연 아미노산의 그룹은 아미노산 프롤린은 제외한다.
- [0102] 추가의 바람직한 구체예는 전술한 바람직한 길이를 갖는 링커 폴리펩타이드 L이며, 여기에서 링커 L의 1 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 아미노산은 Cys 및 Lys의 그룹으로부터 선택된다.
- [0103] 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 폴리펩타이드 L은 Gly 및 Ser 잔기로 구성된 아미노산 잔기의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성된다.
- [0104] 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 L은 Gly 및 Ser 잔기로 구성된 아미노산의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성되며, 여기에서 Gly 대 Ser의 비는 적어도 2 대 1이다.
- [0105] 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 L은 Gly 및 Ser 잔기로 구성된 아미노산의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성되며, 여기에서 Gly 대 Ser의 비는 적어도 3 대 1이다.
- [0106] 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 L은 Gly 및 Ser 잔기로 구성된 아미노산의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성되며, 여기에서 Gly 대 Ser의 비는 적어도 1 대 2이다.
- [0107] 추가의 바람직한 구체예에서, 링커 L은 Gly 및 Ser 잔기로 구성된 아미노산의 그룹으로부터 선택된 아미노산 잔기로 구성되며, 여기에서 Gly 대 Ser의 비는 적어도 1 대 3이다.
- [0108] 추가의 구체예에서, 전술한 링커 L은 비단백질성 폴리머 반감기 연장 부분의 공유적 커플링을 위한 적어도 하나의 부착 부위를 포함한다. 본 발명의 구체예에서, 전술한 부착 부위는 Lys 또는 Cys 잔기이다.
- [0109] 바람직한 링커 폴리펩타이드 L은
- [0110] [GlyGlyGlySerGlyGly] (SEQ ID NO: 137),
- [0111] [GlyGlyGlySerGlyGlyGly] (SEQ ID NO: 138),
- [0112] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 139),
- [0113] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlySer] (SEQ ID NO: 140),
- [0114] [GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 141),
- [0115] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly] (SEQ ID NO: 143),
- [0116] [LysArgSerLeuSerArgLysLysArg] (SEQ ID NO: 144),
- [0117] [GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 142),
- [0118] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly] (SEQ ID NO: 145), 및
- [0119] [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly] (SEQ ID NO: 146)로 구성된 링커 폴리펩타이드의 그룹으로부터 선택된다.
- [0120] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.
- [0121] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-

X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.

[0122] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.

[0123] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 9 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.

[0124] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117), 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고 보존된 모티프 Arg-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 9 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.

[0125] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며, L은 길이가 9 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이다.

[0126] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산이고, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0127] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산이며, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0128] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며, L은 길이가 7, 8, 9 또는 10 개의 아미노산이며, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0129] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 9 개의 아미노산이며, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0130] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 길이가 9 개의 아미노산이며, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0131] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며, L은 길이가 9 개의 아미노산이며, 글리신 및 세린 잔기를 적어도 3:1의 비로 포함하는 링커 폴리펩타이드이다.

[0132] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며, L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴

리펩타이드이다.

- [0133] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이다.
- [0134] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고, B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며, L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이다.
- [0135] 본 발명의 더욱 바람직한 구체예는 scR4의 서열 (SEQ ID NO: 4)을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.
- [0136] 본 발명의 더욱 바람직한 구체예는 scR4 w/o Tag의 서열 (SEQ ID NO: 45)을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.
- [0137] 본 발명의 바람직한 구체예는 A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서 A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 SEQ ID NO: 117과 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖는 그의 기능적 변이체이고, B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 SEQ ID NO: 119와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 아미노산 치환을 갖고, 보존된 모티프 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X를 포함하는 그의 기능적 변이체이며, L은 SEQ ID NO: 137-146의 아미노산 서열을 갖는 링커로 구성된 링커 펩타이드의 그룹으로부터 선택된 링커 폴리펩타이드이다.
- [0138] 링커 길이는 6 내지 14 개의 아미노산일 수 있지만, 그들 자체가 추가의 기능을 매개하는 더 긴 링커 펩타이드도 가능하다.
- [0139] 추가의 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B는 릴렉신 활성을 갖는다. 추가의 바람직한 구체예에서, 릴렉신 활성은 릴렉신 수용체 LGR7의 활성화이다. 릴렉신 활성을 결정하는 방법은 본 기술분야에서 공지되어 있거나, 본 명세서에 제공된다. 추가의 더욱 바람직한 구체예에서, 릴렉신 수용체 LGR7의 활성화는 본 명세서의 실험 방법에 기술된 방법에 의해서 측정된다. 추가의 더욱 바람직한 구체예에서, 릴렉신 수용체 LGR7의 활성화의 측정은 EC₅₀ 값을 측정하는 것이다. 더 더욱 바람직한 구체예에서, 전술한 릴렉신 활성은 1/2 최대 활성을 유도하는 상응하는 야생형 릴렉신 유효 농도와 비교하여 10⁵ 배, 10⁴ 배, 10³ 배, 100 배, 75 배, 50 배, 25 배 또는 10 배 미만으로 더 작다. 예를 들어, 인간 릴렉신 2를 기초로 하는 융합 폴리펩타이드 A-L-B에 대한 상응하는 야생형 릴렉신은 인간 릴렉신 2 단백질이다.
- [0140] **단일쇄 릴렉신 변이체의 생물학적 반감기의 개선**
- [0141] 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 반감기의 개선은 반감기 연장 부분을 첨가함으로써 달성될 수 있다.
- [0142] 본 발명의 구체예에서, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B는 추가로 적어도 하나의 반감기 연장 부분을 포함한다. 한가지 구체예에서, 반감기 연장 부분은 단백질성 또는 비단백질성 폴리머이다.
- [0143] **비단백질성 폴리머 반감기 연장 부분에 의한 반감기 연장:**
- [0144] 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 생물학적 반감기를 개선시키는 것은 A-L-B의 N- 및/또는 C-말단에 융합된 비단백질성 폴리머 반감기 연장 부분에 대한 부착 부위를 포함하는 스트레처 폴리펩타이드에 공유적으로 커플링된 비단백질성 폴리머 반감기 연장 부분에 의해서 달성될 수 있다. 이러한 부분을 부착시키는 방법은 본 기술분야에서 공지되어 있다.
- [0145] 비단백질성 폴리머 반감기 연장 부분은 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 부착 부위에 공유적으로 커플링될 수 있다. 부착 부위는 A, L 또는 B 내에 있을 수 있거나, 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 N-말단 및/또는 C-말단에 조합적으로 융합된 이러한 부착 부위를 포함하는 폴리펩타이드에 의해서 첨가될 수 있다. 바람직한 것은 링커 폴리펩타이드 L을 통한 커플링, 또는 부착 부위를 포함하는 융합 폴리펩타이드 A-L-B 융합된 스트레처에 대한 N- 및/또는 C-말단적 커플링이다. 부착 부위는 부착 아미노산, 예를 들어, Cys 또는 Lys, 또는 탄수화물의 당 부분일 수 있다.
- [0146] 변이체 폴리펩타이드에 커플링될 비단백질성 폴리머 분자는 전형적으로 약 500-20,000 Da와 같은 약 300-

100,000 Da의 범위, 더욱 바람직하게는 약 500-15,000 Da의 범위, 더 더욱 바람직하게는 약 3-10 kDa의 범위와 같은 약 2-12 kDa의 범위의 분자량을 갖는 천연 또는 합성 호모-폴리머 또는 헤테로-폴리머와 같은 어떤 적합한 폴리머 분자라도 될 수 있다. 용어 "약"이 본 명세서에서 특정의 분자량과 관련하여 사용된 경우에, 단어 "약"은 근사치 평균 분자량을 나타내며, 통상적으로 소정의 폴리머 제제 내에는 특정한 분자량 분포가 있을 것이라는 사실을 반영하는 것이다. 호모-폴리머의 예로는 폴리올 (즉, 폴리-OH), 폴리아민 (즉, 폴리-NH₂) 및 폴리카복실산 (즉, 폴리-COOH)이 포함된다. 헤테로-폴리머는 하이드록실 그룹 및 아민 그룹과 같은 상이한 커플링 그룹을 포함하는 폴리머이다.

[0147] 적합한 폴리머 분자의 예로는 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 및 폴리프로필렌 글리콜 (PPG)과 같은 폴리아킬렌 글리콜 (PAG)을 포함하는 폴리아킬렌 옥사이드 (PAO), 분지된 PEGs, 하이드록시에틸 전분 (HES)과 같은 하이드록시알킬 전분 (HAS), 폴리스알산 (PSA), 폴리-비닐 알콜 (PVA), 폴리-카복실레이트, 폴리-(비닐피롤리돈), 폴리에틸렌-코-말레산 안하이드라이드, 폴리스티렌-코-말레산 안하이드라이드, 카복시메틸-텍스트란을 포함하는 텍스트란, 또는 면역원성을 감소시키고/시키거나 기능적 생체내 반감기 및/또는 혈청 반감기를 증가시키는데 적합한 모든 다른 바이오폴리머 (biopolymer)로 구성된 그룹으로부터 선택된 폴리머 분자가 포함된다. 폴리머 분자의 또 다른 예는 인간 알부민 또는 또 다른 풍부한 혈장 단백질이다. 일반적으로, 폴리아킬렌 글리콜-유도된 폴리머는 생체적합성이고, 비-독성이며, 비-항원성이고, 비-면역원성이며, 다양한 수용성 특성을 갖고, 생물 유기체로부터 쉽게 배설된다.

[0148] PEG는 예를 들어, 텍스트란과 같은 폴리사카라이드와 비교하여 교차-결합할 수 있는 단지 몇 개의 반응성 그룹만을 갖기 때문에, 이것이 바람직한 폴리머 분자이다. 특히, 단일기능성 PEG, 예를 들어, 메톡시폴리에틸렌 글리콜 (mPEG)이 흥미로운 것인데, 이는 그의 커플링 화학이 비교적 간단하기 때문이다 (단지 하나의 반응성 그룹을 폴리펩타이드 상의 부착 그룹과의 컨쥬게이팅에 이용할 수 있다). 따라서, 교차-결합의 위험이 제거되기 때문에, 생성된 본 발명의 컨쥬게이트된 융합 폴리펩타이드는 더욱 균질하고, 변이체 폴리펩타이드와 폴리머 분자의 반응은 더 조절하기 쉽다.

[0149] 본 발명의 융합 폴리펩타이드에 대한 폴리머 분자(들)의 공유적 부착을 수행하기 위해서, 폴리머 분자의 하이드록실 말단 그룹은 반드시 활성화된 형태로, 즉 반응성 기능적 그룹 (그의 예로는 일급 아미노 그룹, 하이드라이드 (HZ), 티올, 석시네이트 (SUC), 석신이미딜 석시네이트 (SS), 석신이미딜 석신아미드 (SSA), 석신이미딜 프로피오네이트 (SPA), 석신이미딜 부티레이트 (SBA), 석신이미딜 카복시메틸레이트 (SCM), 벤조트리아졸 카보네이트 (BTC), N-하이드록시석신아미드 (NHS), 알데히드, 니트로페닐카보네이트 (NPC), 및 트레실레이트 (TRES)가 포함된다)과 함께 제공되어야 한다. 적합한 활성화된 폴리머 분자는 예를 들어, Shearwater Polymers, Inc., Huntsville, AL, USA, 또는 PolyMASC Pharmaceuticals plc, UK로부터 상업적으로 이용할 수 있다.

[0150] 대신으로, 폴리머 분자는 본 기술분야에서 공지된, 예를 들어, WO 90/13540에 기술된 바와 같은 통상적인 방법에 의해서 활성화될 수 있다. 본 발명에서 사용하기 위한 활성화된 선형 또는 분지된 폴리머 분자의 구체적인 예는 Shearwater Polymers, Inc. 1997 및 2000 카탈로그 (Functionalized Biocompatible Polymers for Research and pharmaceuticals, Polyethylene Glycol and Derivatives; 본 명세서에 참고로 포함됨)에 기술되어 있다. 활성화된 PEG 폴리머의 구체적인 예로는 다음의 선형 PEGs, 즉 NHS-PEG (예를 들어, SPA-PEG, SSPA-PEG, SBA-PEG, SS-PEG, SSA-PEG, SC-PEG, SG-PEG, 및 SCM-PEG), 및 NOR-PEG, BTC-PEG, EPOXPEG, NCO-PEG, NPC-PEG, CDI-PEG, ALD-PEG, TRES-PEG, VS-PEG, IODO-PEG, 및 MAL-PEG, 및 PEG2-NHS 및 US 5,932,462 및 US 5,643,575 (이들은 둘 다 본 명세서에 참고로 포함된다)에 기술된 것과 같은 분지된 PEGs가 포함된다. 더욱이, 이하의 문헌은 유용한 폴리머 분자 및/또는 PEGyl화 화학을 기술하고 있다: US 5,824,778, US 5,476,653, WO 97/32607, EP 229,108, EP 402,378, US 4,902,502, US 5,281,698, US 5,122,614, US 5,219,564, WO 92/16555, WO 94/04193, WO 94/14758, WO 94/17039, WO 94/18247, WO 94/28024, WO 95/00162, WO 95/11924, WO95/13090, WO 95/33490, WO 96/00080, WO 97/18832, WO 98/41562, WO 98/48837, WO 99/32134, WO 99/32139, WO 99/32140, WO 96/40791, WO 98/32466, WO 95/06058, EP 439 508, WO 97/03106, WO 96/21469, WO 95/13312, EP 921 131, US 5,736,625, WO 98/05363, EP 809 996, US 5,629,384, WO 96/41813, WO 96/07670, US 5,473,034, US 5,516,673, EP 605 963, US 5,382,657, EP 510 356, EP 400 472, EP 183 503 및 EP 154 316.

[0151] 시스테인 잔기에 대한 커플링에 특히 바람직한 활성화된 PEG 폴리머의 구체적인 예로는 다음의 선형 PEGs가 포함된다: 비닐설폰-PEG (VS-PEG), 바람직하게는 비닐설폰-mPEG (VS-mPEG); 말레이미드-PEG (MAL-PEG), 바람직하게는 말레이미드-mPEG (MAL-mPEG) 및 오르토포리달-디설파이드-PEG (OPSS-PEG), 바람직하게는 오르토포리달-디설파이드-mPEG (OPSS-mPEG). 전형적으로, 이러한 PEG 또는 mPEG 폴리머는 약 5 kDa, 약 10 kD, 약 12 kDa 또

는 약 20 kDa의 크기를 가질 것이다.

- [0152] 본 발명의 융합 폴리펩타이드 및 활성화된 폴리머 분자의 컨주게이션은 예를 들어, 다음의 문헌들 (이들은 또한 폴리머 분자의 활성화에 적합한 방법을 기술한다)에 기술된 바와 같은 어떤 통상적인 방법이라도 사용하여 수행된다: Harris and Zalipsky, eds., Poly(ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications, AZC Washington; R.F. Taylor, (1991), "Protein immobilisation. Fundamental and applications", Marcel Dekker, N.Y.; S.S. Wong, (1992), "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Raton; G.T. Hermanson et al., (1993), "Immobilized Affinity Ligand Techniques", Academic Press, N.Y.
- [0153] 숙련된 전문가들은 사용될 활성화 방법 및/또는 컨주게이션 화학은 융합 폴리펩타이드 (그의 예는 상기에 더 제시되어 있다)의 부착 그룹(들)뿐만 아니라 폴리머의 기능적 그룹 (예를 들어, 아민, 하이드록실, 카복실, 알데히드, 설프히드릴, 석신이미드, 말레이미드, 비닐설폰 또는 할로아세테이트)에 따라 좌우된다는 것을 알고 있을 것이다. PEGyl화는 융합 폴리펩타이드 상의 모든 가능한 부착 그룹 (즉, 폴리펩타이드의 표면에서 노출된 이러한 부착 그룹)에 대한 컨주게이션 쪽으로 지시될 것이거나, 하나 또는 그 이상의 특정한 부착 그룹, 예를 들어, US 5,985,265에 기술된 바와 같은 N-말단 아미노 그룹, 또는 시스테인 잔기 쪽으로 지시될 것이다. 더욱이, 컨주게이션은 하나의 단계로, 또는 단계적 방식으로 (예를 들어, WO 99/55377에 기술된 바와 같음) 달성될 수 있다.
- [0154] 시스테인 잔기에 대한 PEGyl화를 위해서 (상기 참조), 융합 폴리펩타이드는 통상적으로, PEGyl화하기 전에 디티오트레이톨 (DDT)과 같은 환원제로 처리한다. 이어서, 환원제는 탈염과 같은 어떤 통상적인 방법에 의해서라도 제거된다. 시스테인 잔기에 대한 PEG의 컨주게이션은 전형적으로 pH 6-9의 적합한 완충액 중에서 16 시간까지의 기간 동안 4℃ 내지 25℃의 온도에서 일어난다.
- [0155] PEGyl화는 부착된 PEG 분자의 수, 이러한 분자의 크기 및 형태 (예를 들어, 이들이 선형인지 분지된 것인지 여부), 및 융합 폴리펩타이드 내의 부착 부위(들)에 관하여 최적 분자를 생산하도록 디자인되는 것으로 이해될 것이다. 사용될 폴리머의 분자량은 예를 들어, 달성될 바람직한 효과를 기초로 하여 선택될 수 있다.
- [0156] 단지 단백질 상의 단일의 부착 그룹 (예를 들어, N-말단 아미노 그룹)에 대한 컨주게이션과 관련하여, 선형이거나 분지될 수 있는 폴리머 분자는 큰 분자량, 바람직하게는 약 15-25 kDa, 예를 들어, 약 20 kDa와 같은 약 10-25 kDa를 갖는 것이 유리할 수 있다.
- [0157] 통상적으로, 폴리머 컨주게이션은 이용 가능한 폴리머 부착 그룹의 대부분이 폴리머 분자와 반응하는 것으로 목적으로 하는 조건 하에서 수행된다. 이것은 폴리펩타이드에 대해서 적합한 몰 과량의 폴리머를 사용함으로써 달성된다. 전형적으로, 폴리펩타이드에 대한 활성화된 폴리머 분자의 몰비는 약 200-1까지, 또는 약 100-1까지와 같은 약 1000-1이다. 일부의 경우에, 상기의 비는 최적 반응을 수득하기 위해서 약 50-1, 10-1, 5-1, 2-1 또는 1-1까지와 같이 다소 더 낮을 수 있다.
- [0158] 또한, 본 발명에 따르면 링커를 통해서 폴리머 분자를 폴리펩타이드에 커플링시키는 것도 고려된다. 적합한 링커는 숙련된 전문가에게 잘 알려져 있다. 바람직한 예는 시아누릭 클로라이드 (cyanuric chloride)이다 (Abuchowski et al., (1977), J. Biol. Chem., 252, 3578-3581; US 4,179,337; Shafer et al., (1986), J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed., 24, 375-378).
- [0159] 컨주게이션에 이어서, 잔류하는 활성화된 폴리머 분자는 본 기술분야에서 공지된 방법에 따라, 예를 들어, 반응 혼합물에 일급 아민을 첨가함으로써 차단되며, 생성된 불활성화된 폴리머 분자는 적합한 방법에 의해서 제거된다.
- [0160] 환경, 예를 들어, 융합 폴리펩타이드의 아미노산 서열, 사용되는 활성화된 PEG 화합물의 성질, 및 폴리펩타이드에 대한 PEG의 몰비를 포함하는 특정한 PEGyl화 조건에 따라서 다양한 정도의 PEGyl화가 수득될 수 있는 것으로 이해될 것이며, 여기에서 더 큰 정도의 PEGyl화는 일반적으로 융합 폴리펩타이드에 대한 PEG의 더 큰 비에 의해서 수득된다. 그러나, 어떤 소정의 PEGyl화로부터 기인하는 PEGyl화된 융합 폴리펩타이드는 통상적으로 약간 상이한 정도의 PEGyl화를 갖는 컨주게이트된 융합 폴리펩타이드의 확률론적 분포를 포함할 것이다.
- [0161] 리액신 또는 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서는, PEGyl화 또는 HESyl화와 같은 화학적 변형을 적용할 수 있다.
- [0162] HAS 및 HES 비단백질성 폴리머뿐만 아니라 HAS 또는 HES 컨주게이트를 생산하는 방법은 예를 들어, WO02/080979, WO03/070772, WO057092391 및 WO057092390에 개시되어 있다.

- [0163] 천연 폴리머 폴리스알산 (PSA)을 사용하여 반감기를 연장시키고, 치료학적 펩타이드 및 단백질의 안정성을 개선시키는 폴리스알릴화는 또 다른 기술이다. PSA는 시알산의 폴리머 (당)이다. 단백질 및 치료학적 펩타이드 약물 송달을 위해서 사용되는 경우에, 폴리스알산은 컨쥬게이션에 대한 보호적 미세환경을 제공한다. 이것은 순환계에서 치료학적 단백질의 활성 수명을 증가시키고, 면역 시스템에 의해서 이것이 인식되는 것을 방지한다. PSA 폴리머는 천연적으로 인체에서 발견된다. 이것은 수백만 년에 걸쳐서 그들의 벽을 이것으로 코팅하도록 진화한 특성의 박테리아에 의해서도 채택되었다. 그 후, 이들 천연적으로 폴리스알릴화된 박테리아는 분자를 휴대함으로써 신체의 방어 시스템을 저지시킬 수 있었다. 천연의 궁극적인 스텔스 기술 (stealth technology)인 PSA는 이러한 박테리아로부터 대량으로, 예정된 물리적 특징을 갖도록 쉽게 생산될 수 있다. 박테리아 PSA는 인체 내의 PSA와 화학적으로 동일하기 때문에, 단백질에 커플링되는 경우에조차도 완전히 비-면역원성이다.
- [0164] **단백질성 반감기 연장 부분에 의한 반감기 연장:**
- [0165] 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 반감기를 개선시키는 추가의 가능성은 항체의 면역글로불린 Fc 단편, 트랜스페린, 트랜스페린 수용체 또는 적어도 그의 트랜스페린-결합 부분, 혈청 알부민, 또는 그의 변이체, 또는 생체내에서 더 긴 반감기를 매개하는 다른 분자에 결합하는 결합 분자와 같은 단백질성 반감기 연장 부분과의 융합이며, 예를 들어, 혈청 알부민 결합 단백질이 통상적으로 사용되는 방법이다.
- [0166] 상술한 sc릴랙신 폴리펩타이드는 면역글로불린의 Fc 부분에 직접 또는 펩타이드 링커를 통해서 융합될 수 있다. "면역글로불린"은 디설파이드 결합에 의해서 함께 결합되고, 전형적으로 2 개의 경쇄 및 2 개의 중쇄를 갖는 폴리펩타이드 쇄를 함유하는 분자이다. 각각의 쇄에서 하나의 영역 (V)은 분자의 항체 특이성에 따라 가변적 아미노산 서열을 갖는다. 다른 영역 (C)은 동일한 클래스의 분자에 대해 공통적인, 도리어 불변적인 서열을 갖는다.
- [0167] 본 명세서에서 사용된 것으로서, 면역글로불린의 "Fc" 부분은 면역학의 분야에서 이 용어에 통상적으로 제시되는 의미를 갖는다. 구체적으로, 이 용어는 항체로부터 2 개의 항원 결합 지역 (Fab 단편)을 제거함으로써 수득된 항체 단편을 나타낸다. Fab 단편을 제거하는 한가지 방법은 면역글로불린을 파파인 프로테아제로 소화시키는 것이다. 따라서, Fc 부분은 비-공유적 상호작용 및 디설파이드 결합을 통해서 회합하는 두 개의 중쇄 모두로부터의 불변 지역의 대략 동등한 크기의 단편으로부터 형성된다. Fc 부분은 힌지 (hinge) 지역을 포함하며, CH2 및 CH3 영역을 통해서 항체의 C-말단까지 연장될 수 있다. 인간 및 마우스 면역글로불린에 대한 대표적인 힌지 지역은 문헌 (Antibody Engineering, A Practical Guide, Borrebaeck, C.A.K., ed., W.H. Freeman and Co., 1992)에서 찾을 수 있다.
- [0168] 상이한 효과기 (effector) 및 약력학적 특성을 갖는 5 가지 타입의 인간 면역글로불린 Fc 지역이 있다: IgG, IgA, IgM, IgD, 및 IgE. IgG는 혈청 내에서 가장 풍부한 면역글로불린이다. IgG는 또한 모든 면역글로불린의 혈청 내에서의 가장 긴 반감기를 갖는다 (23일). 다른 면역글로불린과는 달리, IgG는 Fc 수용체에 대한 결합 후에 효율적으로 재순환된다. 4 개의 IgG 서브클래스인 G1, G2, G3, 및 G4가 있으며, 이들은 각각 상이한 효과 또는 기능을 갖는다. 이들 효과기 기능은 일반적으로 Fc 수용체 (FcγR)와의 상호작용을 통해서, 또는 C1q를 결합시키고, 보체를 고정시킴으로써 매개된다. FcγR에 대한 결합은 항체 의존적 세포 매개된 세포용해를 유도할 수 있는 반면에, 보체 인자에 대한 결합은 보체 매개된 세포 용해를 초래할 수 있다. Fc 부분이 반감기를 연장시키는 그의 능력에 유일하게 이용되는 이종 Fc 융합 단백질을 디자인하는데 있어서는, 어떤 효과기 기능이 라도 최소화하는 것이 중요하다. 모든 IgG 서브클래스는 Fc 수용체 (CD16, CD32, CD64)에 결합할 수 있으며, G1 및 G3가 G2 및 G4보다 더 효과적이다. IgG의 Fc 수용체 결합 지역은 CH2 영역의 카복시 말단 지역 및 힌지 둘 다에 위치하는 잔기에 의해서 형성된다.
- [0169] 원하는 생체내 효과에 따라, 본 발명의 이종 융합 단백질은 상술한 이소타입 중의 어떤 것이라도 함유할 수 있거나, 보체 및/또는 Fc 수용체 결합 기능이 변화된 돌연변이된 Fc 지역을 함유할 수 있다. 따라서, 본 발명의 이종 융합 단백질은 면역글로불린의 전체 Fc 부분, 면역글로불린의 Fc 부분의 단편, 또는 sc릴랙신 화합물에 융합된 그의 유사체를 함유할 수 있다.
- [0170] 융합 단백질의 최종 구조와는 무관하게, Fc 또는 Fc-유사 지역은 C-말단 또는 N-말단에서 융합된 sc릴랙신 화합물의 생체내 혈장 반감기를 연장시키는데 적합하여야 한다. 바람직하게는, 융합된 sc릴랙신 화합물은 일부의 생물학적 활성을 보유한다. 생물학적 활성은 본 기술분야에서 공지된 시험관내 및 생체내 방법에 의해서 측정될 수 있다.
- [0171] 본 발명의 이종 융합 단백질의 Fc 지역은 IgG1 또는 IgG2 Fc 지역으로부터 유도되는 것이 바람직하다.

- [0172] 일반적으로, 본 발명의 이중 융합 단백질에 사용된 Fc 지역은 인간, 랫트, 마우스 및 돼지를 포함한 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 어떤 종으로부터라도 유도될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 사용된 Fc 지역은 인간 또는 랫트로부터 유도된다. 그러나, 가장 바람직한 것은 융합 단백질이 인간에게서 면역원성이 되는 위험성을 감소시키기 위해서 인간 Fc 지역 및 그의 단편 및 변이체이다. "천연 서열 Fc 지역"은 자연에서 발견되는 Fc 지역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. "변이체 Fc 지역"은 적어도 하나의 아미노산 변형에 의해서 천연 서열 Fc 지역의 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 지역은 천연 서열 Fc 지역 또는 어버이 폴리펩타이드의 Fc 지역과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들어, 천연 서열 Fc 지역에서 또는 어버이 폴리펩타이드의 Fc 지역에서 약 1 내지 약 10 개의 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1 내지 약 5 개의 아미노산 치환을 갖는다. 여기에서 변이체 Fc 지역은 바람직하게는 천연 서열 Fc 지역 및/또는 어버이 폴리펩타이드의 Fc 지역과 적어도 약 80% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 그들과 적어도 약 90% 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 그들과 적어도 약 95% 서열 동일성을 가질 것이다.
- [0173] 상술한 sc릴렉신 화합물은 직접적으로 또는 펩타이드 스트레처를 통해서 알부민, 또는 그의 유사체, 단편 또는 유도체에 융합될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 융합 단백질의 일부분을 구성하는 알부민 단백질은 어떤 종으로부터 클로닝된 알부민으로부터라도 유도될 수 있다. 그러나, 융합 단백질이 인간에게서 면역원성이 되는 위험을 감소시키기 위해서 인간 알부민 및 그의 단편 및 유사체가 바람직하다. 인간 혈청 알부민 (HSA)은 66,500의 화학식 분자량 (formula molecular weight)을 갖는 585 개의 아미노산의 단일의 비-글리코실화된 폴리펩타이드 체로 구성된다. HSA의 아미노산 서열 (SEQ ID NO: 123)은 예를 들어, 문헌 (Meloun, et al. (1975); Behrens, et al. (1975); Lawn, et al. (1981); 및 Minghetti, et al. (1986))에 기술되어 있다. 다양한 다형성 변이체뿐만 아니라 알부민의 유사체 및 단편도 기술되었다 (참조: Weitkamp, et al. (1973)). 예를 들어, EP0322094 및 EP0399666에는 인간 혈청 알부민의 다양한 단편이 기술되어 있다. 본 발명의 이중 융합 단백질은 단편, 유사체 및 유도체를 포함한 모든 알부민 단백질에 커플링된 sc릴렉신 화합물을 포함하는 것으로 이해되며, 여기에서 이러한 융합 단백질은 생물학적으로 활성이며, sc릴렉신 화합물 단독인 경우보다 더 긴 혈장 반감기를 갖는다. 따라서, 융합 단백질의 알부민 부분은 반드시 천연 인간 알부민의 경우와 동등한 혈장 반감기를 갖는 것이 필요하지는 않다. 천연 인간 알부민 및 관심이 있는 sc릴렉신 화합물의 경우보다 더 긴 반감기를 갖거나 그들의 중간인 반감기를 갖는 단편, 유사체 및 유도체는 공지되어 있거나, 생성될 수 있다. 그 기술은 본 기술분야에서 잘 알려져 있다 (참조: 예를 들어, WO 93/15199, WO 93/15200, WO 01/77137 및 EP0413622).
- [0174] 본 발명의 구체예에서, 단백질성 반감기 연장 부분은 낮은 면역원성을 가지며, 인간 또는 인간화된다. 바람직한 구체예에서, 단백질성 반감기 연장 부분은 인간 트랜스페린 (SEQ ID NO: 122), 인간 혈청 알부민 (SEQ ID NO: 123), 또는 인간 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 120)와 같은 인간의 것이다.
- [0175] 추가로, 생물학적 반감기를 개선시키는 다른 단백질, 단백질 영역 또는 펩타이드가 융합 파트너로서 또한 사용될 수 있다.
- [0176] 인간 혈청 알부민에 대한 융합에 의한 반감기 연장은 예를 들어, WO93/15199에 개시되어 있다. 단백질의 약리학을 개선시키기 위한 일반적 전략으로서 알부민 결합은 예를 들어, 문헌 (Dennis et al., The Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, No 38, Issue of September 20, pp. 35035-35043)에 기술되어 있다. 인간 혈청 알부민 결합 단백질에 대한 융합에 의한 반감기 연장은 예를 들어, US20100104588에 개시되어 있다. 인간 혈청 알부민 또는 IgG-Fc 결합 단백질에 대한 융합에 의한 반감기 연장은 예를 들어, WO01/45746에 개시되어 있다. 인간 혈청 알부민 결합 펩타이드에 대한 융합에 의한 반감기 연장의 추가의 예는 WO2010/054699에 개시되어 있다.
- [0177] Fc 영역에 대한 융합에 의한 반감기 연장은 예를 들어, WO2001/058957에 개시되어 있다.
- [0178] 생물학적 활성은 관심이 있는 단백질의 그의 융합 파트너에 대한 바람직한 배향을 결정한다. 융합 파트너의 C-말단뿐만 아니라 N-말단 배향도 포함된다. 또한, 생물학적 반감기 또는 그 밖의 다른 기능을 개선시키기 위해서, 융합 파트너는 포스포릴화, 설페이트화, 아크릴화, 글리코실화, 탈글리코실화, 메틸화, 파르네실화, 아세틸화, 아미드화 등에 의해서 변형될 수 있다.
- [0179] 단백질성 반감기 연장 부분은 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 N-말단 및/또는 C-말단에 재조합적으로 융합된다. 융합은 추가의 스트레처 폴리펩타이드가 있거나 없이 이루어질 수 있다. 단백질성 반감기 연장 부분의 예는 트랜스페린, 트랜스페린 수용체 또는 적어도 그의 트랜스페린-결합 부분, 혈청 알부민, 혈청 알부민 결합 단백질, 면역글로불린, 및 면역글로불린의 Fc 영역이다. 바람직한 것은 인간 단백질성 반감기 연장 부분, 예를

들어, 인간 트랜스페린, 인간 트랜스페린 수용체 또는 적어도 그의 트랜스페린-결합 부분, 인간 혈청 알부민, 인간 면역글로불린 또는 인간 Fc 영역이다. 융합 파트너는 직접적으로, 또는 스트레처로도 불리는 아미노산의 스트레치에 의해서 연결된다. 융합 접합 (fusion junction)은 융합 단백질 내의 제1 단백질 또는 펩타이드의 마지막 C-말단 아미노산과 제2 단백질 또는 펩타이드의 첫 번째 N-말단 아미노산 사이의 위치로서 정의된다. 따라서, 융합 접합 또는 스트레처는 N-말단 융합 파트너의 마지막 아미노산과 C-말단 융합 파트너의 첫 번째 아미노산 사이의 어떤 아미노산이라도 포함한다.

[0180] **스트레처 유니트:**

[0181] 이러한 스트레처는 본 기술분야에서 공지되어 있으며, 길이가 1 내지 약 100 개의 아미노산이거나, 길이가 1 내지 약 50 개의 아미노산이거나, 길이가 1 내지 약 25 개의 아미노산이거나, 길이가 1 내지 약 15 개의 아미노산이거나, 길이가 1 내지 약 10 개의 아미노산이거나, 길이가 4 내지 약 25 개의 아미노산이거나, 길이가 4 내지 약 20 개의 아미노산이거나, 길이가 4 내지 약 15 개의 아미노산이거나, 길이가 4 내지 약 10 개의 아미노산이다.

[0182] 스트레처 서열의 아미노산 조성은 가변적이지만, 낮은 면역원성 스코어를 나타내는 스트레처가 바람직하다. 본 발명의 구체예에서, 융합 폴리펩타이드 A-L-B를 단백질성 반감기 연장 부분과 연결하는 스트레처 폴리펩타이드는 어떤 아미노산으로나 구성될 수 있다. 예를 들어 나타낸 바와 같이, scR-Fc1에서 사용된 스트레처 폴리펩타이드는 하전되고, 부피가 큰 아미노산 (예를 들어, Glu, Arg 또는 Asp)인 반면에, scR-Fc2 내의 스트레처 폴리펩타이드는 비하전된 아미노산 (예를 들어, Gly 및 Ser)으로 구성된다.

[0183] 바람직한 구체예에서, 스트레처 폴리펩타이드는 적어도 하나의 Gly, Ser, Ile, Glu, Arg, Met, 및/또는 Asp 잔기를 포함한다. 더욱 바람직한 구체예에서, 스트레처 폴리펩타이드는 Gly 및 Ser 잔기를 포함한다. 추가의 바람직한 구체예에서, 스트레처 펩타이드는 미국 특허 제 7,271,149 호에 개시된 바와 같은 서열 [GGGGS]_n을 포함하는 펩타이드와 같은 글리신-풍부 링커이다. 다른 구체예에서는, 미국 특허 제 5,525,491 호에 기술된 바와 같은 세린-풍부 스트레처 폴리펩타이드가 사용된다. 추가의 바람직한 구체예는 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, 적어도 3 대 1의 Gly 대 Ser의 비를 갖는 스트레처 폴리펩타이드이다. 추가로 바람직한 것은 C- 및/또는 N-말단 종단에 프롤린 잔기를 갖는 스트레처 폴리펩타이드이다.

[0184] 바람직한 스트레처 펩타이드는 [GlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 148),

[0185] [GlyGlySerGlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 149), 및

[0186] [GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 150)이다.

[0187] 개선된 반감기를 갖는 이러한 융합 폴리펩타이드는 서열 (R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p를 포함하는 융합 폴리펩타이드로 나타낼 수 있다.

[0188] 본 발명의 추가의 구체예는 (R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서

[0189] A, L 및 B는 상술한 바와 같은 정의를 갖고,

[0190] R1 및 R2는 단백질성 반감기 연장 부분이며,

[0191] S1 및 S2는 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이고,

[0192] 여기에서 m, n, o, 및 p는 독립적으로 정수 0 또는 1이며, 단 m, n, o, 및 p 중의 적어도 하나는 1이다. 예를 들어, (S1)_{n=0}는 링커 S1이 융합 폴리펩타이드 내에 존재하지 않는 것을 의미한다.

[0193] 추가의 구체예에서, n은 m이 정수 1인 경우에 정수 1이다. 추가의 구체예에서, o는 p가 정수 1인 경우에 정수 1이다.

[0194] 바람직한 구체예에서, n 및 m은 0이고, o 및 p는 1이다. 추가의 바람직한 구체예에서, n 및 m은 1이고, o 및 p는 0이다.

[0195] 본 발명의 추가의 구체예는 (R1)_{m=1}-(S1)_{n=0}-A-L-B-(S2)_{o=0}-(R2)_{p=0}을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.

[0196] 본 발명의 추가의 구체예는 (R1)_{m=0}-(S1)_{n=0}-A-L-B-(S2)_{o=0}-(R2)_{p=1}을 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.

[0197] 바람직한 구체예에서, 단백질성 반감기 연장 부분은 혈청 알부민, 트랜스페린, Fc 영역, IgG1 Fc 영역, 및 혈청

알부민 결합 단백질로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

- [0198] 추가의 구체예에서, 적어도 하나의 반감기 연장 부분을 더 포함하는 전술한 융합 폴리펩타이드는 상응하는 야생형 틸렉신과 비교하여 연장된 반감기를 가지며, 여기에서 반감기 연장은 적어도 5, 10, 20, 50, 100 또는 500배이다. 바람직하게는, 반감기는 예를 들어, 상업적으로 이용할 수 있는 정량 ELISA 시험 (예를 들어, R&D Systems, Human Relaxin-2 Quantikine ELISA kit, catalogue number DRL200)을 사용함으로써 혈청 또는 전혈 내의 융합 단백질의 검출을 의미하는 혈청 반감기로서 측정된다. 반감기는 바람직하게는 인간 혈액 반감기이다. 바람직하게는, 반감기는 혈청 또는 혈액 샘플 내의 융합 폴리펩타이드의 활성을 측정하는 것을 의미하는 기능적 생체내 반감기로 측정된다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드 A-L-B의 활성을 측정하는 시험은 본 기술분야에서 공지되어 있으며, 본 명세서에 기술된다.
- [0199] 본 발명의 바람직한 구체예는 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ 를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0200] A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0201] B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0202] L은 길이가 9 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이고,
- [0203] R1 및 R2는 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0204] S1 및 S2는 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이고,
- [0205] 여기에서 m, n, o, 및 p는 독립적으로 정수 0 또는 1을 가지며, 단 m, n, o, 및 p 중의 적어도 하나는 1이고, 바람직하게는 적어도 m 또는 p는 1이며, 더욱 바람직하게는 m 및 n은 0이고, o 및 p는 1이며, 가장 바람직하게는 m 및 n은 1이고, o 및 p는 0이다.
- [0206] 본 발명의 바람직한 구체예는 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ 를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0207] A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0208] B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0209] L은 길이가 9 개의 아미노산인 링커 폴리펩타이드이고,
- [0210] R1 및 R2는 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0211] S1 및 S2는 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이고,
- [0212] 여기에서 m, n, o, 및 p는 독립적으로 정수 0 또는 1을 가지며, 단 m, n, o, 및 p 중의 적어도 하나는 1이고, 바람직하게는 적어도 m 또는 p는 1이며, 더욱 바람직하게는 m 및 n은 0이고, o 및 p는 1이며, 가장 바람직하게는 m 및 n은 1이고, o 및 p는 0이다.
- [0213] 본 발명의 바람직한 구체예는 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ 를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0214] A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0215] B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0216] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0217] R1 및 R2는 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0218] S1 및 S2는 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이고,
- [0219] 여기에서 m, n, o, 및 p는 독립적으로 정수 0 또는 1을 가지며, 단 m, n, o, 및 p 중의 적어도 하나는 1이고, 바람직하게는 적어도 m 또는 p는 1이며, 더욱 바람직하게는 m 및 n은 0이고, o 및 p는 1이며, 가장 바람직하게는 m 및 n은 1이고, o 및 p는 0이다.
- [0220] 본 발명의 바람직한 구체예는 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ 를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0221] A는 인간 틸렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0222] B는 인간 틸렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,

- [0223] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0224] R1 및 R2는 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0225] S1 및 S2는 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이고,
- [0226] 여기에서 m, n, o, 및 p는 독립적으로 정수 0 또는 1을 가지며, 단 m, n, o, 및 p 중의 적어도 하나는 1이고, 바람직하게는 적어도 m 또는 p는 1이며, 더욱 바람직하게는 m 및 n은 0이고, o 및 p는 1이며, 가장 바람직하게는 m 및 n은 1이고, o 및 p는 0이다.
- [0227] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0228] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0229] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0230] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0231] R1은 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0232] S1은 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이다.
- [0233] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0234] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0235] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0236] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0237] R1은 반감기 연장 부분, 바람직하게는 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0238] S1은 상기 정의된 바와 같은 스트레처 펩타이드이다.
- [0239] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0240] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0241] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0242] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0243] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0244] S1은 바람직하게는 GlyGlySerPro (SEQ ID NO: 148), GlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 149), 및 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 길이가 4-10 개의 아미노산인 스트레처 펩타이드이다.
- [0245] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0246] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0247] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0248] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0249] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0250] S1은 바람직하게는 GlyGlySerPro (SEQ ID NO: 148), GlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 149), 및 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 그룹으로부터 선택되고, 길이가 4-10 개의 아미노산인 스트레처 펩타이드이다.
- [0251] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0252] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0253] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,

- [0254] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0255] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0256] S1은 길이가 10 개의 아미노산인 스트레처 펩타이드이다.
- [0257] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0258] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0259] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0260] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0261] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0262] S1은 길이가 10 개의 아미노산인 스트레처 펩타이드이다.
- [0263] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0264] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0265] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0266] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0267] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0268] S1은 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 스트레처 펩타이드이다.
- [0269] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0270] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0271] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0272] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0273] R1은 단백질성 반감기 연장 부분이며,
- [0274] S1은 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 스트레처 펩타이드이다.
- [0275] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0276] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117) 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0277] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119) 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0278] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0279] R1은 항체의 Fc 영역, 바람직하게는 인간 IgG1 또는 IgG2 Fc 영역이며,
- [0280] S1은 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 스트레처 펩타이드이다.
- [0281] 본 발명의 바람직한 구체예는 (R1)-(S1)-A-L-B를 포함하는 융합 폴리펩타이드이며, 여기에서
- [0282] A는 인간 릴렉신 2 A쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 117)이고,
- [0283] B는 인간 릴렉신 2 B쇄 폴리펩타이드 (SEQ ID NO: 119)이며,
- [0284] L은 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)를 갖는 링커 폴리펩타이드이고,
- [0285] R1은 항체의 Fc 영역, 바람직하게는 인간 IgG1 또는 IgG2 Fc 영역이며,
- [0286] S1은 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)로 구성된 스트레처 펩타이드이다.
- [0287] 본 발명의 추가의 바람직한 구체예는 표 3에 제시된 바와 같은 폴리펩타이드를 포함하는 융합 폴리펩타이드이다.
- [0288] 본 발명의 추가의 바람직한 구체예는 표 3에 제시된 바와 같은 융합 폴리펩타이드이다.

[0289] [표 3]

구조물	SEQ ID NO
scr3	SEQ ID NO:3
scr4	SEQ ID NO:4
scr5	SEQ ID NO:5
scr7	SEQ ID NO:7
scr8	SEQ ID NO:8
scr9	SEQ ID NO:9
scr10	SEQ ID NO:10
scr11	SEQ ID NO:11
scr12	SEQ ID NO:12
scr13	SEQ ID NO:13
scr14	SEQ ID NO:14
scr15	SEQ ID NO:15
scr-Fc 1	SEQ ID NO:16
scr-Fc 2	SEQ ID NO:17
scr-Fc 3	SEQ ID NO:18
scr-Fc 4	SEQ ID NO:19
scr-Fc 5	SEQ ID NO:20
scr-Fc 6	SEQ ID NO:21
scr-Fc 7	SEQ ID NO:22
scr-Fc 8	SEQ ID NO:23
scr-Fc 9	SEQ ID NO:24
scr-Fc 10	SEQ ID NO:25
scr-Fc 11	SEQ ID NO:26
scr-Fc 12	SEQ ID NO:27
scr-Fc 13	SEQ ID NO:28
scr-Fc 14	SEQ ID NO:29
scr-Fc 15	SEQ ID NO:30
scr-Fc 16	SEQ ID NO:31
scr-Fc 17	SEQ ID NO:32
scr-Fc 18	SEQ ID NO:33
scr-Var1	SEQ ID NO:34
scr-Var2	SEQ ID NO:35
scr-Var3	SEQ ID NO:36
scr-Var4	SEQ ID NO:37
scr-Var5	SEQ ID NO:38
scr-Var6	SEQ ID NO:39
scr-Var7	SEQ ID NO:40
scr-Var8	SEQ ID NO:41
scr3 w/o Tag	SEQ ID NO:44
scr4 w/o Tag	SEQ ID NO:45
scr5 w/o Tag	SEQ ID NO:46
scr6 w/o Tag	SEQ ID NO:47
scr7 w/o Tag	SEQ ID NO:48
scr8 w/o Tag	SEQ ID NO:49
scr9 w/o Tag	SEQ ID NO:50
scr10 w/o Tag	SEQ ID NO:51
scr-Fc 1 w/o Tag	SEQ ID NO:52
scr-Fc 8 w/o Tag	SEQ ID NO:53
scr-Fc 9 w/o Tag	SEQ ID NO:54
scr-Fc 10 w/o Tag	SEQ ID NO:55
scr-Fc 11 w/o Tag	SEQ ID NO:56
scr-Fc 12 w/o Tag	SEQ ID NO:57
scr-Fc 13 w/o Tag	SEQ ID NO:58
scr17	SEQ ID NO:153
scr19	SEQ ID NO:155

[0290]

[0291]

추가된 구체예에서, 반감기 연장 부분을 더 포함하는 전술한 융합 폴리펩타이드 A-L-B는 킬렉신 활성을 갖는다. 추가된 바람직한 구체예에서, 킬렉신 활성은 킬렉신 수용체 LGR7의 활성화이다. 킬렉신 활성을 측정하는 방법은 본 기술분야에서 공지되어 있거나, 본 명세서에 제공된다. 더 더욱 바람직한 구체예에서, 킬렉신 수용체 LGR7의 활성화는 본 명세서의 실험 방법에 개시된 방법에 의해서 측정된다. 추가된 더욱 바람직한 구체예에서, 킬렉신 수용체 LGR7의 활성화의 측정은 EC₅₀ 값을 측정하는 것이다. 더 더욱 바람직한 구체예에서, 전술한 킬렉신 활성은 상응하는 야생형 킬렉신 활성과 비교하여 10⁵ 배, 10⁴ 배, 10³ 배, 100 배, 75 배, 50 배, 25 배 또는 10 배 미만으로 더 낮다. 예를 들어, 인간 킬렉신 2를 기본으로 하는 융합 폴리펩타이드 A-L-B에 대한 상응하는 야생형 킬렉신은 인간 킬렉신 2 단백질이다.

[0292]

클로닝, 벡터 시스템, 발현, 숙주 및 정제

[0293]

본 발명은 또한, 본 발명의 융합 폴리펩타이드를 코딩화한 분리된 핵산 분자를 포함하는 벡터를 제공한다. 이 벡터 시스템은 숙주 세포 내에서의 그의 발현을 지시할 수 있는 발현 서열에 작동적으로 연결된다.

[0294] 적합한 숙주 세포는 박테리아 세포 (예를 들어, 이. 콜라이), 효모 세포 (예를 들어, 사카로마이세스 세레비시아에 (*Saccharomyces cerevisiae*)), 진균 세포, 식물 세포, 곤충 세포 및 동물 세포로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다. 동물 세포에는 HEK293 세포, CHO 세포, COS 세포, BHK 세포, HeLa 세포 및 다양한 일차 포유동물 세포가 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다. HEK293T 세포와 같은 포유동물 세포의 유도체도 적용할 수 있다.

[0295] **본 발명의 DNA 분자**

[0296] 본 발명은 또한, 본 발명의 융합 단백질을 코드화하는 DNA 분자에 관한 것이다. 이들 서열은 표 4에 제시된 DNA 분자를 포함하나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0297] [표 4]

구조물	SEQ ID NO
scr1	SEQ ID NO:59
scr2	SEQ ID NO:60
scr3	SEQ ID NO:61
scr4	SEQ ID NO:62
scr5	SEQ ID NO:63
scr6	SEQ ID NO:64
scr7	SEQ ID NO:65
scr8	SEQ ID NO:66
scr9	SEQ ID NO:67
scr10	SEQ ID NO:68
scr11	SEQ ID NO:69
scr12	SEQ ID NO:70
scr13	SEQ ID NO:71
scr14	SEQ ID NO:72
scr15	SEQ ID NO:73
scr-Fc 1	SEQ ID NO:74
scr-Fc 2	SEQ ID NO:75
scr-Fc 3	SEQ ID NO:76
scr-Fc 4	SEQ ID NO:77
scr-Fc 5	SEQ ID NO:78
scr-Fc 6	SEQ ID NO:79
scr-Fc 7	SEQ ID NO:80
scr-Fc 8	SEQ ID NO:81
scr-Fc 9	SEQ ID NO:82
scr-Fc 10	SEQ ID NO:83
scr-Fc 11	SEQ ID NO:84
scr-Fc 12	SEQ ID NO:85
scr-Fc 13	SEQ ID NO:86
scr-Fc 14	SEQ ID NO:87
scr-Fc 15	SEQ ID NO:88
scr-Fc 16	SEQ ID NO:89
scr-Fc 17	SEQ ID NO:90
scr-Fc 18	SEQ ID NO:91
scr-Var1	SEQ ID NO:92
scr-Var2	SEQ ID NO:93
scr-Var3	SEQ ID NO:94
scr-Var4	SEQ ID NO:95
scr-Var5	SEQ ID NO:96
scr-Var6	SEQ ID NO:97
scr-Var7	SEQ ID NO:98
scr-Var8	SEQ ID NO:99

[0298]

scr3 w/o Tag	SEQ ID NO:102
scr4 w/o Tag	SEQ ID NO:103
scr5 w/o Tag	SEQ ID NO:104
scr6 w/o Tag	SEQ ID NO:105
scr7 w/o Tag	SEQ ID NO:106
scr8 w/o Tag	SEQ ID NO:107
scr9 w/o Tag	SEQ ID NO:108
scr10 w/o Tag	SEQ ID NO:109
scr-Fc 1 w/o Tag	SEQ ID NO:110
scr-Fc 8 w/o Tag	SEQ ID NO:111
scr-Fc 9 w/o Tag	SEQ ID NO:112
scr-Fc 10 w/o Tag	SEQ ID NO:113
scr-Fc 11 w/o Tag	SEQ ID NO:114
scr-Fc 12 w/o Tag	SEQ ID NO:115
scr-Fc 13 w/o Tag	SEQ ID NO:116
scr17	SEQ ID NO:158
scr19	SEQ ID NO:160

[0299]

- [0300] 본 발명의 DNA 분자는 본 명세서에 개시된 서열로 제한되지 않을 뿐만 아니라 그의 변이체도 포함한다. 본 발명 내의 DNA 변이체는 하이브리드화에서의 그들의 물리적 특성에 의거하여 기술될 수 있다. 숙련된 작업자는 DNA가 핵산 하이브리드화 기술을 사용하여 그의 보체, 및 DNA가 이중 스트랜드화되기 때문에 그의 등가물 또는 상동체를 확인하기 위해서 사용될 수 있음을 인지할 것이다. 또한, 하이브리드화는 100% 상보성 미만으로 일어날 수 있음도 인지할 것이다. 그러나, 조건, 하이브리드화 기술의 소정의 적절한 선택을 사용하여 특정한 프로브에 대한 그들의 구조적 관련성을 기초로 하여 DNA 서열들 구분할 수 있다. 이러한 조건에 관한 지침을 위해서는 문헌 (Sambrook et al., 1989 supra, 및 Ausubel et al., 1995 (Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Sedman, J. G., Smith, J. A., & Struhl, K. eds. (1995). Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons))을 참고로 한다.
- [0301] 두 개의 폴리뉴클레오타이드 서열들 간의 구조적 유사성은 두 개의 서열이 서로 하이브리드할 조건의 "엄격성 (stringency)"의 함수로 표현될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 것으로서, 용어 "엄격성"은 조건이 하이브리드화를 거스르는 정도를 나타낸다. 엄격한 조건은 하이브리드화를 강력하게 싫어하며, 단지 가장 구조적으로 관련된 분자만이 이러한 조건 하에서 서로 하이브리드화할 것이다. 반대로, 비-엄격 조건이 더 적은 정도의 구조적 관련성을 나타내는 분자의 하이브리드화에 유리하다. 따라서, 하이브리드화 엄격성은 두 개의 핵산 서열의 구조적 관련성과 직접적으로 관련이 있다. 다음의 관계가 하이브리드화 및 관련성을 서로 관련시키는데 유용하다 (여기에서 T_m 은 핵산 듀플렉스 (duplex)의 용융 온도이다):
- [0302] a. $T_m = 69.3 + 0.41(G+C)\%$
- [0303] b. 듀플렉스 DNA의 T_m 은 mismatches의 수가 1%씩 증가함에 따라 1°C만큼 감소한다.
- [0304] c. $(T_m)_{\mu 2} - (T_m)_{\mu 1} = 18.5 \log_{10} \mu 2 / \mu 1$
- [0305] 여기에서, $\mu 1$ 및 $\mu 2$ 는 두 개의 용액의 이온 강도이다.
- [0306] 하이브리드화 엄격성은 전반적인 DNA 농도, 이온 강도, 온도, 프로브 크기 및 수소 결합을 붕괴시키는 작용제의 존재를 포함한 다수의 인자의 함수이다. 하이브리드화를 촉진시키는 인자에는 높은 DNA 농도, 높은 이온 강도, 낮은 온도, 더 긴 프로브 크기, 및 수소 결합을 붕괴시키는 작용제의 부재가 포함된다. 하이브리드화는 전형적으로 두 개의 상, 즉 "결합"상 및 "세척"상으로 수행된다.
- [0307] 우선, 결합상에서는 프로브를 하이브리드화에 바람직한 조건 하에서 표적에 결합시킨다. 엄격성은 통상적으로 온도를 변화시킴으로써 이 단계에서 조절된다. 높은 엄격성을 위해서, 짧은 (< 20 nt) 올리고뉴클레오타이드 프로브가 사용되지 않는 한, 온도는 통상적으로 65°C 내지 70°C이다. 대표적인 하이브리드화 용액은 6X SSC, 0.5% SDS, 5X 덴하르트 용액 (Denhardt's solution) 및 100 μ g의 비-특이적 담체 DNA를 포함한다 (참조: Ausubel et al., section 2.9, supplement 27 (1994)). 물론, 다수의 상이하지만 기능적으로는 동등한 완충 조건이 공지되어 있다. 관련성의 정도가 낮은 경우에는, 더 낮은 온도가 선택될 수 있다. 낮은 엄격성 결합 온도는 약 25°C 내지 40°C이다. 중간 엄격성은 적어도 약 40°C 내지 약 65°C 미만이다. 높은 엄격성은 적어도 약 65°C이다.
- [0308] 둘째로, 여분의 프로브를 세척에 의해서 제거한다. 이 상에서는 통상적으로 더욱 엄격한 조건이 적용된다. 따라서, 하이브리드화를 통한 관련성을 결정하는데 가장 중요한 것이 이 "세척"상이다. 세척 용액은 전형적으로 더 낮은 염 농도를 함유한다. 한가지 예시적인 중간 엄격성의 용액은 2X SSC 및 0.1% SDS를 함유한다. 높은 엄격성의 세척 용액은 약 0.2X SSC 미만의 등가물 (이온 강도에 있어서)을 함유하며, 여기에서 바람직한 엄격성의 용액은 약 0.1X SSC를 함유한다. 다양한 엄격성과 연관된 온도는 "결합"에 대해서 상기 거론된 것과 동일하다. 세척 용액은 또한 전형적으로 세척 중에 수회 대체된다. 예를 들어, 전형적인 높은 엄격성의 세척 조건은 55°C에서 30 분 동안 2 회, 및 60°C에서 15 분 동안 3 회의 세척을 포함한다.
- [0309] 본 발명의 구체에는 본 발명의 융합 폴리펩타이드를 코드화한 분리된 핵산 서열이다.
- [0310] **제조합 DNA 구조물 및 발현**
- [0311] 본 발명은 추가로, 본 발명의 하나 또는 그 이상의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 제조합 DNA 구조물을 제공한다. 본 발명의 제조합 구조물은 본 발명의 융합 폴리펩타이드를 코드화한 DNA 분자가 삽입된 플라스미드, 파지미드, 파지 또는 바이러스 벡터와 같은 벡터와 연관되어 사용된다.
- [0312] 본 발명에서 제공된 것으로서 융합 폴리펩타이드는 숙주 세포 내에서 융합 폴리펩타이드를 코드화한 핵산 서열

의 재조합체 발현에 의해서 제조될 수 있다. 융합 폴리펩타이드를 재조합적으로 발현시키기 위해서, 숙주 세포는 융합 폴리펩타이드가 숙주 세포에서 발현되도록 융합 폴리펩타이드를 코드화한 DNA 단편을 운반하는 재조합 발현 벡터에 의해서 형질감염될 수 있다. 표준 재조합 DNA 방법을 사용하여 융합 폴리펩타이드를 코드화한 핵산을 제조 및/또는 수득하고, 이들 핵산을 재조합 발현 벡터 내에 통합시키고, 벡터를 문헌 (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds.), Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F. M. et al. (eds.) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989), 및 미국 특허 제4,816,397호 (Boss et al.))에 기술된 것과 같은 숙주 세포 내에 도입시킨다.

[0313] 융합 폴리펩타이드를 발현시키기 위해서, 표준 재조합 DNA 발현 방법이 사용될 수 있다 (참조: 예를 들어, Goeddel; Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)). 예를 들어, 바람직한 폴리펩타이드를 코드화한 DNA를 발현 벡터 내에 삽입한 다음에, 이 발현 벡터를 적합한 숙주 세포 내로 형질감염시킬 수 있다. 적합한 숙주 세포는 원핵 및 진핵 세포이다. 원핵 숙주 세포에 대한 예는 예를 들어, 박테리아이며, 진핵 숙주 세포에 대한 예는 효모, 곤충 또는 포유동물 세포이다. 조절 서열의 선택을 포함하는 발현 벡터의 디자인은 숙주 세포의 선택, 원하는 단백질의 발현의 레벨, 및 발현이 구성적인지 또는 유도성인지 여부와 같은 인자들에 의해서 영향을 받는 것으로 이해된다.

[0314] 박테리아 발현

[0315] 박테리아 사용에 유용한 발현 벡터는 원하는 단백질을 코드화한 구조적 DNA 서열을 적합한 해독 개시 및 종결 시그널과 함께 기능적 프로모터를 갖는 작동가능한 판독상 (operable reading phase)에 삽입함으로써 구성된다. 벡터는 하나 또는 그 이상의 표현형 선택가능한 마커 및 벡터의 유지를 보장하고, 바람직한 경우에, 숙주 내에서의 증폭을 제공하기 위한 복제의 기원을 포함할 것이다. 형질전환에 적합한 원핵 숙주에는 이. 콜라이, 바실루스 서브틸리스, 살모넬라 티피뮤리움, 및 슈도모나스, 스트렙토마이세스 및 스태필로코커스 속의 다양한 종이 포함된다.

[0316] 박테리아 벡터는 예를 들어, 박테리오파지-, 플라스미드- 또는 파지미드-기본일 수 있다. 이들 벡터는 선택 가능한 마커, 및 전형적으로, 잘 알려진 공지의 클로닝 벡터 pBR322 (ATCC 37017)의 요소를 함유하는 상업적으로 이용가능한 플라스미드로부터 유도된 복제의 박테리아 기원을 함유할 수 있다. 적합한 숙주 스트레인의 형질전환 및 숙주 스트레인의 적절한 세포 밀도로의 성장 후에, 선택된 프로모터를 적절한 수단 (예를 들어, 온도 이동 또는 화학적 유도)에 의해서 탈-억제/유도하고, 세포를 추가의 기간 동안 배양한다. 세포는 전형적으로 원심분리에 의해서 수확하고, 물리적 또는 화학적 수단에 의해서 붕괴시키고, 생성된 조추출물은 더 정제하기 위해서 보유하였다.

[0317] 박테리아 시스템에서, 다수의 발현 벡터는 유리하게는 발현될 단백질에 대해서 의도하는 용도에 따라 선택될 수 있다. 예를 들어, 대량의 이러한 단백질을 생산하고자 하는 경우에는, 쉽게 정제되는 융합 폴리펩타이드 생성물의 높은 레벨의 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 정제된 생성물, 화학적 합성 절차의 생성물, 및 예를 들어, 이. 콜라이, 바실루스 서브틸리스, 살모넬라 티피뮤리움, 및 슈도모나스, 스트렙토마이세스 및 스태필로코커스 속의 다양한 종을 포함한 원핵 숙주로부터, 바람직하게는 이. 콜라이 세포로부터 재조합 기술에 의해서 생산된 생성물을 포함한다.

[0318] 진핵 발현

[0319] 진핵 세포를 사용하여 본 발명의 폴리펩타이드를 발현할 수 있다. 단백질의 발현을 위한 시스템은 본 기술분야에서 공지되어 있다. 이러한 시스템은 예를 들어, 진핵 세포, 성장 배지, 및 상응하는 발현 벡터를 포함한다. 발현을 위한 통상적인 진핵 세포는 예를 들어, 포유동물 세포, 효모 세포, 식물 세포, 또는 곤충 세포이다.

[0320] 포유동물 발현 및 정제

[0321] 포유동물 숙주 세포 발현에 바람직한 조절 서열에는 사이토메갈로바이러스 (CMV) (예를 들어, CMV 프로모터/인핸서), 시미안 바이러스 40 (SV40) (예를 들어, SV40 프로모터/인핸서), 아데노바이러스 (예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터 (major late promoter) (AdMLP)) 및 폴리오마로부터 유도된 프로모터/인핸서와 같은 포유동물 세포에서 높은 레벨의 단백질 발현을 지시하는 바이러스 요소가 포함된다. 바이러스 조절 요소 및 그의 서열에 대한 추가의 설명에 대해서는 예를 들어, U.S. 5,168,062 (Stinski), U.S. 4,510,245 (Bell et al.) 및 U.S. 4,968,615 (Schaffner et al.)를 참고로 한다. 재조합 발현 벡터는 또한 복제 기원 및 선택 가능한 마커를 포함할 수 있다 (참조: 예를 들어, U.S. 4,399,216, 4,634,665 및 U.S. 5,179,017 (Axel et al.)). 적

합한 선택 가능한 마커는 벡터가 도입되는 숙주 세포 상에 G418, 하이그로마이신 또는 메토포렉세이트와 같은 약물에 대한 저항성을 부여하는 유전자를 포함한다. 예를 들어, 디하이드로폴레이트 환원효소 (DHFR) 유전자는 메토포렉세이트에 대한 저항성을 부여하며, neo 유전자는 G418에 대한 저항성을 부여한다.

[0322] 발현 벡터의 숙주 세포 내로의 형질감염은 전기천공, 칼슘-포스페이트 침전, 및 DEAE-텍스트란, 리포펙션 (lipofection) 또는 다중양이온 (polycation)-매개된 형질감염과 같은 표준 기술을 사용하여 수행될 수 있다.

[0323] 본 발명에서 제공된 융합 폴리펩타이드를 발현시키는데 적합한 포유동물 숙주 세포에는 차이니즈 햄스터 난소 (Chinese Hamster Ovary) 세포 (CHO 세포) (예를 들어, 문헌 (R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621)에 기술된 바와 같이 DHFR 선택 가능한 마커와 함께 사용되는 문헌 (Urlaub and Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220)에 기술된 dhfr- CHO 세포를 포함), NSO 골수종 세포, COS 세포 및 SP2 세포가 포함된다. 일부의 구체예에서, 발현 벡터는 발현된 단백질이 숙주 세포가 성장한 배양 배지 내로 분비되도록 디자인된다. 항체의 일시적인 형질감염/발현은 예를 들어, 문헌 (Durocher et al (2002) Nucl. Acids Res. Vol 30 e9)의 프로토콜에 따라 달성될 수 있다. 항체의 안정적인 형질감염/발현은 예를 들어, UCOE 시스템의 프로토콜에 따라 달성될 수 있다 (T. Benton et al. (2002) Cytotechnology 38: 43-46).

[0324] 융합 폴리펩타이드는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지로부터 회수될 수 있다.

[0325] 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 암모늄 설페이트 또는 에탄올 침전, 산 추출, 단백질 A 크로마토그래피, 단백질 G 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포-셀룰로즈 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 하이드록실아파타이트 크로마토그래피 및 렉틴 크로마토그래피를 포함하는 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 잘 알려진 방법에 의해서 재조합 세포 배양물로부터 회수 및 정제될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피 ("HPLC")가 또한 정제에 사용될 수도 있다 (참조: 예를 들어, Colligan, Current Protocols in Immunology, or Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001), 예를 들어, Chapters 1, 4, 6, 8, 9, 10; 각각 온전히 본 명세서에 참고로 포함된다).

[0326] 본 발명의 융합 폴리펩타이드에는 정제되거나 분리된 생성물, 화학적 합성 절차의 생성물, 및 예를 들어, 효모 (예를 들어, 피치아 (Pichia)), 더 고등 식물, 곤충 및 포유동물 세포를 포함하는 진행 숙주로부터, 바람직하게는 포유동물 세포로부터 재조합 기술에 의해서 생산된 생성물이 포함된다. 재조합체 생산 절차에서 사용된 숙주에 따라서, 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 글리코실화될 수 있거나, 비-글리코실화될 수 있으며, 글리코실화되는 것이 바람직하다. 이러한 방법은 문헌 (Sambrook, supra, Sections 17.37-17.42; Ausubel, supra, Chapters 10, 12, 13, 16, 18 and 20)과 같은 다수의 표준 실험 매뉴얼에 기술되어 있다.

[0327] 치료학적 용도

[0328] 본 발명의 구체예는 심혈관 질환, 신장 질환, 체장염, 염증, 암, 공피증, 폐, 신장 및 간 섬유증의 치료에 있어서의 본 발명의 약제학적 조성물 또는 융합 폴리펩타이드의 용도이다.

[0329] 심혈관 질환

[0330] 심혈관 시스템의 장애, 또는 심혈관 장애는 본 발명과 관련하여 예를 들어, 다음의 장애를 의미한다: 고혈압 (높은 혈압), 말초 및 심장 혈관 장애, 관상동맥 심장 질환, 안정 및 불안정 협심증, 심근 부전, 지속적인 허혈성 기능부전 ("동면 심근 (hibernating myocardium)"), 일시적인 허혈 후 기능부전 ("기절 심근 (stunned myocardium)"), 심부전, 말초 혈류의 장애, 급성 관상동맥 증후군, 심부전 및 심근 경색.

[0331] 본 발명과 관련하여, 용어 심부전은 심부전의 급성 및 만성 증상뿐만 아니라 급성 비대상성 심부전, 우심부전, 좌심부전, 전체적인 심부전, 허혈성 심근병증, 확장형 심근병증, 선천적 심장 결함, 심장 판막 결함, 심장 판막 결함과 연관된 심부전, 승모판 협착증, 승모판 부전증, 대동맥 협착증, 대동맥 부전증, 삼첨판 협착증, 삼첨판 부전증, 폐동맥 협착증, 폐동맥관 부전증, 혼합형 심장 판막 결함, 심근 염증 (심근염), 만성 심근염, 급성 심근염, 바이러스성 심근염, 당뇨병성 심부전, 알콜성 심근병증, 심장 저장 장애, 및 확장기 및 수축기 심부전 및 심부전 악화의 급성기와 같은 더 특이적이거나 관련된 형태의 질환을 포함한다.

[0332] 본 발명에 따르는 화합물은 추가로, 경색에 의해서 영향을 받은 심근의 영역을 감소시키는데, 및 이차 경색의 예방에도 적합하다.

[0333] 본 발명에 따르는 화합물은 더욱이 혈전색전성 장애, 허혈 후의 재관류 손상, 미소- 및 거대혈관 병변 (맥관염), 동맥 및 정맥 혈전증, 부종, 심근 경색과 같은 허혈증, 졸중 및 일시적인 허혈성 발작의 예방 및/또는 치료에, 관상 동맥 우회술 (CABG), 일차적인 경피적 관동맥 혈관재건법 (primary percutaneous transluminal

coronary angioplasties; PTCAs), 혈전용해 후의 PTCAs, 구조 PTCA, 심장 이식 및 개심술과 관련한 심장 보호에, 및 이식, 우회술, 카테터 검사 및 그 밖의 다른 수술 절차와 관련한 기관 보호에 적합하다.

[0334] 적응증의 그 밖의 다른 영역은 예를 들어, 만성 폐쇄성 폐질환 (만성 기관지염, COPD), 천식, 폐기종, 기관지확장증, 낭포성 섬유증 (점액성 점착증) 및 폐고혈압과 같은 호흡기 장애, 특히 폐동맥 고혈압의 예방 및/또는 치료이다.

[0335] 신장 질환

[0336] 본 발명은 신장 질환, 특히 급성 및 만성 신장 질환 및 급성 및 만성 신장 기능부전뿐만 아니라 투석의 필요성이 있거나 없는 신부전의 급성 및 만성기를 포함한 급성 및 만성 신부전에 더하여 신장 저관류, 투석 유도된 저혈압, 사구체병증, 사구체 및 세뇨관성 단백뇨, 신성 부종, 혈뇨, 원발성, 이차성뿐만 아니라 급성 및 만성 사구체신염, 막성 및 막증식성 사구체신염, 알포트-증후군 (Alport-Syndrome), 사구체 경화증, 간질성 세뇨관 질환, 원발성 및 선천적 신장 질환과 같은 신장병성 질환, 신장 염증, 신장 이식 거부반응과 같은 면역학적 신장 질환, 면역 콤플렉스 유도된 신장 질환뿐만 아니라 중독 유도된 신장병성 질환, 당뇨병성 및 비-당뇨병성 신장 질환, 신우신염, 낭포성 신장, 신장경화증, 고혈압성 신장경화증, 크레아티닌 청소율 및/또는 수분 배설의 비정상적인 감소로 특징화되고 진단적으로 연관된 신장 증후군, 요소, 질소, 칼륨 및/또는 크레아티닌의 비정상적으로 증가된 혈중 농도, 글루타미닐신타제와 같은 신장 효소의 활성, 소변 삼투성 및 소변 용적의 변화, 증가된 미세알부민뇨증, 거대알부민뇨증, 사구체 및 세동맥 병변, 세뇨관 확장, 고포스페이트혈증과 같은 근본적이거나 관련된 신장 질환 및/또는 투석의 필요성의 예방 및/또는 치료를 위한 약제로서의 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 용도에 관한 것이다.

[0337] 또한, 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 신장의 불완전한 절제 후의 신장압증, 이뇨제 남용 후의 탈수, 악성 고혈압에 의한 조절되지 않는 혈압 상승, 요로 폐쇄 및 감염, 아밀로이드증뿐만 아니라 홍반성 낭창과 같은 사구체 손상과 연관된 전신 질환, 및 류마티스성 면역학적 전신 질환뿐만 아니라 신장 동맥 협착증, 신장 동맥 혈전증, 신장 정맥 혈전증, 진통제 유도된 신장병증 및 신세뇨관 산증의 예방 및/또는 치료를 위한 약제로 사용될 수 있다.

[0338] 또한, 본 발명의 융합 폴리펩타이드는 조영제 유도 및 약물 유도된 급성 및 만성 간질성 신장 질환, 대사 증후군 및 이상지질혈증의 예방 및/또는 치료를 위한 약제로 사용될 수 있다.

[0339] 또한, 본 발명은 폐부종, 심부전, 요독증, 빈혈, 전해질 교란 (예를 들어, 고칼륨혈증, 저나트륨혈증)뿐만 아니라 뼈 및 탄수화물 대사와 같은 급성 및/또는 만성 신장 질환과 연관된 후유증의 예방 및/또는 치료를 위한 약제로서의 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 용도를 포함한다.

[0340] 폐 질환

[0341] 더욱이, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 또한 폐 질환, 특히 천식 장애, 폐동맥 고혈압 (PAH), 및 좌-심장 질환, HIV, 겸상 적혈구 빈혈, 혈전색전증 (CTEPH), 유육종증, COPD 또는 폐섬유증-연관된 폐 고혈압을 포함하는 폐 고혈압의 다른 형태, 만성-폐쇄성 폐 질환 (COPD), 급성 호흡기곤란 증후군 (ARDS), 급성 폐 손상 (ALI), 알파-1-안티트립신 결핍 (AATD), 폐섬유증, 폐기종 (예를 들어, 담배 연기에 의해서 유도된 폐기종) 및 낭포성 섬유증 (CF)의 치료 및/또는 예방에 적합하다.

[0342] 섬유성 장애

[0343] 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 또한 예를 들어, 폐, 심장, 신장, 골수 및 특히 간과 같은 내부 기관의 섬유성 장애, 및 또한 피부과적 섬유증 및 섬유성 눈 장애의 치료 및/또는 예방에 적합하다. 본 발명과 관련하여, 용어 섬유성 장애에는 특히 다음의 용어들이 포함된다: 간섬유증, 간의 경화증, 폐섬유증, 심내막심근 섬유증, 신장병증, 사구체신염, 간질성 신섬유증, 당뇨병에 기인한 섬유성 손상, 골수 섬유증 및 유사한 섬유성 장애, 공피증, 반상경피증, 켈로이드 (keloids), 비대성 반흔형성 (hypertrophic scarring) (또한 수술 절차 후), 모반, 당뇨병성 망막증, 증식성 유리체망막병증 및 결합조직의 장애 (예를 들어, 유육종증).

[0344] 암

[0345] 암은 세포의 그룹이 조절되지 않은 성장을 나타내는 질환이다. 암은 통상적으로 상피 세포로부터 유도된 암인 암종 (이 그룹은 유방, 전립선, 폐 및 결장의 암을 포함한 대부분의 가장 통상적인 암을 포함한다); 결합 조직 또는 간엽 세포로부터 유도된 육종; 조혈 세포로부터 유도된 림프종 및 백혈병; 다능성 세포로부터 유도된 생식

세포 종양; 및 미성숙 "전구체" 또는 배아 조직으로부터 유도된 암인 아세포종으로 분류된다.

- [0346] 본 발명은 또한, 장애, 특히 상기 언급된 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 약제를 제조하기 위한 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 용도를 제공한다.
- [0347] 본 발명은 추가로, 본 발명의 적어도 하나의 융합 폴리펩타이드의 유효량을 사용하여 장애, 특히 상기 언급된 장애를 치료 및/또는 예방하는 방법을 제공한다.
- [0348] 본 발명은 또한, 관상동맥성 심장 질환, 급성 관상동맥 증후군, 심부전 및 심근경색을 치료 및/또는 예방하는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 융합 폴리펩타이드를 제공한다.
- [0349] **약제학적 조성물 및 투여**
- [0350] 본 발명은 또한, 약물학적으로 허용되는 비히클 내에 단일쇄 펩타이드 융합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 단일쇄 펩타이드 융합 단백질은 전신적으로 또는 국소적으로 투여될 수 있다. 정맥내, 복강내, 동맥내, 비내, 흡입, 경구, 피하 투여, 국소 주사 또는 외과용 임플란트의 형태를 포함한 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 본 기술분야에서 공지된 어떤 적절한 투여의 모드라도 사용될 수 있다.
- [0351] 본 발명은 또한, 식염수, 완충된 식염수, 텍스트로즈 및 물을 포함한 (단, 이들로 제한되지는 않는다) 어떤 멸균된 생체적합성 약제학적 담체 중에서 투여될 수 있는, 본 발명의 융합 폴리펩타이드를 단독으로, 또는 안정화 화합물과 같은 적어도 하나의 다른 작용제와 함께 포함할 수 있는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 이들 분자 중의 어떤 것이라도 부형제(들) 또는 약제학적으로 허용되는 담체와 함께 혼합된 약제학적 조성물 내에서 환자에게 단독으로, 또는 다른 작용제, 약물 또는 호르몬과 함께 투여할 수 있다. 본 발명의 한가지 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 담체는 약제학적으로 불활성이다.
- [0352] 본 발명은 또한, 약제학적 조성물의 투여에 관한 것이다. 이러한 투여는 경구적으로 또는 비경구적으로 수행된다. 비경구적 송달의 방법에는 국소, 동맥내, 근육내, 피하, 골수내, 초내, 심실내, 정맥내, 복강내, 또는 비내 투여가 포함된다. 활성 성분 이외에도, 이들 약제학적 조성물은 활성 화합물의 약제학적으로 사용될 수 있는 제제로의 가공을 용이하게 하는 부형제 및 보조제를 포함하는 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 함유할 수 있다. 제제화 및 투여의 기술에 대한 추가의 상세한 내용은 문헌 (Remington's Pharmaceutical Sciences의 최종판 (Ed. Maack Publishing Co, Easton, Pa.))에서 찾을 수 있다.
- [0353] 경구 투여를 위한 약제학적 조성물은 본 기술분야에서 잘 알려진 약제학적으로 허용되는 담체를 사용하여 경구 투여에 적합한 투약형으로 제제화될 수 있다. 이러한 담체는 약제학적 조성물을 환자가 섭취하는 정제, 환제, 당의정, 캡슐제, 액제, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로 제제화되도록 할 수 있다.
- [0354] 비경구 투여를 위한 약제학적 조성물에는 활성 화합물의 수용액이 포함된다. 주사를 위해서, 본 발명의 약제학적 조성물은 수용액으로, 바람직하게는 헵크 용액 (Hank's solution), 링거 용액 (Ringer's solution) 또는 생리학적으로 완충된 식염수와 같은 생리학적으로 허용되는 완충액 중에서 제제화될 수 있다. 수성 주사용 현탁액은 나트륨 카복시메틸 셀룰로즈, 소르비톨, 또는 텍스트란과 같은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수 있다. 추가로, 활성 화합물의 현탁액은 적절한 경우에 오일성 주사용 현탁액으로 제제될 수 있다. 적합한 친유성 용매 또는 비히클에는 호마유와 같은 지방 오일, 또는 에틸 올리에이트 또는 트리글리세라이드와 같은 합성 지방산 에스테르, 또는 리포솜이 포함된다. 임의로, 현탁액은 또한 적합한 안정화제, 또는 고도로 농축된 용액의 제조가 허용되도록 화합물의 용해도를 증가시키는 작용제를 함유할 수도 있다.
- [0355] 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 단독으로, 또는 필요한 경우에, 다른 활성 화합물과 함께 사용될 수 있다. 본 발명은 추가로, 특히 상기 언급된 장애의 치료 및/또는 예방을 위한, 본 발명에 따르는 적어도 하나의 융합 폴리펩타이드 및 하나 또는 그 이상의 추가의 활성 성분을 포함하는 약제를 제공한다.
- [0356] 조합을 위한 적합한 활성 성분은 예를 들어, 참고로 다음과 같다: 지질 대사를 변조시키는 활성 성분, 항당뇨병제, 혈압강화제, 관류-증진 및/또는 항혈전제, 항산화제, 케모킨 수용체 길항제, p38-кина제 억제제, NPY 아고니스트, 오텍신 아고니스트, 식욕감퇴제, PAF-AH 억제제, 항염제 (COX 억제제, LTB₄-수용체 길항제), 진통제, 예를 들어, 아스피린, 항우울제 및 그 밖의 다른 항정신제.
- [0357] 본 발명은 특히, 본 발명에 따르는 적어도 하나의 융합 폴리펩타이드와 적어도 하나의 지질 대사-변화 활성 성분, 항당뇨병제, 혈압 저하 활성 성분 및/또는 항혈전 효과를 갖는 작용제의 조합에 관한 것이다.
- [0358] 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 바람직하게는 하나 또는 그 이상의 다음의 약제와 조합될 수 있다:

- [0359] · 지질 대사-변조 활성 성분, 예를 들어, 바람직하게는 HMG-CoA 환원효소 억제제, HMG-CoA 환원효소 발현의 억제제, 스쿠알렌 합성 억제제, ACAT 억제제, LDL 수용체 유도제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 폴리머성 담즙산 흡착제, 담즙산 재흡수 억제제, MTP 억제제, 리파제 억제제, LpL 활성화제, 피브레이트, 나이아신, CETP 억제제, PPAR- α , PPAR- γ 및/또는 PPAR- δ 아고니스트, RXR 변조제, FXR 변조제, LXR 변조제, 갑상선 호르몬 및/또는 갑상선 모사체 (mimetics), ATP 시트레이트 리아제 억제제, Lp(a) 길항제, 칸나비노이드 수용체 1 길항제, 랩틴 수용체 아고니스트, 봄베신 수용체 아고니스트, 히스타민 수용체 아고니스트 및 항산화제/래디칼 스캐빈저 (scavengers);
- [0360] · Rote Liste 2004/II, chapter 12에 언급되고, 또한 예를 들어, 바람직하게는 설포닐우레아, 비구아니드, 메글리티니드 유도제, 글루코시다제 억제제, 디펩티딜-펩티다제 IV의 억제제 (DPP-IV 억제제), 옥사디아졸리디논, 티아졸리딘디온, GLP 1 수용체 아고니스트, 글루카곤 길항제, 인슐린 감작제, CCK 1 수용체 아고니스트, 랩틴 수용체 아고니스트, 당신생 및/또는 글리코겐 분해의 자극에 수반된 간 효소의 억제제, 글루코즈 흡수의 변조제 및 또한 예를 들어, WO 97/26265 및 WO 99/03861에 기술된 것과 같은 칼륨 채널 개방제 (potassium channel openers)의 그룹으로부터 선택되는 것인 항당뇨병제;
- [0361] · 예를 들어, 바람직하게는 칼슘 길항제, 안지오텐신 AII 길항제, ACE 억제제, 레닌 억제제, 베타-수용체 차단제, 알파-수용체 차단제, 알도스테론 길항제, 미네랄코르티코이드 수용체 길항제, ECE 억제제, ACE/NEP 억제제 및 바소펩티다제 억제제의 그룹으로부터 선택되는 혈압 저하 활성 성분; 및/또는
- [0362] · 예를 들어, 바람직하게는 혈소판 응집 억제제 또는 항응고제의 그룹으로부터 선택되는 항혈전제;
- [0363] · 이노제;
- [0364] · 바소프레신 수용체 길항제;
- [0365] · 유기 니트레이트 및 NO 공여체;
- [0366] · 양성 변력성 활성을 갖는 화합물;
- [0367] · 예를 들어, 포스포디에스테라제 (PDE) 1, 2, 3, 4 및/또는 5의 억제제, 특히 실테나필, 바르테나필 및 타달라필과 같은 PDE 5 억제제, 및 또한 밀리논과 같은 PDE 3 억제제와 같은 사이클릭 구아노신 모노포스페이트 (cGMP) 및/또는 사이클릭 아데노신 모노포스페이트 (cAMP)의 분해를 억제하는 화합물;
- [0368] · 예를 들어, "심방성 나트륨이노 펩타이드" (ANP, 아나리티드 (anaritide)), "B-타입 나트륨이노 펩타이드" 또는 "뇌 나트륨이노 펩타이드" (BNP, 네시리티드), "C-타입 나트륨이노 펩타이드" (CNP) 및 또한 유로딜라틴과 같은 나트륨이노 펩타이드;
- [0369] · 예를 들어, 일로프로스트, 베라프로스트, 시카프로스트와 같은 프로스타사이클린 수용체 (IP 수용체)의 아고니스트;
- [0370] · 예를 들어, 이바브라딘과 같은 I_f 채널 (퍼니 채널 (funny channel))의 억제제;
- [0371] · 예를 들어, 바람직하게는 레보시멘단과 같은 칼슘 감작제;
- [0372] · 칼륨 보충제;
- [0373] · 특히 WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301 및 WO 03/095451에 기술된 화합물과 같은 구아닐레이트 사이클라제의 NO-독립적이지만 헴 (heme)-의존적인 자극제;
- [0374] · 특히 WO 01/19355, WO 01/19776, WO 01/19778, WO 01/19780, WO 02/070462 및 WO 02/070510에 기술된 화합물과 같은 구아닐레이트 사이클라제의 NO- 및 헴-독립적 활성화제;
- [0375] · 예를 들어, 시벨레스타트 (sivelestat) 및 DX-890 (렐트란 (Reltran))과 같은 인간 호중구 엘라스타제 (HNE)의 억제제;
- [0376] · 예를 들어, 티로신-키나제 억제제, 특히 소라페닙, 이마티닙, 제피티닙 및 예를로티닙과 같이 시그날 전달 캐스케이드를 억제하는 화합물; 및/또는
- [0377] · 예를 들어, 에토-모서 (eto-moxir), 디클로로아세테이트, 라놀라진 및 트리메타지딘과 같이 심장의 에너지 대사를 변조시키는 화합물.

- [0378] 지질 대사-변형 활성 성분은 바람직하게는, HMG-CoA 환원효소 억제제, 스쿠알렌 합성 억제제, ACAT 억제제, 콜레스테롤 흡수 억제제, MTP 억제제, 리파제 억제제, 갑상선 호르몬 및/또는 갑상선 모사체, 나이아신 수용체 아고니스트, CETP 억제제, PPAR- α 아고니스트, PPAR- γ 아고니스트, PPAR- δ 아고니스트, 폴리머성 담즙산 흡착제, 담즙산 재흡수 억제제, 항산화제/라디칼 스캐빈저 및 또한 칸나비노이드 수용체 1 길항제의 그룹으로부터 선택된 화합물을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0379] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 로바스타틴, 심바스타틴, 프라바스타틴, 플루바스타틴, 아토르바스타틴, 로수바스타틴 또는 피타바스타틴과 같은 스타틴의 클래스로부터 선택된 HMG-CoA 환원효소 억제제와 함께 투여된다.
- [0380] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 BMS-188494 또는 TAK-475와 같은 스쿠알렌 합성 억제제와 함께 투여된다.
- [0381] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 아바시미브 (avasimibe), 멜리나미드, 팩티미브, 에플루시미브 또는 SMP-797과 같은 ACAT 억제제와 함께 투여된다.
- [0382] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 아제티미브, 티케시드 또는 과마케시드와 같은 콜레스테롤 흡수 억제제와 함께 투여된다.
- [0383] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 임플리타미드 (implitapide), BMS-201038, R-103757 또는 JTT-130과 같은 MTP 억제제와 함께 투여된다.
- [0384] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 올리스타트와 같은 리파제 억제제와 함께 투여된다.
- [0385] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 D-티록신 또는 3,5,3'-트리요도티로닌 (T3)과 같은 갑상선 호르몬 및/또는 갑상선 모사체와 함께 투여된다.
- [0386] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 나이아신, 아시피록스, 아시프란 또는 라데콜과 같은 나이아신 수용체의 아고니스트와 함께 투여된다.
- [0387] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 달세트라픽, BAY 60-5521, 아나세트라픽 또는 CETP 백신 (CETi-1)과 같은 CETP 억제제와 함께 투여된다.
- [0388] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 피오글리타존 또는 로시글리타존과 같은 티아졸리딘디온의 클래스로부터 선택된 것과 같은 PPAR- γ 아고니스트와 함께 투여된다.
- [0389] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 GW-501516 또는 BAY 68-5042와 같은 PPAR- δ 아고니스트와 함께 투여된다.
- [0390] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 콜레스티라민, 콜레스티폴, 콜레솔밤, 콜레스타겔 (CholestaGel) 또는 콜레스티미드와 같은 폴리머성 담즙산 흡착제와 함께 투여된다.
- [0391] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는, 예를 들어, AZD-7806, S-8921, AK-105, BARI-1741, SC-435 또는 SC-635와 같은 ASBT (= IBAT) 억제제와 같은 담즙산 재흡수 억제제와 함께 투여된다.
- [0392] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 프로부콜, AGI-1067, BO-653 또는 AEOL-10150과 같은 항산화제/라디칼 스캐빈저와 함께 투여된다.
- [0393] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 리모나반트 또는 SR-147778과 같은 칸나비노이드 수용체 1 길항제와 함께 투여된다.
- [0394] 해당뇨병제는 바람직하게는, 인슐린 및 인슐린 유도체, 및 또한 경구적으로 효과적인 혈당저하 활성 성분을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 여기에서, 인슐린 및 인슐린 유도체에는 동물, 인간 또는 생명공학적 기원의 인슐린 모두, 및 또한 이들의 혼합물을 포함한다. 경구적으로 효과적인 혈당저하 활성 성분에는 바람직하게는 설폰닐우레아, 비구아니드, 메글리티니드 유도체, 글루코시다제 억제제 및 PPAR-감마 아고니스트가 포함된다.

- [0395] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 인슐린과 함께 투여된다.
- [0396] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 톨부타미드, 글리벤클라미드, 글리메피리드, 글리피지드 또는 글리클라지드와 같은 설폰닐우레아와 함께 투여된다.
- [0397] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 메트포르민과 같은 비구아니드와 함께 투여된다.
- [0398] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 레파글리니드 또는 나테글리니드와 같은 메글리티니드 유도체와 함께 투여된다.
- [0399] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 미글리톨 또는 아카르보즈 (acarbose)와 같은 글루코시다제 억제제와 함께 투여된다.
- [0400] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 시타글립틴 (sitagliptin) 및 빌다글립틴 (vildagliptin)과 같은 DPP-IV 억제제와 함께 투여된다.
- [0401] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 피오글리타존 또는 로시글리타존과 같은 티아졸리딘디온의 클래스로부터 선택되는 것과 같은 PPAR-감마 아고니스트와 함께 투여된다.
- [0402] 혈압 저하 작용제는 바람직하게는 칼슘 길항제, 안지오텐신 AII 길항제, ACE 억제제, 베타-수용체 차단제, 알파-수용체 차단제 및 이뇨제의 그룹으로부터 선택된 화합물을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0403] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 니페디핀, 암로디핀, 베라파밀 또는 딜티아젠펙과 같은 칼슘 길항제와 함께 투여된다.
- [0404] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 로사르탄, 발사르탄, 칸데사르탄, 엠부사르탄, 올메사르탄 또는 텔미사르탄과 같은 안지오텐신 AII 길항제와 함께 투여된다.
- [0405] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 에날라프릴, 캡토프릴, 리시노프릴, 라미프릴, 텔라프릴, 포시노프릴, 퀴노프릴, 페린도프릴 또는 트란도프릴과 같은 ACE 억제제와 함께 투여된다.
- [0406] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 프로프라놀롤, 아테놀롤, 티몰롤, 핀돌롤, 알프레놀롤, 옥스프레놀롤, 펜부톨롤, 부프라놀롤, 메티프라놀롤, 나돌롤, 메핀돌롤, 카라잘롤, 소탈롤, 메토프롤롤, 베타솔롤, 셀리프롤롤, 비소프롤롤, 카테올롤, 에스몰롤, 라베탈롤, 카베딜롤, 아다프롤롤, 란디올롤, 네비볼롤, 에파놀롤 또는 부신돌롤과 같은 베타-수용체 차단제와 함께 투여된다.
- [0407] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 프라조신과 같은 알파-수용체 차단제와 함께 투여된다.
- [0408] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 푸로세미드, 부메타니드, 토르세미드, 벤드로플루메티아지드, 클로로티아지드, 하이드로클로로티아지드, 하이드로플루메티아지드, 메티클로티아지드, 폴리티아지드, 트리클로로메티아지드, 클로로탈리돈, 인다파미드, 메톨라존, 퀴네타존, 아세타졸라미드, 디클로로펜아미드, 메타졸라미드, 글리세롤, 이소소르비드, 만니톨, 아밀로리드 또는 트리암테렌과 같은 이뇨제와 함께 투여된다.
- [0409] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 스피로노락톤 또는 에플레레논 (eplerenone)과 같은 알도스테론 또는 미넨알로코르티코이드 수용체 길항제와 함께 투여된다.
- [0410] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 코니바판 (conivaptan), 톨바판 (tolvaptan), 리시바판 (lixivaptan) 또는 SR-121463과 같은 바소프레신 수용체 길항제와 함께 투여된다.
- [0411] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 나트륨 니트로프루시드, 니트로글리세롤, 이소소르비드 모노니트레이트, 이소소르비드 디니트레이트, 몰시도민 또는 SIN-1과 같은 유기 니트레이트 또는 NO 공여체와 함께, 흡입용 NO와 함께 투여된다.

- [0412] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 강심성 글리코시드 (디곡신), 베타-아드레날린성 및 도파민성 아고니스트, 예를 들어, 이소프로테레놀, 아드레날린, 노르아드레날린, 도파민 또는 도부타민과 같은 양성-변력성 화합물과 함께 투여된다.
- [0413] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 레저핀, 클로니딘 또는 알파-메틸도파와 같은 교감신경차단제와 함께, 또는 미녹시딜, 디아족시드, 디하이드랄라진 또는 하이드랄라진과 같은 칼슘 채널 아고니스트와 함께, 또는 글리세롤 니트레이트 또는 나트륨 니트로프루시드와 같이 산화질소를 방출하는 물질과 함께 투여된다.
- [0414] 항혈전제는 바람직하게는 혈소판 응집 억제제 또는 항응고제의 그룹으로부터 선택된 화합물을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0415] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 아스피린, 클로피도그렐, 티클로피딘 또는 디피리다몰과 같은 혈소판 응집 억제제와 함께 투여된다.
- [0416] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 지멜라가트란 (ximelagatran), 멜라가트란, 다비가트란, 비발리루딘 또는 클렉산과 같은 트롬빈 억제제와 함께 투여된다.
- [0417] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 티로피반 또는 압식시맙 (abciximab)과 같은 GPIIb/IIIa 길항제와 함께 투여된다.
- [0418] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 리바-록사반 (riva-roxaban; BAY 59-7939), DU-176b, 아픽사반, 오타믹사반, 피텍사반, 라작사반, 폰다파리녹스, 이드라파리녹스, PMD-3112, YM-150, KFA-1982, EMD-503982, MCM-17, MLN-1021, DX 9065a, DPC 906, JTV 803, SSR-126512 또는 SSR-128428과 같은 인자 Xa 억제제와 함께 투여된다.
- [0419] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 헤파린 또는 저분자량 (LMW) 헤파린 유도체와 함께 투여된다.
- [0420] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따르는 융합 폴리펩타이드는 예를 들어, 바람직하게는 쿠마린과 같은 비타민 K 길항제와 함께 투여된다.
- [0421] 본 발명과 관련하여, 특히 바람직한 것은 본 발명에 따르는 적어도 하나의 융합 폴리펩타이드 및 또한 HMG-CoA 환원효소 억제제 (스타틴), 이노제, 베타-수용체 차단제, 유기 니트레이트 및 NO 공여체, ACE 억제제, 안지오텐신 AII 길항제, 알도스테론 및 미네랄로코르티코이드 수용체 길항제, 바소프레신 수용체 길항제, 혈소판 응집 억제제 및 항응고제로 구성된 그룹으로부터 선택된 하나 또는 그 이상의 추가의 활성 성분의 조합, 및 또한 상기 언급된 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 그들의 용도이다.
- [0422] 본 발명은 더 나아가, 통상적으로 하나 또는 그 이상의 불활성이고 비독성인 약제학적으로 적합한 보조제와 함께 본 발명에 따르는 적어도 하나의 융합 폴리펩타이드를 포함하는 약제, 및 상기 언급된 목적을 위한 그들의 용도를 제공한다.
- [0423] **치료학적으로 효과적인 용량**
- [0424] 본 발명에서 사용하기에 적합한 약제학적 조성물에는 활성 성분을 의도하는 목적을 달성하는데, 예를 들어, 심부전에 효과적인 양으로 함유하는 조성물이 포함된다. 유효량의 결정은 충분히 본 기술분야에서 숙련된 전문가의 능력의 범위 내에서 이루어진다.
- [0425] 어떤 화합물의 경우라도, 치료학적 유효량은 일차적으로 시험관내 시험, 예를 들어, LGR7 수용체 활성화, 분리된 관류 랫트 심장에서의 생체의 시험, 또는 동물 모델, 통상적으로는 마우스, 토끼, 개 또는 돼지에서 추정될 수 있다. 동물 모델은 또한 바람직한 농도 범위 및 투여의 경로를 달성하기 위해서 사용된다. 그 후, 이러한 정보를 사용하여 인간에게서 유용한 용량 및 투여의 경로를 결정할 수 있다.
- [0426] 치료학적 유효량은 증상 또는 상태를 개선하는 융합 폴리펩타이드의 양을 나타낸다. 이러한 화합물의 치료학적 효능 및 독성, 예를 들어, ED50 (집단의 50%에서 치료학적으로 효과적인 용량) 및 LD50 (집단의 50%에 대해 치명적인 용량)은 시험관내 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 치료학적 효과와 독성 효과 사이의 용량비는 치료 지수이며, 이것은 ED50/LD50 비로 표현될 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 약제학적 조성물이 바람직하다. 시험관내 시험 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인간에게 사용하기 위한 투약량의 범위를 제제화하는데 사용된다. 이러한 화합물의 투약량은 바람직하게는 독성이 거의 또는 전혀 없이

ED50을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투약량은 이 범위 내에서 사용된 투약량 형태, 환자의 민감도, 및 투여의 경로에 따라 변화한다.

- [0427] 정상적인 투약량은 투여의 경로에 따라 0.1 내지 100,000 밀리그램 총용량으로 변화할 수 있다. 특별한 투약량 및 송달의 방법에 대한 지침은 문헌에 제공된다 (참조: 미국 특허 제 4,657,760; 5,206,344; 또는 5,225,212 호). 본 기술분야에서 숙련된 전문가는 단백질 또는 그들의 억제제에 대해서보다 폴리뉴클레오타이드에 대해서 다양한 제제를 사용할 것이다. 마찬가지로, 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드의 송달은 특별한 세포, 조건, 위치 등에 대해서 특이적일 것이다.
- [0428] 본 발명은 추가로, 이하의 실시예에 의해서 기술된다. 실시예들은 단지 구체적인 구체예를 참고로 하여 본 발명을 설명하기 위해서 제공된다. 이들 실시예는 본 발명의 특정한 구체적 관점을 설명하지만, 개시된 본 발명의 제한을 묘사하거나 범위를 제한하지는 않는다.
- [0429] 모든 실시예는 다른 식으로 상세하게 기술된 경우를 제외하고는, 본 기술분야에서 숙련된 전문가에게 잘 알려져 있고 일상적인 표준 기술을 사용하여 수행되었다. 이하의 실시예의 일상적인 분자 생물학 기술은 문헌 (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)과 같은 표준 실험실 매뉴얼에 기술된 바와 같이 수행될 수 있다.
- [0430] 추가의 바람직한 구체예는 다음과 같다:
- [0431] 1. A-L-B를 포함하며, 릴랙신 활성을 갖는 융합 폴리펩타이드 (여기에서,
- [0432] B는 릴랙신 B쇄 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하며,
- [0433] A는 릴랙신 A쇄 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고,
- [0434] L은 링커 폴리펩타이드이다).
- [0435] 2. B가 릴랙신 B쇄 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체이고,
- [0436] A가 릴랙신 A쇄 폴리펩타이드 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0437] L은 링커 폴리펩타이드인 상기 1에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0438] 3. 릴랙신 B쇄가 릴랙신 2B 또는 릴랙신 3B쇄인 상기 1 또는 2에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0439] 4. 릴랙신 A쇄가 릴랙신 2A 또는 릴랙신 3A쇄인 상기 1 내지 3 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0440] 5. 릴랙신 A쇄가 릴랙신 2A쇄인 상기 1 내지 4 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0441] 6. 릴랙신 A쇄가 릴랙신 3A쇄인 상기 1 내지 5 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0442] 7. 릴랙신 A쇄가 릴랙신 2A쇄이고, 릴랙신 B쇄가 릴랙신 2B쇄인 상기 1 내지 6 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0443] 8. 릴랙신 A 및 B쇄가 인간 릴랙신 A 및 B쇄인 상기 1 내지 7 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0444] 9. 추가로 적어도 하나의 반감기 연장 부분을 더 포함하는 상기 1 내지 8 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0445] 10. 반감기 연장 부분이 비-단백질성 또는 단백질성 반감기 연장 부분인 상기 9에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0446] 11. 폴리펩타이드가 하기 화학식을 갖는 상기 9 또는 10에 따르는 융합 폴리펩타이드:
- [0447] $(R1)_m - (S1)_n - A - L - B - (S2)_o - (R2)_p$
- [0448] 여기서,
- [0449] R1 및 R2는 단백질성 반감기 연장 부분이고,
- [0450] S1 및 S2는 스트레처 펩타이드이며,
- [0451] 여기에서 m, n, o 및 p는 독립적으로 0 또는 1의 수이고, 단 m, n, o, 및 p 중이 적어도 하나는 1이다.
- [0452] 12. m 및 n은 0이고, o 및 p는 1인 상기 11에 따르는 융합 폴리펩타이드.

- [0453] 13. m 및 n이 1이고, o 및 p는 0인 상기 11에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0454] 14. m이 1이고, n, o 및 p는 0인 상기 11에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0455] 15. m, n 및 o가 0이고, p는 1인 상기 11에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0456] 16. R1 및 R2가 면역글로불린 Fc 영역, 혈청 알부민, 트랜스페린 및 혈청 알부민 결합 단백질로 구성된 단백질성 반감기 연장 부분의 그룹에 포함되는 단백질성 반감기 연장 부분인 상기 11 내지 15 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0457] 17. 단백질성 반감기 연장 부분이 IgG1 Fc 영역인 상기 10 내지 16 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0458] 18. 단백질성 반감기 연장 부분이 인간인 상기 10 내지 17 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0459] 19. 비단백질성 반감기 연장 부분이 PEG 또는 HES인 상기 10에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0460] 20. 스트레처 폴리펩타이드 S1 및 S2가 길이가 1-25 개의 아미노산인 상기 11 내지 19 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0461] 21. 스트레처 폴리펩타이드 S1 및 S2가 길이가 4-10 개의 아미노산, 바람직하게는 길이가 10 개의 아미노산인 상기 11 내지 20 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0462] 22. 스트레처 폴리펩타이드 S1 및 S2가 SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 149, 및 SEQ ID NO: 150에 제시된 바와 같은 폴리펩타이드로 구성된 스트레처 폴리펩타이드의 그룹에 포함되는 상기 21에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0463] 23. 링커 폴리펩타이드 L이 길이가 6-14 개의 아미노산인 상기 1 내지 22 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0464] 24. 링커 폴리펩타이드 L이 길이가 7-11 개의 아미노산인 상기 1 내지 23 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0465] 25. 링커 폴리펩타이드 L이 길이가 8, 9 또는 10 개의 아미노산인 상기 1 내지 24 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0466] 26. 링커 폴리펩타이드 L이 길이가 9 개의 아미노산인 상기 1 내지 25 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0467] 27. 링커 폴리펩타이드 L이 길이가 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 및 14 개의 아미노산을 갖는 링커로 구성된 링커의 그룹에 포함되는 상기 1 내지 26 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0468] 28. 링커 폴리펩타이드 L에서 링커 L의 4 개를 제외한 모든 아미노산 잔기는 Gly 및/또는 Ser 잔기로 구성되고, 나머지 4 개의 아미노산 잔기는 천연 아미노산의 그룹으로부터 선택되는 상기 1 내지 27 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0469] 29. 링커 폴리펩타이드 L이 적어도 하나의 Gly, Ser, Arg, Cys, Leu 및/또는 Lys 잔기를 포함하는 상기 1 내지 28 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0470] 30. 링커 폴리펩타이드 L이 Gly 및 Ser 잔기를 포함하는 상기 1 내지 29 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0471] 31. 링커 폴리펩타이드 L이 Gly 및 Ser 잔기로 구성되는 상기 1 내지 30 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0472] 32. 링커 폴리펩타이드 L이 Gly 및 Ser 잔기를 포함하고, 적어도 3 대 1의 Gly 대 Ser 비를 갖는 상기 1 내지 31 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0473] 33. 링커 폴리펩타이드 L이 SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 145 및 SEQ ID NO: 146에 제시된 바와 같은 폴리펩타이드로 구성된 링커 폴리펩타이드의 그룹에 포함되는 상기 1 내지 32 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0474] 34. 틸렉신 A쇄가 인간 틸렉신 2 A쇄 (SEQ ID NO: 117)이고, 틸렉신 B쇄가 인간 틸렉신 2 B쇄 (SEQ ID NO: 119)인 상기 1 내지 33 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.

- [0475] 35. A가 인간 림팩신 2 A쇄 (SEQ ID NO: 117)이고, B가 인간 림팩신 2 B쇄 (SEQ ID NO: 119)인 상기 1 내지 34 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0476] 36. 표 3에 도시된 바와 같은 폴리펩타이드를 포함하는 상기 1 내지 35 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0477] 37. A-L-B가 scR3, scR4, scR5, scR3 w/o Tag, scR4 w/o Tag, scR5 w/o Tag, scR-Fc5, scR-Fc6 및 scR-Fc7로 구성된 A-L-B 폴리펩타이드의 그룹으로부터 선택되는 상기 1 내지 36 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0478] 38. 표 3에 도시된 바와 같은 융합 폴리펩타이드.
- [0479] 39. scR3, scR4, scR5, scR3 w/o Tag, scR4 w/o Tag, scR5 w/o Tag, scR-Fc5, scR-Fc6 및 scR-Fc7로 구성된 그룹으로부터 선택된 융합 폴리펩타이드.
- [0480] 40. 상기 1 내지 39 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드를 코드화한 폴리뉴클레오타이드.
- [0481] 41. 상기 40에 따르는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.
- [0482] 42. 상기 41에 따르는 벡터 또는 상기 40에 따르는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포.
- [0483] 43. 진핵 또는 원핵 세포인 상기 42에 따르는 숙주 세포.
- [0484] 44. 진핵 숙주 세포가 포유동물, 효모, 곤충 또는 식물 세포인 상기 42 또는 43에 따르는 숙주 세포.
- [0485] 45. 포유동물 숙주 세포가 CHO 세포인 상기 44에 따르는 숙주 세포.
- [0486] 46. 원핵 숙주 세포가 박테리아 세포, 바람직하게는 이. 콜라이 세포인 상기 43에 따르는 숙주 세포.
- [0487] 47. 상기 42-46의 숙주 세포를 배양하고, 폴리펩타이드를 분리시키는 단계를 포함하여, 상기 1-39 중의 어느 하나에 따르는 폴리펩타이드를 생산하는 방법.
- [0488] 48. 상기 1-39 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 조성물.
- [0489] 49. 약제로서의 상기 48에 따르는 약제학적 조성물 또는 상기 1-39 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0490] 50. 심혈관 질환, 폐 질환, 섬유성 장애 또는 신장 질환의 치료를 위한 약제로서의 상기 48 및 49에 따르는 약제학적 조성물 또는 상기 1-39 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드.
- [0491] 51. 상기 48 및 49에 따르는 약제학적 조성물 또는 상기 1-39 중의 어느 하나에 따르는 융합 폴리펩타이드의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하여, 심혈관 질환, 폐 질환, 섬유성 장애 또는 신장 질환을 치료하는 방법.
- [0492] 52. 심혈관 질환이 관상동맥 심장 질환, 급성 관상동맥 증후군, 심부전 및 심근 경색인 상기 50 및 51에 따르는 치료.

[0493] **실시예**

[0494] **실험 프로토콜**

[0495] **림팩신 변이체의 구성:**

[0496] 림팩신 변이체의 cDNA 서열은 화학적 유전자 합성에 의해서 생성되었다. 합성된 유전자를 포유동물 발현 벡터 pCEP4 (Invitrogen, catalogue number V044-50) 내에 서브클로닝하였다. 생성된 단백질의 정확한 분비를 위한 시그널 리더 서열로는, LDL 수용체-관련된 단백질 (LRP, 아미노산 조성 MLTPLLLLPLLSALVAA) 또는 CD33 (아미노산 조성 MPLLLLLPLLWAGALA)의 리더 서열이 사용되었다. 합성된 구조물의 서브클로닝을 위해서는 제한 효소 HindIII 및 BamHI가 제조자의 지시에 따라 사용되었다.

[0497] **림팩신 변이체의 발현:**

[0498] 소규모 발현 (2 밀리리터 배양 용적까지)을 위해서는, HEK293 (ATCC, catalogue number CRL-1573) 세포를 제조자의 지시에 따라 리포펙타민2000 (Lipofectamine2000) 형질감염 시약 (Invitrogen, catalogue number 11668-019)을 사용하여 일시적으로 형질감염시켰다. 세포를 37°C에서 5% 이산화탄소 하의 가슴 배양기 내에서 D-Mem

F12 (Gibco, #31330), 1% 페니실린-스트렙토마이신 (Gibco, #15140) 및 10% 태자 송아지 혈청 (FCS, Gibco, #11058) 중에서 배양하였다.

- [0499] 형질감염시킨지 3 내지 5일 후에, 형질감염된 세포의 조건화 배지를 안정하게 형질감염된 CHO-CRE-GR7 세포주를 사용하여 활성화에 대해 시험하였다.
- [0500] 대규모 발현 (10 밀리리터 배양 용적 및 그 이상)을 위해서는, 구조물을 문헌 (Tom et al., 2007)에 기술된 바와 같이 포유동물 세포주에서 일시적으로 발현시켰다. 간략하면, 발현 플라스미드를 HEK293-6E 세포 내로 형질감염시키고, 페른바흐-플라스크 (Fearnbach-Flasks) 또는 웨이브-백 (Wave-Bags) 내에서 배양하였다. 발현은 F17 배지 (Invitrogen) 중에서 37℃에서 5 내지 6일 동안 이루어졌다. 5 g/ℓ 트립톤 TN1 (Organotechnie), 1% 초저 (Ultra-Low) IgG FCS (Invitrogen) 및 0.5 mM 발프로산 (Sigma)이 형질감염 후에 보충되었다.
- [0501] **릴렉신 변이체의 정제:**
- [0502] 릴렉신 Fc-융합 구조물은 포유동물 세포 배양 상등액으로부터 정제되었다. 첫 번째 상등액은 원심분리에 의해서 세포 파편으로부터 정제되었다. 단백질을 단백질 A (MabSelect Sure, GE Healthcare) 친화성 크로마토그래피에 이어서 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 정제되었다. 따라서, 상등액을 PBS pH 7.4 (Sigma/Aldrich) 중에서 미리 평형화된 단백질 A 칼럼에 적용하고, 오염물질은 10 칼럼 용적의 PBS pH 7.4 + 500 mM NaCl에 의해서 제거하였다. 릴렉신 Fc 융합 구조물을 50 mM Na-아세테이트 pH 3.5 + 500 mM NaCl로 용출시키고, PBS pH 7.4 중의 슈퍼덱스 (Superdex) 200 칼럼 상에서 SEC에 의해 더 정제하였다.
- [0503] c-Myc 태깅된 단백질 또는 폴리펩타이드의 정제를 위해서는, c-Myc 태깅된 단백질 마일드 정제 겔 (Mild Purification Gel)이 제조자의 지시에 따라 사용되었다 (Biozol Diagnostic, Protein Mild Purification Gel, catalogue number 3306).
- [0504] His 태깅된 단백질 또는 폴리펩타이드의 정제를 위해서는, Ni-NTA 스핀 칼럼이 제조자의 지시에 따라 사용되었다 (Qiagen, Ni-NTA Spin Kit, catalogue number 31314).
- [0505] **발현된 릴렉신 변이체의 정량화:**
- [0506] 분비 및 정제된 재조합체 릴렉신 변이체의 정량화를 위해서는, 상업적으로 이용할 수 있는 정량화 ELISA (R&D Systems, Human Relaxin-2 Quantikine ELISA Kit, catalogue number DRL200)를 제조자의 지시에 따라 사용하였다.
- [0507] 일부의 구조물에 대한 것 이외에도, 단백질은 FC-ELISA를 사용하여 정량화하였다. Fc ELISA의 경우에는, 96 웰 미량역가 플레이트 (Nunc, Maxi Sorp black, catalogue number 460918)를 4℃에서 밤새 밀리리터당 5 µg의 농도의 항-Fc 항체 (SigmaAldrich, catalogue number A2136)로 코팅하였다. 플레이트를 PBS 및 0.05% 트윈 (Tween) 20 (SigmaAldrich, catalogue number 63158) 완충액으로 구성된 완충액을 웰당 50 마이크로리터 사용함으로써 한 번 세척하였다. 30 마이크로리터의 차단 완충액 (Candor Bioscience, catalogue number 113500)을 첨가하고, 플레이트를 37℃에서 1 시간 동안 배양하였다. 플레이트를 웰당 50 마이크로리터의 PBS/0.05% 트윈 20 완충액을 사용하여 3 회 세척하였다. 샘플을 첨가하고, 플레이트를 37℃에서 1 시간 동안 배양하였다. 필요한 경우에, 샘플은 상기 언급된 차단 완충액을 사용하여 희석하여야 한다. 배양 후에, 플레이트를 웰당 50 마이크로리터의 PBS/0.05% 트윈 20 완충액을 사용하여 3 회 세척하였다.
- [0508] 검출을 위해서, 10% 차단 완충액 중에서 1:10000 희석된 30 마이크로리터의 항-h-Fc-POD (SigmaAldrich, catalogue number A0170)를 첨가하고, 37℃에서 1 시간 동안 배양하였다. 배양 후에, 플레이트를 웰당 50 마이크로리터의 PBS/0.05% 트윈 20 완충액을 사용하여 3 회 세척하였다. 30 마이크로리터의 BM 블루 기질 (Blue Substrate) POD (Roche Diagnostics, catalogue number 11484281001)을 첨가하고, 5 분 동안의 배양 후에 1 몰 황산 용액을 첨가함으로써 반응을 중지시켰다. 흡수는 테칸 인피니트 (Tecan Infinite) 500 판독기, 흡광도 모드, 여기 450 nm, 방출 690 nm를 사용하여 측정하였다.
- [0509] Myc 태깅된 단백질의 농도를 측정하기 위해서는, 인간 c-Myc ELISA 키트 (EIAab & USCNLIFE, Wuhan EIAab Science Co.,Ltd, catalogue number E1290h)를 제조자의 지시에 따라 사용하였다.
- [0510] His 태깅된 단백질의 농도를 측정하기 위해서는, His-Tag 단백질 ELISA 키트 (BIOCAT GmbH, catalogue number AKR-130)를 제조자의 지시에 따라 사용하였다.
- [0511] HA (해마글루티닌) 태깅된 단백질의 농도를 측정하기 위해서는, 인간 해마글루티닌, HA ELISA 키트 (Holzel

Diagnostika, catalogue number CSB-E09360h)를 제조자의 지시에 따라 사용하였다.

[0512] 활성 시험:

[0513] CHO K1 세포 (ATCC, catalogue number CCL-61)를 사이클릭 AMP 반응성 요소 (CRE) 루시퍼라제 리포터 유전자 구조물 (Biomx Technology, pHTS-CRE, catalogue number P2100)에 의해서 안정적으로 형질감염시켜 CHO-CRE-루시퍼라제 세포주를 생성시켰다.

[0514] 이어서 이 세포주를 포유동물 발현 벡터 pcDNA3.1(-) (Invitrogen, catalogue number V79520) 내에 2271 염기 쌍 길이의 DNA 단편으로 클로닝된 인간 LGR7/RXFP1 수용체 (수탁 번호 NM_021634.2)에 의해서 안정적으로 형질감염시켜 CHO-CRE-LGR7 세포주를 생성시켰다. 이 세포주를 D-Mem F12 (Gibco, #31330), 2 mM 글루타맥스 (Glutamax; Gibco, #35050), 100 nM 피루바트 (Pyruvat; Gibco, # 11360-070), 20 mM 헤페스 (Hepes; Gibco, # 15630), 1% 페니실린-스트렙토마이신 (Gibco, #15140) 및 10% 태자 송아지 혈청 (FCS, Gibco, #11058) 중에서 배양하였다.

[0515] 자극을 위해서, 배지를 다양한 농도의 제조합적으로 발현된 릴렉신 변이체 단백질 (통상적으로는 100 nM의 농도에서 시작하여, 이어서 1:2 희석액)을 함유하는 옵티멤 (OptiMem; Gibco, #11058) + 1% FCS로 교환하였다. 양성 대조군으로서, 상업적으로 이용할 수 있는 제조합 발현된 인간 릴렉신 2 (Genbank Accession number NP_604390.1)를 사용하였다 (R&D Systems, catalogue number 6586-RN-025). 이어서, 세포를 37℃에서 5% 이산화탄소 하의 가습 배양기 내에서 6 시간 동안 배양하였다. 6 시간 후에, 세포를 루시퍼라제 시험 시스템 (Luciferase Assay System; Promega, # E1500) 및 테칸 인피니트 500 판독기 (발광 모드, 1000 밀리초 적분 시간, 측정 시간 30 초)를 사용하여 루시퍼라제 활성에 대해 시험하였다.

[0516] 컴퓨터 프로그램 그래프 패드 프리즘 버전 (Graph Pad Prism Version) 5를 사용함으로써 다양한 분자의 EC50 값을 측정하기 위해서 상대적 발광 유니트 (relative luminescence unit)를 사용하였다.

[0517] 릴렉신뿐만 아니라 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 대체 활성 시험을 위해서는, LGR7 수용체의 내인성 발현을 갖는 세포주 (예를 들어, THP1, ATCC catalogue number TIB-202) 또는 일차 세포 (예를 들어, Celprogen Inc., Human Cardiomyocyte Cell Culture, catalogue number 36044-15)가 사용된다. 이들 세포는 제조자의 지시에 따라 배양한다.

[0518] cAMP의 릴렉신 또는 릴렉신 변이체 유도된 생성을 검출하는 방법은 본 기술분야에서 공지되어 있다. 예를 들어, 이러한 측정은 제조자의 지시에 따라 cAMP ELISA (예를 들어, IBL International GmbH, cAMP ELISA, catalogue number CM 581001)를 사용하여 수행된다.

[0519] PI3 키나제의 릴렉신 또는 릴렉신 변이체 유도된 활성화의 검출을 위한 방법은 본 기술분야에서 공지되어 있다. 예를 들어, 이러한 측정은 제조자의 지시에 따라 PI3-키나제 HTRF 시험을 사용하여 수행된다 (예를 들어, Millipore, PI3-Kinase HTRF Assay, catalogue number 33-016).

[0520] PEGy1화

[0521] 시스테인 잔기에 대한 PEGy1화를 위해서, 융합 폴리펩타이드는 통상적으로 PEGy1화시키기 전에 디티오프레이톨 (DDT)과 같은 환원제로 처리한다. 이어서 환원제는 탈염과 같은 어떤 통상적인 방법에 의해서라도 제거된다. 시스테인 잔기에 대한 PEG의 컨쥬게이션은 전형적으로 16 시간까지의 기간 동안 4℃ 내지 25℃로 변화하는 온도에서 pH 6-9의 적합한 완충액 중에서 수행된다.

[0522] PEGy1화는 부착된 PEG 분자의 수, 이러한 분자의 크기 및 형태 (예를 들어, 이들이 선형인지 분지된 것인지 여부), 및 융합 폴리펩타이드 내의 부착 부위(들)에 관한 최적 분자를 생산하도록 디자인되는 것으로 이해될 것이다. 사용되는 폴리머의 분자량은 예를 들어, 달성될 바람직한 효과를 기초로 하여 선택될 수 있다.

[0523] 면역원성 시험

[0524] 면역원성 시험은 MHCII 콤플렉스에 대한 단백질 또는 펩타이드의 잠재적인 결합 친화성을 계산하는 컴퓨터 프로그램 NetMHCIIpan (Center for Biological Sequence Analysis; Department of Systems Biology; Technical University of Denmark)을 사용하여 수행된다. 계산된 결합 친화성이 클수록 관심이 있는 단백질 또는 폴리펩타이드에 대해 지시된 항체를 유도할 위험이 더 크다.

[0525] T 세포 에피토프를 매핑 (mapping)하는 시험관내 측정은 문헌 (Reijonen and Kwok; Reijonen H., Kwok WW. (2003) Use of HLA class II tetramers in tracking antigen-specific T cells and mapping T-cell epitopes.

Methods 29:282-288)에 공개된 프로토콜에 따라 수행된다.

[0526] 단일쇄 틸렉신 변이체의 구조물

[0527] 단일쇄 틸렉신 변이체의 최적 링커 길이의 측정

[0528] A 및 B 쇠를 연결하는 다양한 링커 길이를 갖는 단일쇄 틸렉신 변이체는 상술한 바와 같이 생성되었다. 서열에서 도식된 바와 같이, 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 일부의 구조물에서 Myc Tag (아미노산 서열 EQKLISEEDL)를 헤마글루티닌 태그 (아미노산 서열 YPYDVPDYA)가 있거나 없는 A 쇠의 N 말단 종결부에 첨가할 뿐만 아니라 6 히스티딘 태그 (아미노산 서열 HHHHHH)를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0529] 실시예 1: scR1

[0530] scR1 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 3 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0531] 실시예 2: scR2

[0532] scR2 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 5 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0533] 실시예 3: scR3

[0534] scR3 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 7 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0535] 실시예 4: scR4

[0536] scR4 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0537] 실시예 5: scR5

[0538] scR5 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 11 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0539] 실시예 6: scR6

[0540] scR6 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 15 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠 및 헤마글루티닌 태그의 N 말단 종결부에 첨가하고, 6 히스티딘 태그를 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가하였다.

[0541] 실시예 7: scR7

[0542] scR7 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 6 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠의 N 말단 종결부에 첨가하였다. 활성은 상술한 바와 같은 프로토콜에 따라서 측정된다.

[0543] 실시예 8: scR8

[0544] scR8 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열은 길이가 12 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySer를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇠의 N 말단 종결부에 첨가하였다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라서 측정된다.

- [0545] **실시예 9: scR9**
- [0546] scR9 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A쇄 및 B쇄를 연결하는 링커 서열은 길이가 13개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A쇄의 N 말단 종결부에 첨가하였다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라서 측정된다.
- [0547] **실시예 10: scR10**
- [0548] scR10 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A쇄 및 B쇄를 연결하는 링커 서열은 길이가 14개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A쇄의 N 말단 종결부에 첨가하였다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라서 측정될 것이다.
- [0549] **실시예 11: scR11**
- [0550] scR11 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A쇄 및 B쇄를 연결하는 링커 서열은 길이가 10개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 비-PEGyl화 융합 폴리펩타이드의 활성 시험을 위해서는 비-정제된 단백질이 사용되었다.
- [0551] 이 구조물의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서, 상술한 바와 같은 프로토콜에 따라 A쇄와 B쇄를 연결하는 링커 내의 시스테인의 PEGyl화를 수행한다. PEGyl화 변이체의 활성은 상술한 프로토콜에 따라서 측정된다.
- [0552] **실시예 12: scR12**
- [0553] scR12 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A쇄 및 B쇄를 연결하는 링커 서열은 길이가 10개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 비-PEGyl화 융합 폴리펩타이드의 활성 시험을 위해서는 비-정제된 단백질이 사용되었다.
- [0554] 이 구조물의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서, 상술한 바와 같은 프로토콜에 따라 A쇄와 B쇄를 연결하는 링커 내의 리신의 PEGyl화는 옵션일 수 있었다. PEGyl화 변이체의 활성은 상술한 프로토콜에 따라서 측정된다.
- [0555] **실시예 13: scR13**
- [0556] scR13 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 A쇄의 C 말단 종결부 및 B쇄의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열은 길이가 9개의 아미노산이고, 서열 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 활성 시험을 위해서는 비-정제된 융합 폴리펩타이드가 사용되었다.
- [0557] **실시예 14: scR14**
- [0558] scR14 조성물에서, 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 A쇄의 C 말단 종결부 및 B쇄의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열은 길이가 9개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다. 활성 시험을 위해서는 비-정제된 융합 폴리펩타이드가 사용되었다.
- [0559] **실시예 15: scR15**
- [0560] scR15 조성물에서, 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 A쇄의 C 말단 종결부 및 B쇄의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열은 길이가 9개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc 태그를 A쇄의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0561] **실시예 16: scR16**
- [0562] scR16 조성물에서, 인간 틸렉신 2의 B쇄의 C-말단 및 A쇄의 N-말단을 연결하는 링커 서열은 길이가 9개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc 태그를 A쇄의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0563] **실시예 17: scR17**
- [0564] scR17 조성물에서, 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 A쇄의 C-말단 및 인간 틸렉신 2 (accession number NP_604390.1)의 B쇄의 N-말단을 연결하는 링커 서열은 길이가 9개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc

태그를 A 쉘의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.

[0565] **실시예 18: scR18**

[0566] scR18 조성물에서, 인간 틸렉신 2 (accession number NP_604390.1)의 B 쉘의 C-말단 및 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 A 쉘의 N-말단을 연결하는 링커 서열은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc 태그를 A 쉘의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.

[0567] **실시예 19: scR19**

[0568] scR19 조성물에서, 인간 틸렉신 2 (accession number NP_604390.1)의 A 쉘의 C-말단 및 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 B 쉘의 N-말단을 연결하는 링커 서열은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc 태그를 A 쉘의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.

[0569] **실시예 20: scR20**

[0570] scR20 조성물에서, 인간 틸렉신 3 (accession number NP_543140.1)의 B 쉘의 C-말단 및 인간 틸렉신 2 (accession number NP_604390.1)의 A 쉘의 N-말단을 연결하는 링커 서열은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성될 것이다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서는 Myc 태그를 A 쉘의 N 말단 종결부에 첨가한다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.

[0571] 모든 단일쇄 틸렉신 변이체의 그래프적 표현은 도 2에 제시된다.

[0572] 표 1은 다양한 scR 구조물의 발현뿐만 아니라 생물학적 활성에 관한 결과를 요약한 것이다. 3, 5 및 15 개의 아미노산의 링커 길이를 갖는 단일쇄 틸렉신 변이체는 상술한 시험에서 어떤 검출가능한 생물학적 활성도 나타내지 않는 반면에, 놀랍게도 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 및 14 개의 아미노산의 시험된 링커 길이는 인간 틸렉신 2와 동등한 생물학적 활성을 나타내는 단일쇄 변이체를 유도한다.

[0573] A 쉘의 C-말단과 B 쉘의 N-말단을 연결하는 링커의 길이가 생물학적 활성 분자의 생성에 중요하지만, 링커의 아미노산의 조성은 가변적이다. 예는 scR11 내지 scR13이다. 이에 의해서, scR11 및 scR12는 링커 서열에서 추가의 아미노산 (scR11의 링커에서 C 및 scR12의 링커에서 K)을 나타내거나, 구조물 scR13의 경우에는 상기 언급된 링커 서열에 대해 어떤 상동성도 나타내지 않는 링커 서열을 나타낸다.

[0574] 단일쇄 틸렉신 변이체의 생성은 틸렉신 2로 제한되지 않는다. 구조물 scR14 및 15는 틸렉신의 단일쇄 변이체이다. 비록 틸렉신 2와 틸렉신 3 사이의 전반적인 서열 상동성은 낮지만, 인슐린 슈퍼패밀리의 구성원으로서의 이들 두 개의 유전자의 게놈 조직은 동일하다. 틸렉신 2와 마찬가지로, 틸렉신 3은 고전적인 B 쉘 - C 쉘 - A 쉘 구조로 구성된다. 틸렉신 2의 경우와 마찬가지로, C 쉘은 프로호르몬 컨버타제 I 및 II에 의해서 틸렉신 3 프로펩타이드로부터 분해되며, B 및 A 쉘은 디설파이드 브릿지에 의해서 연결되고, 이에 의해서 활성 분자가 형성된다. 구조물 scR14 및 scR15는 틸렉신 3의 단일쇄 변이체이며, 예를 들어, 구조물 scR4를 갖는 틸렉신 2에 대해서 이미 나타난 바와 같은 A 쉘의 C-말단과 B 쉘의 N-말단을 연결하는 동일한 링커 분자를 나타낸다. scR14 및 scR15는 검출가능한 생물학적 활성을 나타낸다.

[0575] scR16, scR17, scR18, scR19, 및 scR20은 틸렉신 3의 A 쉘과 틸렉신 2의 B 쉘 사이 및 그 반대의 키메라이다. 이에 의해서, LGR7 수용체의 활성화를 위해서는 틸렉신 2 및 틸렉신 3의 B-쉘를 각각 틸렉신 3/틸렉신 2 키메라의 C-말단 부분에 위치시키는 것이 의무적이다.

표 1

클론	발현	EC ₅₀ (M)*
h틸렉신 2		2,60E-11
h틸렉신 3		2,30E-09
scR1	검출 가능	검출 불가능
scR2	검출 가능	검출 불가능
scR3	검출 가능	7,70E-11
scR4	검출 가능	3,40E-11
scR5	검출 가능	3,70E-11
scR6	검출 가능	검출 불가능
scR7	검출 가능	5,30E-08
scR8	검출 가능	2,40E-08
scR9	검출 가능	1,10E-07
scR10	검출 가능	4,40E-08
scR11	검출 가능	2,50E-08
scR12	검출 가능	3,60E-08
scR13	검출 가능	활성 (EC ₅₀ n.d.)
scR14	검출 가능	5,90E-10
scR15	검출 가능	6,20E-10
scR16	검출 가능	검출 불가능
scR17	검출 가능	1,30E-08
scR18	검출 가능	검출 불가능
scR19	검출 가능	활성 (EC ₅₀ n.d.)
scR20	검출 가능	검출 불가능

[0576]

[0577]

* 값은 3 내지 5 개의 독립적인 실험의 예이다.

[0578]

h틸렉신 2, scR3, scR4, 및 scR5의 활성을 비교하는 용량 반응 곡선 및 상응하는 EC₅₀ 값은 도 4a에 나타내며, h틸렉신 2, scR7, scR8, scR9, 및 scR10의 경우는 도 4b에 나타내고, h틸렉신 2, scR11 및 scR12의 경우는 도 4c에 나타내며, h틸렉신 2, h틸렉신 3, scR14 및 scR15의 경우는 도 4d에 나타내고, h틸렉신 3 및 scR17의 경우는 도 4e에 나타낸다.

[0579]

결론: 이것은 5 개를 넘는 아미노산 및 15 개 미만의 아미노산의 링커 길이가 단일쇄 틸렉신 변이체의 생물학적 활성에 필요한 것을 나타내며, 여기에서 A 쇠의 C 말단은 이러한 링커를 통해서 B 쇠의 N 말단에 연결된다. 또한, 본 발명의 단일쇄 틸렉신의 생성은 틸렉신 2로 제한되지 않는다.

[0580]

틸렉신 2의 그의 상응하는 수용체 LGR7에 대한 결합은 2-단계 과정이다. 제1 단계에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠는 수용체의 N 말단 엑토도메인 (ectodomain)에 결합한다. 제2 단계에서, 이 결합된 엑토도메인은 배좌 변화를 겪으며, 틸렉신의 B 쇠와 LGR7의 경막 영역 사이의 이차적인 상호작용은 수용체 시그널링을 매개한다. 이 제2 단계는 리간드 - 수용체 컴플렉스의 활성화에 가장 적절하다. 따라서, 변이체 scR17이 인간 틸렉신 2 대신에 인간 틸렉신 3의 A 쇠를 함유한다는 사실로 인하여, 감소된 활성을 갖는 구조물이 유도된다. 활성화에서의 추가의 감소는 인간 틸렉신 2의 B 쇠 대신에 인간 틸렉신 3의 B 쇠를 함유하는 변이체 scR19에 의해서 관찰된다. 엑토도메인에 대한 결합은 인간 틸렉신 2의 A 쇠를 통해서 나타나지만, 인간 틸렉신 3의 B 쇠는 LGR7을 활성화시키는 데 차선택이다. 틸렉신 3에 대한 상응하는 수용체는 LGR8이다. 따라서, 리간드로서 scR19 및 상응하는 수용체로서 LGR8을 사용함으로써 시그널 강도는 훨씬 더 높을 것 같다. 이것은 또한 본 발명의 융합 폴리펩타이드의 활성을 변조시키는 수단이다.

[0581]

scR13의 비-정제는, 샘플 내에 존재할 수 있는 불순물이 농도의 잘못된 측정을 유도하거나 세포 기본 루시퍼라제 시험의 정확성에 부정적인 영향을 미칠 수 있기 때문에 더 낮은 활성에 대한 설명이다.

[0582]

결론적으로, 다른 링커 서열 (본 발명의 길이 내에서)도 충분히 활성인 단일쇄 틸렉신을 유도하기 때문에, 이것은 유용한 링커 서열이 글리신/세린 풍부 서열로 제한되지 않음을 나타낸다.

- [0583] **개선된 생물학적 반감기를 갖는 단일쇄 림팩신 융합 단백질의 구성**
- [0584] 단일쇄 림팩신 변이체의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서는, 면역글로불린 분자의 Fc 부분이 단일쇄 림팩신 변이체의 N 말단 또는 C 말단 종결부에 첨가된 구조물을 디자인하였다.
- [0585] 이에 의해서, 단일쇄 림팩신 변이체는 면역글로불린의 Fc 부분에 직접 융합되거나, 다양한 길이 및 아미노산 조성의 폴리펩타이드에 의해서 연결된다.
- [0586] 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 개선시키는 또 다른 옵션은 트랜스페린 (accession number P02787) 또는 알부민 (accession number P02768) (SR Schmid (2009))과 같은 폴리펩타이드와의 융합이다.
- [0587] PEGyl화는 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 개선시키는 통상적으로 사용되는 방법이다. 이에 의해서, 폴리에틸렌 글리콜 폴리머 쇄를 첨가하여 폴리펩타이드에 공유적으로 부착시킨다. 이에 따라 PEG의 반응성 유도체를 표적 폴리펩타이드와 함께 배양한다. PEG와 반응하는 바람직한 아미노산은 시스테인 및 리신이다.
- [0588] Pasut and Veronese (2009))
- [0589] **림팩신 융합 단백질의 생성 - 림팩신-Fc**
- [0590] 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서, 인간 IgG1의 Fc 부분을 화학적 기본 유전자 합성에 의해서 인간 림팩신 2와 결합시켰다. 인간 림팩신 2 (그의 게놈 조직에 따라 다음과 같이 배열된다: B 쇄 - C 쇄 - A 쇄)의 카복시-말단 부분을 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부에 융합시키고, 이에 의해 융합 단백질의 이들 두 부분은 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드로 구성된 6 개의 아미노산 길이의 링커 서열에 의해서 연결되었다. 그러나, 림팩신 Fc는 CHO-CRE-LGR7 세포주에 의해서 측정된 것으로서 활성을 나타내지 않았다.
- [0591] **실시예 16: scR-Fc 1**
- [0592] scR-Fc 1에서, scR 4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 6 개의 아미노산이고, 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 이 폴리펩타이드 및 Fc 부분은 scR 4에서 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다. 단백질 발현의 대체 측정을 위해서, Myc 태그를 A 쇄의 N 말단 종결부에 첨가하였다.
- [0593] **실시예 17: scR-Fc 2**
- [0594] scR-Fc 2에서, 단일쇄 림팩신 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 4 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. scR-Fc 1과는 달리, 이 구조물은 A 쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0595] **실시예 18: scR-Fc 3**
- [0596] scR-Fc 3에서, 단일쇄 림팩신 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 7 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. scR-Fc 1과는 달리, 이 구조물은 A 쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0597] **실시예 19: scR-Fc 4**
- [0598] scR-Fc 4에서, 단일쇄 림팩신 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 10 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. scR-Fc 1과는 달리, 이 구조물은 A 쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0599] **실시예 20: scR-Fc 5**
- [0600] scR-Fc 5에서, 단일쇄 림팩신 scR4의 N 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 4 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. Fc 부분은 A 쇄의 N 말단 종결부에서 Myc 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.
- [0601] **실시예 21: scR-Fc 6**
- [0602] scR-Fc 6에서, 단일쇄 림팩신 scR4의 N 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 7 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. Fc

부분은 A쇄의 N 말단 종결부에서 Myc 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.

[0603] 실시예 22: scR-Fc 7

scR-Fc 7에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 N 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 10 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. Fc 부분은 A쇄의 N 말단 종결부에서 Myc 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.

[0605] 실시예 23: scR-Fc 8

scR-Fc 8에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 4 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 C 말단 종결부에 첨가된다. scR4와는 대조적으로, 이 구조물은 A쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다.

[0607] 실시예 24: scR-Fc 9

scR-Fc 9에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 7 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 C 말단 종결부에 첨가된다. scR4와는 대조적으로, 이 구조물은 A쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다.

[0609] 실시예 25: scR-Fc 10

scR-Fc 10에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 10 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 C 말단 종결부에 첨가된다. scR4와는 대조적으로, 이 구조물은 A쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다.

[0611] 실시예 26: scR-Fc 11

scR-Fc 11에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 N 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 4 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 N 말단 종결부에 첨가된다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 Myc 태그를 대체시킨다. 추가로, 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.

[0613] 실시예 27: scR-Fc 12

scR-Fc 12에서, 단일쇄 틸렉신 scR1의 N 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 7 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 N 말단 종결부에 첨가된다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 Myc 태그를 대체시킨다. 추가로, 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.

[0615] 실시예 28: scR-Fc 13

scR-Fc 13에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 N 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 C 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 10 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 6 히스티딘 태그가 Fc 부분의 N 말단 종결부에 첨가된다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 Myc 태그를 대체시킨다. 추가로, 이 구조물은 그의 C 말단 종결부에 헤마글루티닌 태그 및/또는 6 히스티딘 태그를 갖지 않는다.

[0617] 실시예 29: scR-Fc 14

단일쇄 틸렉신 변이체와 Fc 부분을 연결시키는 링커 서열의 영향을 분석하기 위해서, scR-Fc 14에서 서열 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1의 Fc 부분에 직접 융합시켰다. 이 Fc 부분은 scR4에서 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 A쇄의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.

- [0619] **실시예 30: scR-Fc 15**
- [0620] scR-Fc 15에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 6 개의 아미노산이고, 서열 GlySerGlySerGlySer를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 인간 IgG1 Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 A 쇠의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0621] **실시예 31: scR-Fc 16**
- [0622] scR-Fc 16은 단백질 발현 및 융합 단백질 활성화에 대한 Fc 부분 내의 디설파이드 브릿지의 영향을 분석하기 위해서 디자인되었다. 이를 위해, scR-Fc 15에서 인간 IgG1의 Fc 부분 내의 위치 86에서 시스테인 잔기를 알라닌으로 대체시켰다.
- [0623] **실시예 32: scR-Fc 17**
- [0624] scR-Fc 17에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 랫트 IgG2b Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 6 개의 아미노산이고, 서열 GlySerGlySerGlySer를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 랫트 IgG2b Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 A 쇠의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0625] **실시예 33: scR-Fc 18**
- [0626] scR-Fc 18에서, 단일쇄 틸렉신 scR4의 C 말단 종결부를 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부와 연결시키는 링커 서열의 조성은 길이가 21 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyThrLysValThrValSerSerGluSerLysTyrGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 인간 IgG1 Fc 부분은 헤마글루티닌 태그 및 6 히스티딘 태그를 대체시킨다. 이 구조물은 A 쇠의 N 말단 종결부에 Myc 태그를 갖지 않는다.
- [0627] **실시예 34: scR-Var1**
- [0628] scR-Var1에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 길이가 6 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlySerGlyCysGly를 갖는 폴리펩타이드가 B 쇠의 C 말단 종결부에 첨가되었다. 비-PEGyl화 융합 폴리펩타이드의 활성 시험을 위해서 비-정제된 단백질이 사용되었다.
- [0629] 이 구조물의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서, B 쇠의 C 말단 종결부에서 융합된 스트레처 폴리펩타이드 내의 시스테인의 PEGyl화가 상술한 바와 같은 프로토콜에 따라 수행된다. PEGyl화 변이체의 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0630] **실시예 35: scR-Var2**
- [0631] scR-Var2에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠 및 B 쇠를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. 추가로, 길이가 6 개의 아미노산이고, 서열 GlyCysGlySerGlyGly를 갖는 폴리펩타이드가 A 쇠의 N 말단 종결부에 첨가되었다. 비-PEGyl화 융합 폴리펩타이드의 활성 시험을 위해서 비-정제된 단백질이 사용되었다.
- [0632] 이 구조물의 생물학적 반감기를 개선시키기 위해서, A 쇠의 N 말단 종결부에서 융합된 스트레처 폴리펩타이드 내의 시스테인의 PEGyl화가 상술한 바와 같은 프로토콜에 따라 수행된다. PEGyl화 변이체의 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0633] **실시예 36: scR-Var3**
- [0634] scR-Var3에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠의 C 말단 종결부와 B 쇠의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. A 쇠의 N 말단 종결부에서, 옹고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드는 이 변이체를 인간 트랜스페린 단백질 (accession number NP_001054.1)의 C 말단 종결부와 연결시킨다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0635] **실시예 37: scR-Var4**

- [0636] scR-Var4에서는 야생형 프로틸렉신 2 (계놈 조직)를 트랜스페린에 융합시킨다. 이를 위해서, B 쇠의 N 말단 종결부에서 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드는 이 변이체를 인간 트랜스페린 단백질 (accession number NP_001054.1)의 C 말단 종결부와 연결시킨다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0637] **실시예 38: scR-Var5**
- [0638] scR-Var5에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠의 C 말단 종결부와 B 쇠의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다. A 쇠의 N 말단 종결부에서, 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드는 이 변이체를 인간 알부민 단백질 (accession number NP_000468.1)의 C 말단 종결부와 연결시킨다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0639] **실시예 39: scR-Var6**
- [0640] scR-Var6에서, B 쇠의 N 말단 종결부에 위치하는 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드는 이 변이체를 인간 알부민 단백질 (accession number NP_000468.1)의 C 말단 종결부와 연결시킨다. 활성은 상술한 프로토콜에 따라 측정된다.
- [0641] **실시예 40: scR-Var7**
- [0642] scR-Var7에서, 인간 틸렉신 2의 A 쇠의 C 말단 종결부와 인간 틸렉신 2의 B 쇠의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다.
- [0643] B 쇠의 C 말단 종결부와 인간 IgG1 Fc 부분의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열은 길이가 6 개의 아미노산이고, 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다.
- [0644] **실시예 41: scR-Var8**
- [0645] scR-Var8에서, A 쇠의 C 말단 종결부와 B 쇠의 N 말단 종결부를 연결하는 링커 서열의 조성은 길이가 9 개의 아미노산이고, 서열 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다.
- [0646] A 쇠의 N 말단 종결부와 인간 IgG1 Fc 부분의 C 말단 종결부를 연결하는 링커 서열은 길이가 6 개의 아미노산이고, 응고 인자 Xa 분해 부위를 코드화한 서열 IleGluGlyArgMetAsp를 갖는 폴리펩타이드로 구성된다.
- [0647] 모든 단일쇄 틸렉신 융합 단백질뿐만 아니라 PEGyl화를 위해서 디자인된 변이체의 그래프적 표현은 도 3에 제시된다.
- [0648] 표 2는 다양한 scR 융합 단백질 구조물의 발현뿐만 아니라 생물학적 활성에 관한 결과를 요약한 것이다.

표 2

클론	발현	EC ₅₀ (M)*
릴렉신		3,50E-11
릴렉신 Fc	검출 가능	검출 불가능
scR-Fc 1	검출 가능	1,30E-08
scR-Fc 2	검출 가능	3,30E-09
scR-Fc 3	검출 가능	2,40E-09
scR-Fc 4	검출 가능	3,10E-09
scR-Fc 5	검출 가능	1,30E-10
scR-Fc 6	검출 가능	4,20E-10
scR-Fc 7	검출 가능	7,40E-10
scR-Fc 8	검출 가능	7,20E-09
scR-Fc 9	검출 가능	9,90E-09
scR-Fc 10	검출 가능	4,80E-09
scR-Fc 11	검출 가능	1,20E-09
scR-Fc 12	검출 가능	9,50E-10
scR-Fc 13	검출 가능	8,90E-10
scR-Fc 14	검출 가능	3,90E-07
scR-Fc 15	검출 가능	3,40E-09
scR-Fc 16	검출 가능	2,50E-09
scR-Fc 17	검출 가능	2,50E-09
scR-Fc 18	검출 가능	활성 (EC ₅₀ n.d.)
scR-Var1	검출 가능	1,10E-07
scR-Var2	검출 가능	4,20E-08
scR-Var3	검출 가능	1,00E-09
scR-Var4	검출 가능	1,30E-10
scR-Var5	검출 가능	5,50E-09
scR-Var6	검출 가능	8,30E-09
scR-Var7	검출 가능	활성 (EC ₅₀ n.d.)
scR-Var8	검출 가능	활성 (EC ₅₀ n.d.)

[0649]

[0650]

* 값은 3 내지 5 개의 독립적인 실험의 예이다.

[0651]

열거된 모든 변이체에 대해서, 발현은 인간 릴렉신-2 퀀티킨 (Quantikine) ELISA 키트를 사용하여 결정될 수 있으며, 활성은 CHO-CRE-LGR7 세포주를 사용함으로써 측정될 수 있다. 예시적으로, scR-Fc 1, scR-Fc 5 내지 scR-Fc 7, scR-Fc 11 내지 scR-Fc 13, 및 scR-Var3 내지 scR-Var6에 대한 용량 반응 곡선은 각각 도 5, 도 6, 도 7, 및 도 8에 나타내었다.

[0652]

인간 IgG 분자의 Fc 부분에 융합된 그의 배향 B 쇠 - C 쇠 - A 쇠를 갖는 인간 야생형 릴렉신 2 분자는 어떤 검출가능한 활성도 나타내지 않는다. 이 분자의 비-활성에 대한 가능한 설명은 C 쇠의 불완전한 처리일 수 있었다. 그에 반해, 단일쇄 인간 릴렉신 2를 함유하는 모든 융합 구조물에서는 상당한 활성이 검출될 수 있다. 상기에 나타난 바와 같이, 단일쇄 릴렉신은 인간 야생형 릴렉신 2와 동등한 활성을 나타내지만, 단백분해적 처리는 일어나지 않는다.

[0653]

단일쇄 릴렉신 2 융합 구조물의 경우에, Fc 부분의 배향은 이들 분자의 활성에 상당한 영향을 갖는 것으로 보인다. B 쇠의 C 말단 종결부에 Fc 부분을 갖는 구조물 (예를 들어, scR-Fc 1 내지 scR-Fc 4 및 scR-Fc 13 내지 scR-Fc 18)은 A 쇠의 N 말단 종결부에 Fc 부분을 갖는 구조물 (예를 들어, scR-Fc 5 내지 scR-Fc 6 및 scR-Fc 11 내지 scR-Fc 12)보다 약간 더 낮은 활성을 나타낸다. 상기 언급된 바와 같이, 상응하는 수용체 LGR7의 엑토 도메인에 대한 A 쇠의 결합 후에, 수용체 분자 내에서의 배와 변화는 경막 영역의 세포외 루프와 접촉하는 B 쇠를 제공한다. 그 후에, 제2 단계는 수용체의 활성화를 유도한다. 따라서, B 쇠에 커플링된 Fc 부분은 B 쇠의 최적 결합을 억제할 수 있었고, 이에 의해서 수용체의 완전한 활성화를 억제한다.

[0654]

Fc-단일쇄 릴렉신의 생체내 혈장 안정성의 분석

[0655]

scR-Fc 13 및 h릴렉신2를 240 µg/kg의 농도로 8 주령의 수컷 위스타 랫트 (Wistar rat)에게 정맥내로 투여하였다. 화합물 투여 후의 0 시간, 1 시간, 3일, 5일, 및 7일의 시점에 혈액 샘플을 취하고, Fc-단일쇄 릴렉신 및 비-변형 h릴렉신2의 농도를 상업적으로 이용할 수 있는 정량화 ELISA (R&D Systems, Human Relaxin-2

Quantikine ELISA Kit, catalogue number DRL200)를 사용하여 결정하였다.

[0656] 도 9에 나타난 바와 같이, 적용한 지 3일 후에 비-변형 h틸렉신2는 검출이 불가능하였으며, 그 반면에 scR-Fc13의 경우에는 정맥내 투여한 지 7일 후에조차도 CHO-LGR7 기본 활성 시험에 대해서 수득된 EC50 값 이상인 상당한 농도가 검출되었다.

[0657] **혈장으로부터 분리된 Fc-단일쇄 틸렉신 활성의 결정**

[0658] scR-Fc 13이 정맥내 투여한 지 3, 5, 및 7일 후에도 여전히 활성을 나타내는지 여부를 결정하기 위해서, 혈장 샘플을 CHO-CRE-LGR7 세포주 상에서 시험하였다. 도 10에 나타난 바와 같이, 3 개의 샘플 모두에 대한 활성이 결정될 수 있었으며, 3 개의 샘플 모두에 대한 활성값은 정제된 scR-Fc 13 변이체에 의해서 수득된 EC₅₀ 값과 유사하다.

[0659] **분리된 관류 랫트 심장**

[0660] 수컷 위스타 랫트 (200-250 g)를 나르코렌 (Narcoren; 100 mg/kg, i.p.)을 사용하여 마취시켰다. 심장을 빠르게 절제하여 랑겐도르프 (Langendorff) 관류 시스템 (FMI GmbH, Seeheim-Ober Beerbach, Germany)에 연결시켰다. 심장을 95% O₂ - 5% CO₂로 평형화시킨 크렙스-헨셀라이트 (Krebs-Henseleit) 비카보네이트 완충 용액에 의해서 10 ml/분의 항속으로 관류시켰다. 관류 용액은 다음을 함유하였다 (mmol/l 로): NaCl 118; KCl 3; NaHCO₃ 22; KH₂PO₄ 1.2; MgSO₄ 1.2; CaCl₂ 1.8; 글루코즈 10; Na-피루바트 2. 압력 변환기는 관류 시스템에서 관류 압력을 기록하였다. 좌심실압 (LVP)은 좌심방을 통해서 좌심실 내로 삽입된 물-충만 풍선에 연결된 제2 압력 변환기를 사용하여 측정되었다. 말단 확장기 압력은 우선 풍선의 용적을 조정함으로써 8 mmHg로 설정하였다. 심장은 자발적으로 박동하였다. 압력 변환기로부터의 시그날을 증폭시키고, 기록하고, 개인용 컴퓨터에 의한 심박수 및 +dp/dt의 계산에 사용하였다.

[0661] 도 11에 나타난 바와 같이, 인간 틸렉신 2 (도 11a-d)뿐만 아니라 scR-Fc 13 (도 11e-h)의 관류는 심박수 및 관상동맥 혈류의 상당한 증가 및 좌심실 확장기 압력 및 좌심실 압력 (+dp/dtmax)의 감소를 유도한다. 이에 의해, h틸렉신 2는 scR-Fc 13보다 10 배 이상 더 강력하며, 이것은 CHO-CRE-LGR7 세포주에 의해서 결정된 sc 틸렉신 융합 단백질 변이체 및 틸렉신 2에 대한 EC50 값의 차이를 반영한다.

[0662] [표 5]

[0663] 구조물 및 상응하는 SEQ ID NOs.의 리스트

구조물	타입	SEQ ID NO
scr1	PRT	SEQ ID NO:1
scr2	PRT	SEQ ID NO:2
scr3	PRT	SEQ ID NO:3
scr4	PRT	SEQ ID NO:4
scr5	PRT	SEQ ID NO:5
scr6	PRT	SEQ ID NO:6
scr7	PRT	SEQ ID NO:7
scr8	PRT	SEQ ID NO:8
scr9	PRT	SEQ ID NO:9
scr10	PRT	SEQ ID NO:10
scr11	PRT	SEQ ID NO:11
scr12	PRT	SEQ ID NO:12
scr13	PRT	SEQ ID NO:13
scr14	PRT	SEQ ID NO:14
scr15	PRT	SEQ ID NO:15
scr-Fc 1	PRT	SEQ ID NO:16
scr-Fc 2	PRT	SEQ ID NO:17
scr-Fc 3	PRT	SEQ ID NO:18
scr-Fc 4	PRT	SEQ ID NO:19
scr-Fc 5	PRT	SEQ ID NO:20
scr-Fc 6	PRT	SEQ ID NO:21
scr-Fc 7	PRT	SEQ ID NO:22
scr-Fc 8	PRT	SEQ ID NO:23
scr-Fc 9	PRT	SEQ ID NO:24
scr-Fc 10	PRT	SEQ ID NO:25
scr-Fc 11	PRT	SEQ ID NO:26
scr-Fc 12	PRT	SEQ ID NO:27
scr-Fc 13	PRT	SEQ ID NO:28
scr-Fc 14	PRT	SEQ ID NO:29
scr-Fc 15	PRT	SEQ ID NO:30
scr-Fc 16	PRT	SEQ ID NO:31
scr-Fc 17	PRT	SEQ ID NO:32
scr-Fc 18	PRT	SEQ ID NO:33
scr-Var1	PRT	SEQ ID NO:34
scr-Var2	PRT	SEQ ID NO:35
scr-Var3	PRT	SEQ ID NO:36
scr-Var4	PRT	SEQ ID NO:37
scr-Var5	PRT	SEQ ID NO:38
scr-Var6	PRT	SEQ ID NO:39
scr-Var7	PRT	SEQ ID NO:40
scr-Var8	PRT	SEQ ID NO:41
scr1 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:42
scr2 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:43
scr3 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:44
scr4 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:45
scr5 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:46
scr6 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:47
scr7 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:48
scr8 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:49
scr9 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:50
scr10 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:51
scr-Fc 1 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:52
scr-Fc 8 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:53

[0664]

scR-Fc 9 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:54
scR-Fc 10 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:55
scR-Fc 11 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:56
scR-Fc 12 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:57
scR-Fc 13 w/o Tag	PRT	SEQ ID NO:58
scR1	DNA	SEQ ID NO:59
scR2	DNA	SEQ ID NO:60
scR3	DNA	SEQ ID NO:61
scR4	DNA	SEQ ID NO:62
scR5	DNA	SEQ ID NO:63
scR6	DNA	SEQ ID NO:64
scR7	DNA	SEQ ID NO:65
scR8	DNA	SEQ ID NO:66
scR9	DNA	SEQ ID NO:67
scR10	DNA	SEQ ID NO:68
scR11	DNA	SEQ ID NO:69
scR12	DNA	SEQ ID NO:70
scR13	DNA	SEQ ID NO:71
scR14	DNA	SEQ ID NO:72
scR15	DNA	SEQ ID NO:73
scR-Fc 1	DNA	SEQ ID NO:74
scR-Fc 2	DNA	SEQ ID NO:75
scR-Fc 3	DNA	SEQ ID NO:76
scR-Fc 4	DNA	SEQ ID NO:77
scR-Fc 5	DNA	SEQ ID NO:78
scR-Fc 6	DNA	SEQ ID NO:79
scR-Fc 7	DNA	SEQ ID NO:80
scR-Fc 8	DNA	SEQ ID NO:81
scR-Fc 9	DNA	SEQ ID NO:82
scR-Fc 10	DNA	SEQ ID NO:83
scR-Fc 11	DNA	SEQ ID NO:84
scR-Fc 12	DNA	SEQ ID NO:85
scR-Fc 13	DNA	SEQ ID NO:86
scR-Fc 14	DNA	SEQ ID NO:87
scR-Fc 15	DNA	SEQ ID NO:88
scR-Fc 16	DNA	SEQ ID NO:89
scR-Fc 17	DNA	SEQ ID NO:90
scR-Fc 18	DNA	SEQ ID NO:91
scR-Var1	DNA	SEQ ID NO:92
scR-Var2	DNA	SEQ ID NO:93
scR-Var3	DNA	SEQ ID NO:94
scR-Var4	DNA	SEQ ID NO:95
scR-Var5	DNA	SEQ ID NO:96
scR-Var6	DNA	SEQ ID NO:97
scR-Var7	DNA	SEQ ID NO:98
scR-Var8	DNA	SEQ ID NO:99
scR1 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:100
scR2 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:101
scR3 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:102
scR4 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:103
scR5 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:104
scR6 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:105
scR7 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:106

[0665]

scR8 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:107
scR9 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:108
scR10 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:109
scR-Fc 1 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:110
scR-Fc 8 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:111
scR-Fc 9 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:112
scR-Fc 10 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:113
scR-Fc 11 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:114
scR-Fc 12 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:115
scR-Fc 13 w/o Tag	DNA	SEQ ID NO:116
RLN2 A chain	PRT	SEQ ID NO:117
RLN2 최소 A쇄	PRT	SEQ ID NO:118
RLN2 B쇄	PRT	SEQ ID NO:119
Fc IgG1 인간	PRT	SEQ ID NO:120
Fc IgG2b 랫트	PRT	SEQ ID NO:121
트래스페린	PRT	SEQ ID NO:122
알부민	PRT	SEQ ID NO:123
RLN3 A쇄	PRT	SEQ ID NO:124
RLN3 B쇄	PRT	SEQ ID NO:125
RLN3 최소 A쇄	PRT	SEQ ID NO:126
RLN2 A쇄	DNA	SEQ ID NO:127
RLN2 최소 A쇄	DNA	SEQ ID NO:128
RLN2 B쇄	DNA	SEQ ID NO:129
Fc IgG1 인간	DNA	SEQ ID NO:130
Fc IgG2b 랫트	DNA	SEQ ID NO:131
트래스페린	DNA	SEQ ID NO:132
알부민	DNA	SEQ ID NO:133
RLN3 A쇄	DNA	SEQ ID NO:134
RLN3 B쇄	DNA	SEQ ID NO:135
RLN3 최소 A쇄	DNA	SEQ ID NO:136
링커 1	PRT	SEQ ID NO:137
링커 2	PRT	SEQ ID NO:138
링커 3	PRT	SEQ ID NO:139
링커 4	PRT	SEQ ID NO:140
링커 5	PRT	SEQ ID NO:141
링커 6	PRT	SEQ ID NO:142
링커 7	PRT	SEQ ID NO:143
링커 8	PRT	SEQ ID NO:144
링커 9	PRT	SEQ ID NO:145
링커 10	PRT	SEQ ID NO:146
스트레처 1	PRT	SEQ ID NO:147
스트레처 2	PRT	SEQ ID NO:148
스트레처 3	PRT	SEQ ID NO:149
스트레처 4	PRT	SEQ ID NO:150
스트레처 5	PRT	SEQ ID NO:151
scR16	PRT	SEQ ID NO:152
scR17	PRT	SEQ ID NO:153
scR18	PRT	SEQ ID NO:154
scR19	PRT	SEQ ID NO:155
scR20	PRT	SEQ ID NO:156
scR16	DNA	SEQ ID NO:157
scR17	DNA	SEQ ID NO:158
scR18	DNA	SEQ ID NO:159
scR19	DNA	SEQ ID NO:160
scR20	DNA	SEQ ID NO:161

[0666]

[0667]

추가된 인용문헌:

[0668]

Hsu, S. Y. (2003). New insights into the evolution of the relaxin-LGR signaling system. Trends Endocrinol Metab 14:303-309;

[0669]

Wilkinson, T. N., Speed, T. P., Tregear, G. W., Bathgate, R. A. (2005). Evolution of the relaxin-like peptide family. BMC Evol Biol 5:14).

[0670]

Hudson P, Haley J, John M, Cronk M, Crawford R, Haralambidis J, Tregear G, Shine J, Niall H. (1983) Structure of a genomic clone encoding biologically active human relaxin. Nature 301: 628-631;

[0671]

Toth, M., Taskinen, P., & Ruskoaho, H. (1996). Relaxin stimulates atrial natriuretic peptide secretion in perfused rat heart. J Endocrinol 150: 487-495).

[0672]

Piedras-Renteria, E. S., Sherwood, O. D., and Best, P. M. (1997). Effects of relaxin on rat atrial myocytes: I. Inhibition of I(to) via PKA-dependent phosphorylation. Am J Physiol 272:H1791-H1797).

[0673]

Bartsch, O., Bartlick, B., and Ivell, R. (2001). Relaxin signaling links tyrosine phosphorylation to

phosphodiesterase and adenylyl cyclase activity. *Mol Hum Reprod* 7:799-809;

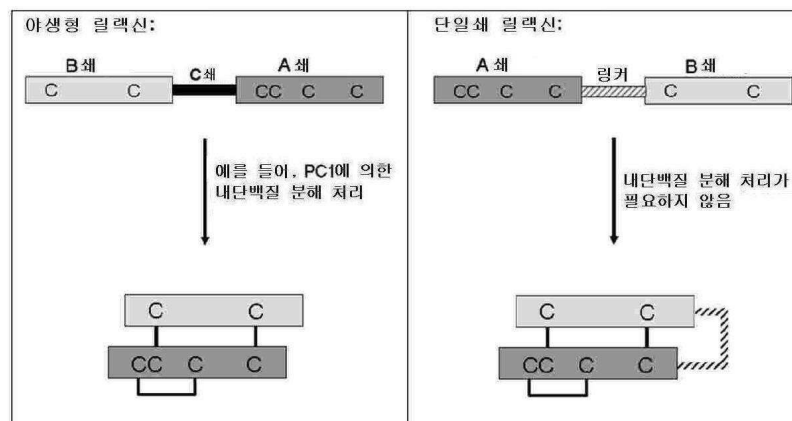
- [0674] Bartsch, O., Bartlick, B., and Ivell, R. (2004). Phosphodiesterase 4 inhibition synergizes with relaxin signaling to promote decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 89:324-334;
- [0675] Bani-Sacchi, T., Bigazzi, M., Bani, D., Mannaioni, P. F., and Masini, E. (1995) Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br J Pharmacol* 116:1589-1594.),
- [0676] Dschietzig T, Bartsch C, Baumann G, Stangl K. (2006) Relaxin - a pleiotropic hormone and its emerging role for experimental and clinical therapeutics. *Pharmacol. Ther.* 112:38-36)
- [0677] McGuane JT, Parry LJ. (2005) Relaxin and the extracellularmatrix: Molecular mechanisms of action and implications for cardiovascular disease. *Expert. Rev. Mol.Med.* 7:1-18;
- [0678] Nistri, S., Chiappini, L., Sassoli, C. and Bani, D. (2003) Relaxin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to coronary endothelial cells by a nitric oxide-mediated mechanism. *FASEB J.* 17:2109-2111;
- [0679] Perna AM, Masini E, Nistri S, Briganti V, Chiappini L, Stefano P, Bigazzi M, Pieroni C, Bani Sacchi T, Bani D. (2005) Novel drug development opportunity for relaxin in acute myocardial infarction: evidences from a swine model. *FASEB J.* 19:1525-1527
- [0680] Bani, D., Masini, E., Bello, M. G., Bigazzi, M. and Sacchi, T. B. (1998) Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *Am. J. Pathol.* 152:1367-1376;
- [0681] Zhang J, Qi YF, Geng B, Pan CS, Zhao J, Chen L, Yang J, Chang JK, Tang CS. (2005) Effect of relaxin on myocardial ischemia injury induced by isoproterenol. *Peptides* 26:1632-1639
- [0682] Teerlink JR, Metra M, Felker GM, Ponikowski P, Voors AA, Weatherley BD, Marmor A, Katz A, Grzybowski J, Unemori E, Teichman SL, Cotter G. (2009) Relaxin for the treatment of patients with acute heart failure (Pre-RELAX-AHF): a multicentre, randomised, placebo-controlled, parallel-group, dose-finding phase IIb study. *Lancet.* 373:1429-39;
- [0683] Metra M, Teerlink JR, Felker GM, Greenberg BH, Filippatos G, Ponikowski P, Teichman SL, Unemori E, Voors AA, Weatherley BD, Cotter G. (2010) Dyspnoea and worsening heart failure in patients with acute heart failure: results from the Pre-RELAX-AHF study. *Eur J Heart Fail.* 12:1130-1139).
- [0684] Cosen-Binker LI, Binker MG, Cosen R, Negri G, Tiscornia O. (2006) Relaxin prevents the development of severe acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol.* 12:1558-1568;
- [0685] Santora K, Rasa C, Visco D, Steinetz BG, Bagnell CA. (2007) Antiarthritic effects of relaxin, in combination with estrogen, in rat adjuvant induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 322:887-893
- [0686] Bennett RG. (2009) Relaxin and its role in the development and treatment of fibrosis. *Transl Res.* 154:1-6
- [0687] Barlos KK, Gatos D, Vasileiou Z, Barlos K. (2010) An optimized chemical synthesis of human relaxin-2. *J Pept Sci.* 16:200-211.
- [0688] Park JI, Semyonov J, Yi W, Chang CL, Hsu SY (2008) Regulation of receptor signaling by relaxin A chain motifs: derivation of pan-specific and LGR7-specific human relaxin analogs. *J Biol Chem.* 283:32099-32109
- [0689] Shaw JA, Delday MI, Hart AW, Docherty HM, Maltin CA, Docherty K (2002) Secretion of bioactive human insulin following plasmid-mediated gene transfer to non-neuroendocrine cell lines, primary cultures and rat skeletal muscle in vivo. *J Endocrinol* 172:653-672
- [0690] Rajpal G, Liu M, Zhang Y, Arvan P, (2009) Single-Chain Insulins as Receptor Agonists. *Mol Endocrinol.*

23:679-88

- [0691] Dschietzig T, Teichmann S, Unemori E, Wood S, Boehmer J, Richter C, Baumann G, Stangl K (2009) Intravenous Recombinant Human Relaxin in Compensated Heart Failure: A Safety, Tolerability, and Pharmacodynamic Trial. J Cardiac Fail 5:182-190
- [0692] WO2006053299 A2, Site-directed modification of FVIII, Bayer Healthcare LLC;
- [0693] Harris JM, Martin NE, Modi M. (2001) Pegylation: a novel process for modifying pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet. 40:539-551.
- [0694] Schmid SR, (2009) Fusion-proteins as biopharmaceuticals--applications and challenges. Curr Opin Drug Discov Devel.12:284-95.
- [0695] Pasut and Veronese (2009) PEGylation for improving the effectiveness of therapeutic biomolecules. Drugs Today 45:687-695
- [0696] WO 97/26265
- [0697] WO 99/03861
- [0698] WO 00/06568
- [0699] WO 00/06569
- [0700] WO 02/42301
- [0701] WO 03/095451
- [0702] WO 01/19355
- [0703] WO 01/19776
- [0704] WO 01/19778
- [0705] WO 01/19780
- [0706] WO 02/070462
- [0707] WO 02/070510

도면

도면1



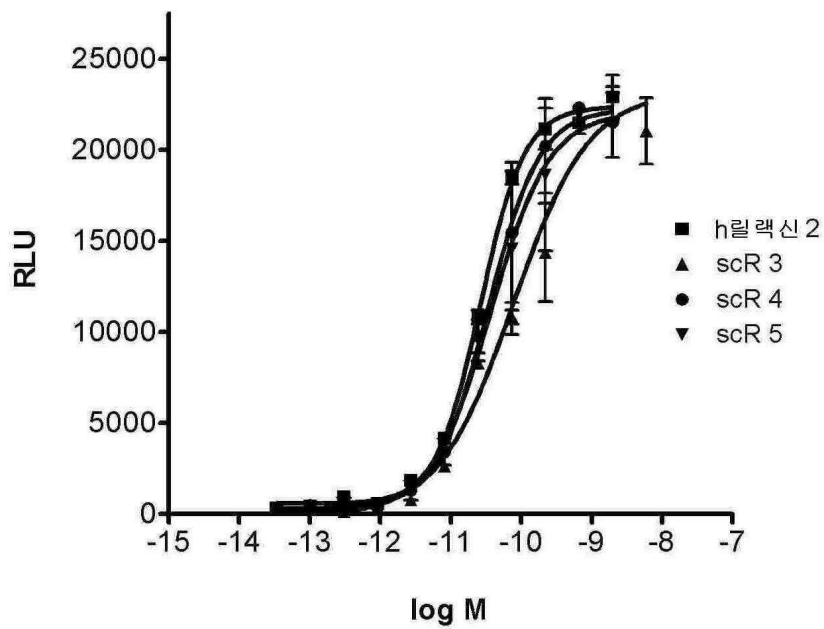
도면2

클론	구조물
h릴렉신 2	B C A
scR1	Myc A 3aaGS B FXa HA His
scR2	Myc A 5aaGS B FXa HA His
scR3	Myc A 7aaGS B FXa HA His
scR4	Myc A 9aaGS B FXa HA His
scR5	Myc A 11aaGS B FXa HA His
scR6	Myc A 15aaGS B FXa HA His
scR7	Myc A 6aaGS B
scR8	Myc A 12aaGS B
scR9	Myc A 13aaGS B
scR10	Myc A 14aaGS B
scR11	A 9aaGS + C B
scR12	A 9aaGS + K B
scR13	A 짧은 링커 B
scR14	A _(RLN3) 9aaGS B _(RLN3)
scR15	Myc A _(RLN3) 9aaGS B _(RLN3)
scR16	Myc B _(RLN2) 9aaGS A _(RLN2)
scR17	Myc A _(RLN3) 9aaGS B _(RLN2)
scR18	Myc B _(RLN2) 9aaGS A _(RLN3)
scR19	Myc A _(RLN2) 9aaGS B _(RLN3)
scR20	Myc B _(RLN3) 9aaGS A _(RLN2)

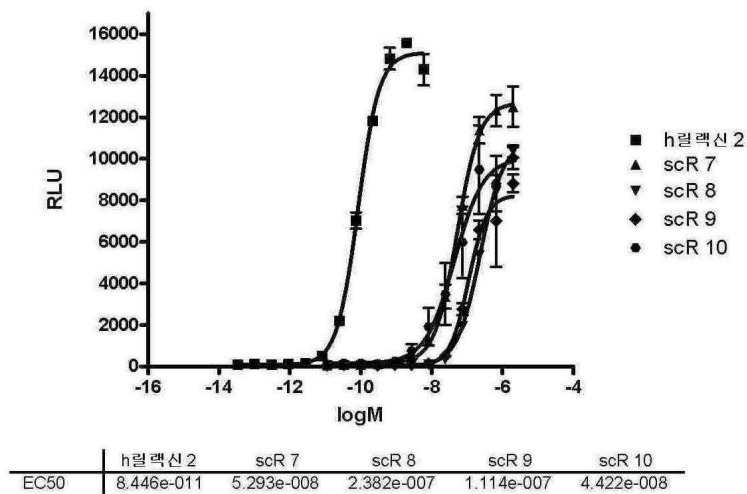
도면3

클론	구조물
릴렉신 Fc	B C A FXa hlgG1 Fc
scR-Fc 1	Myc A 9aaGS B FXa hlgG1 Fc
scR-Fc 2	A 9aaGS B GGSP hlgG1 Fc
scR-Fc 3	A 9aaGS B (GGSP) ₂ hlgG1 Fc
scR-Fc 4	A 9aaGS B (GGSP) ₃ hlgG1 Fc
scR-Fc 5	hlgG1 Fc GGSP A 9aaGS B
scR-Fc 6	hlgG1 Fc (GGSP) ₂ A 9aaGS B
scR-Fc 7	hlgG1 Fc (GGSP) ₃ A 9aaGS B
scR-Fc 8	A 9aaGS B GGSP rlgG2b Fc 6XHis
scR-Fc 9	A 9aaGS B (GGSP) ₂ rlgG2b Fc 6XHis
scR-Fc 10	A 9aaGS B (GGSP) ₃ rlgG2b Fc 6XHis
scR-Fc 11	6XHis rlgG2b Fc GGSP A 9aaGS B
scR-Fc 12	6XHis rlgG2b Fc (GGSP) ₂ A 9aaGS B
scR-Fc 13	6XHis rlgG2b Fc (GGSP) ₃ A 9aaGS B
scR-Fc 14	A 9aaGS B hlgG1 Fc
scR-Fc 15	A 9aaGS B (GS) ₃ hlgG1 Fc
scR-Fc 16	A 9aaGS B (GS) ₃ C del. hlgG1 Fc
scR-Fc 17	A 9aaGS B (GS) ₃ rlgG2b Fc
scR-Fc 18	A 9aaGS B 링커 hlgG1 Fc
scR-Var1	A 9aaGS B PEG 링커
scR-Var2	PEG 링커 A 9aaGS B
scR-Var3	트랜스페린 FXa A 9aaGS B
scR-Var4	트랜스페린 FXa B C A
scR-Var5	알부민 FXa A 9aaGS B
scR-Var6	알부민 FXa B C A
scR-Var7	A 링커 B FXa hlgG1 Fc
scR-Var8	hlgG1 Fc FXa A 링커 B

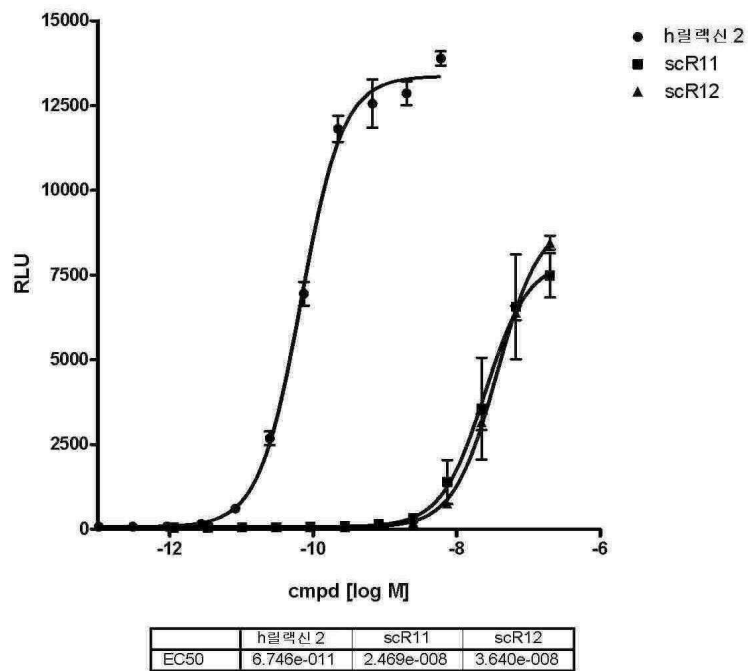
도면4a



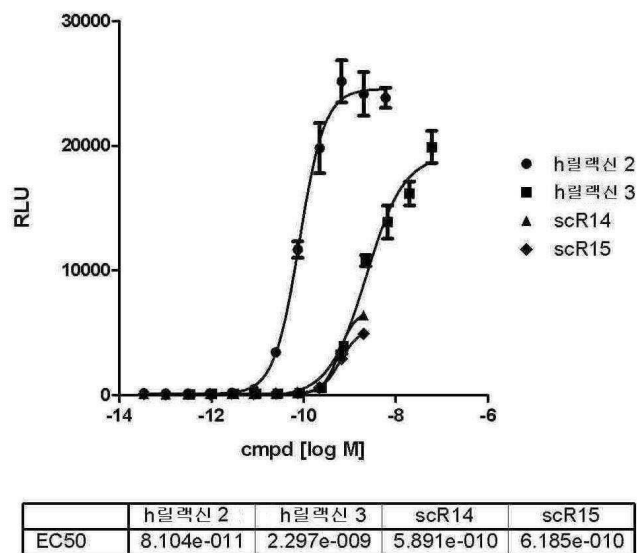
도면4b



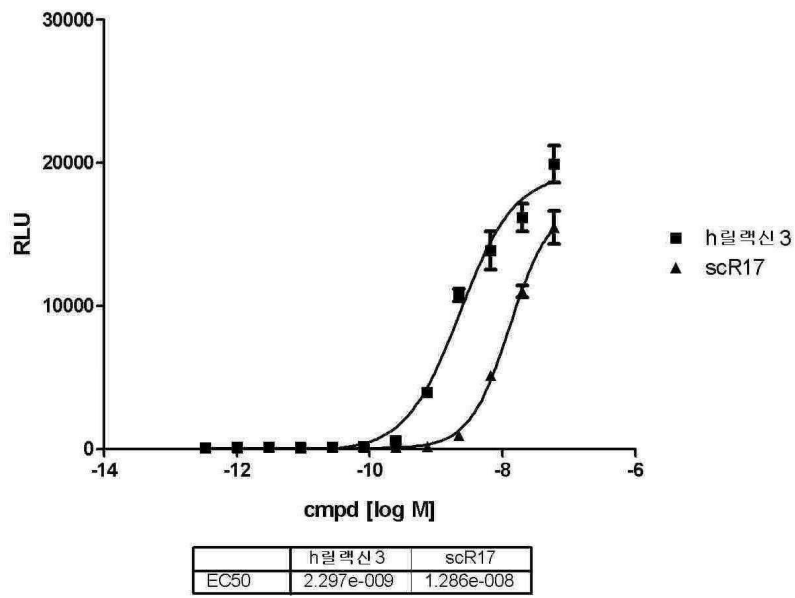
도면4c



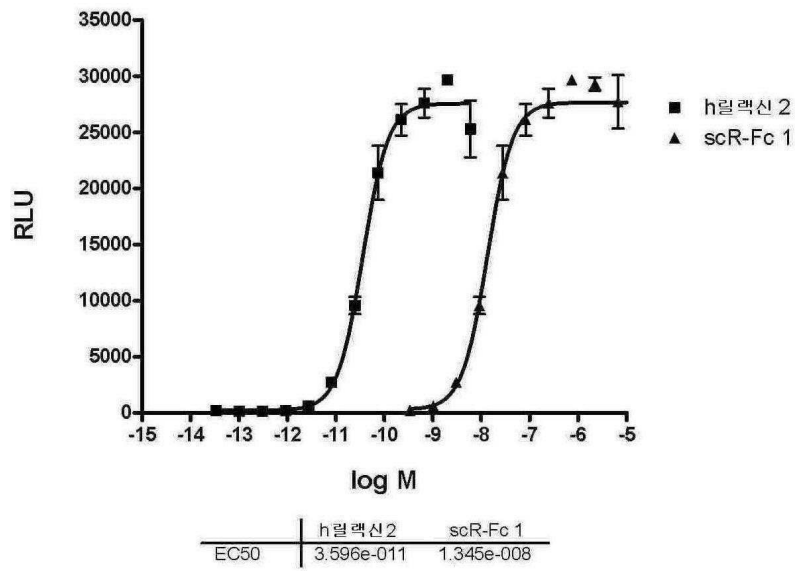
도면4d



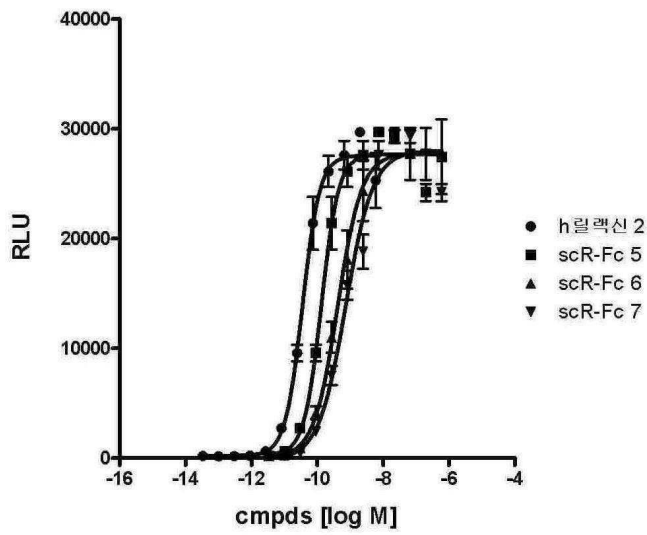
도면4e



도면5

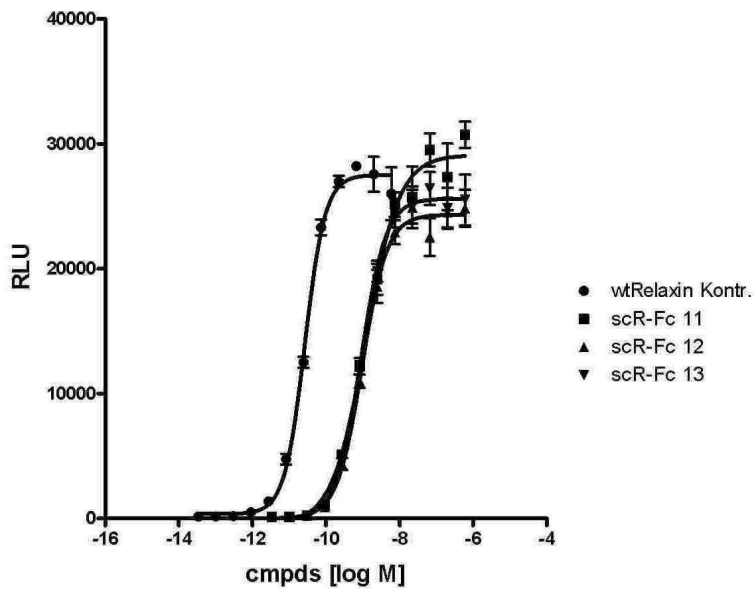


도면6



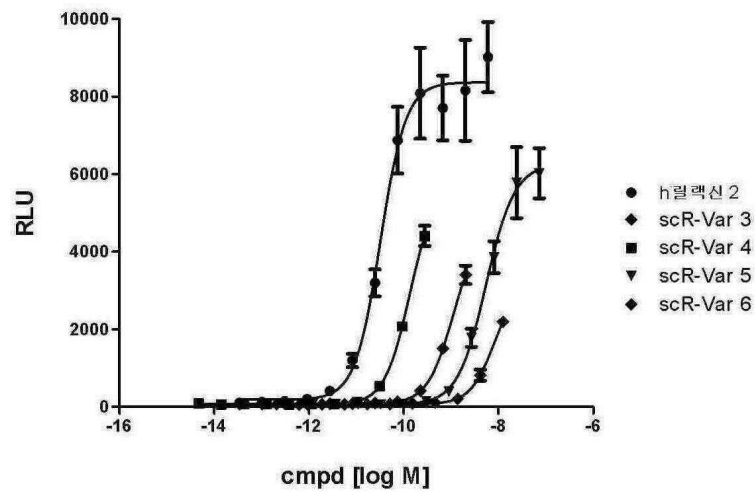
	h릴랙신 2	scR-Fc 5	scR-Fc 6	scR-Fc 7
EC50	3.595e-011	1.346e-010	4.232e-010	7.411e-010

도면7



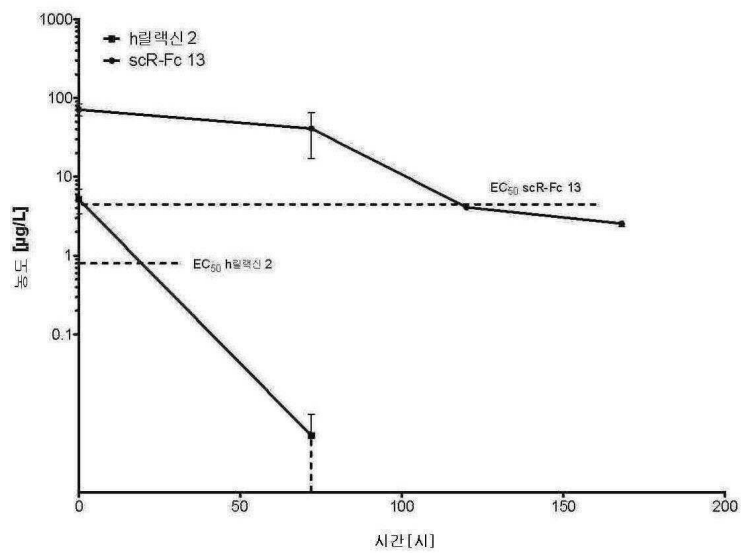
	wtRelaxin Kontr.	scR-Fc 11	scR-Fc 12	scR-Fc 13
EC50	2.664e-011	1.204e-009	9.530e-010	8.953e-010

도면8

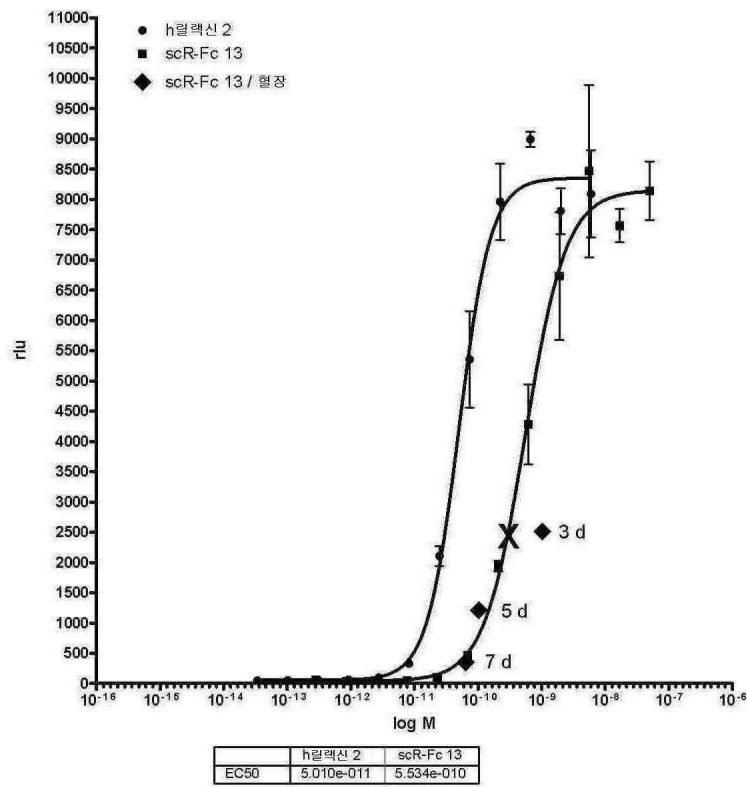


	hIL2	scR-Var 3	scR-Var 4	scR-Var 5	scR-Var 6
EC50	3.243e-011	1.119e-009	1.305e-010	5.508e-009	8.368e-009

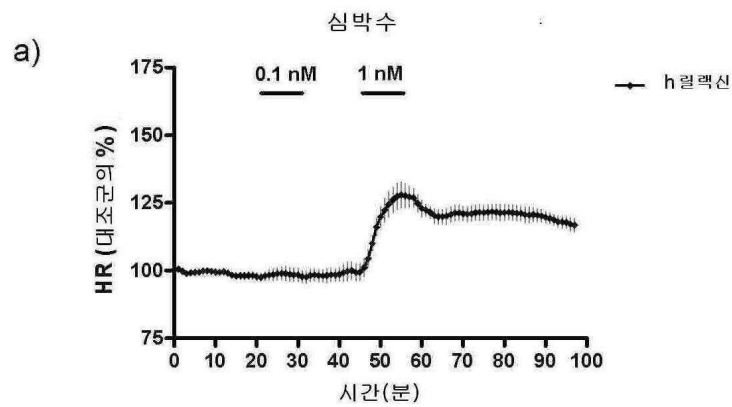
도면9



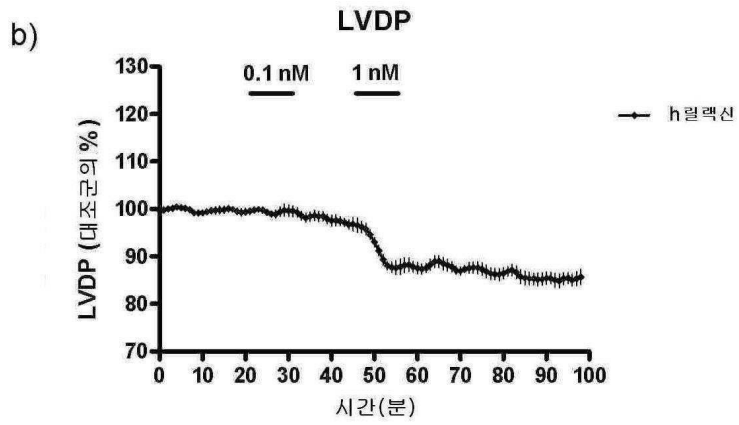
도면10



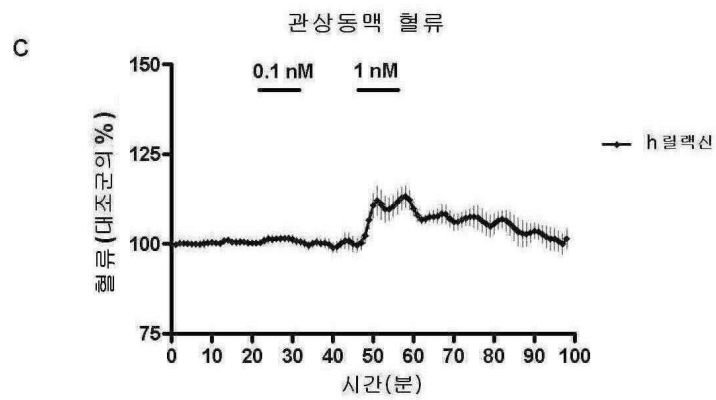
도면11a



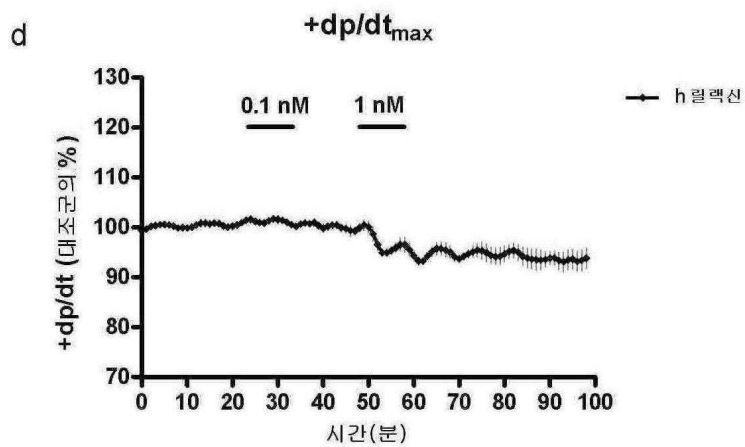
도면11b



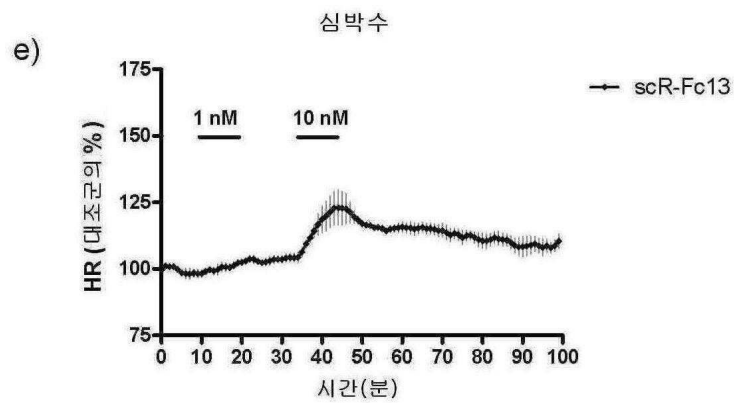
도면11c



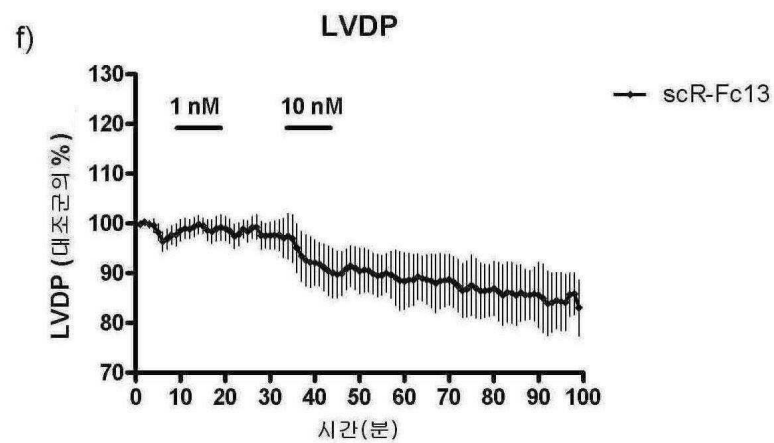
도면11d



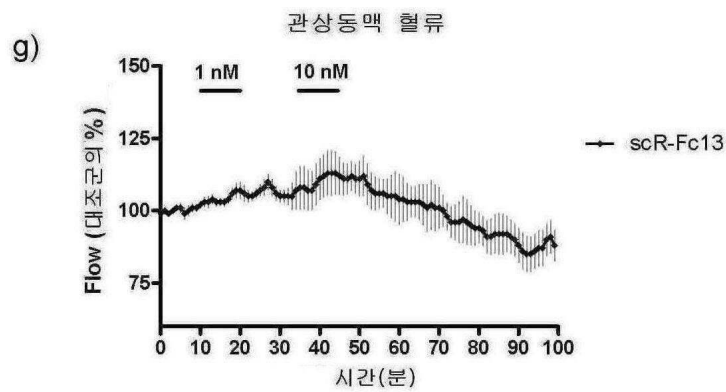
도면11e



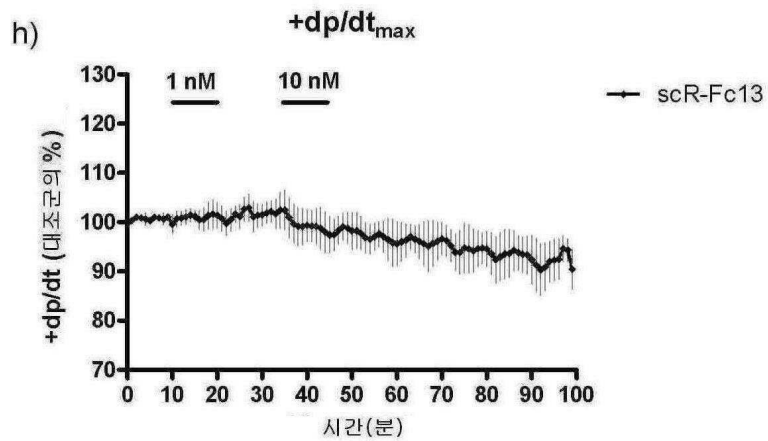
도면11f



도면11g



도면11h



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Bayer Intellectual Property GmbH

<120> Relaxin fusion polypeptides and uses thereof

<130> BHC 11 1 007

<160> 161

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg

20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His His His His

65 70 75 80

<210> 2

<211> 82

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 2

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

1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg

20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu

35 40 45

Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser

50 55 60

Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His His His

65 70 75 80

His His

<210> 3

<211> 84

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 3

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

1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg

20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile

35 40 45

Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly

50 55 60

Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His
 65 70 75 80
 His His His His

<210> 4

<211> 86

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 4

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

 50 55 60
 Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
 65 70 75 80
 His His His His His His
 85

<210> 5

<211> 88

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 5

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

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

<210> 6

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 6

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

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

<210> 7

<211> 68

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 7

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

1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30
Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys
35 40 45
Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met
50 55 60
Ser Thr Trp Ser
65
<210> 8

<211> 74
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 8

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

<210> 9
<211> 75
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 9

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

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser
 35 40 45
 Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala
 50 55 60
 Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 10

<211> 76

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 10

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

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

Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

65 70 75

<210> 11

<211> 62

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 11

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

Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 50 55 60

<210> 12

<211> 62

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 12

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

 35 40 45
 Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

 50 55 60

<210> 13

<211> 61

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 13

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys
 20 25 30

Arg Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55 60

<210> 14

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 14

Asp Val Leu Ala Gly Leu Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser

1 5 10 15

Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25 30

Gly Arg Ala Ala Pro Tyr Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile

35 40 45

Arg Ala Val Ile Phe Thr Cys Gly Gly Ser Arg Trp

50 55 60

<210> 15

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 15

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

1 5 10 15

Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser

20 25 30

Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Arg Ala Ala Pro Tyr

35 40 45

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

50 55 60

Cys Gly Gly Ser Arg Trp

65 70

<210> 16

<211> 308

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 16

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

1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg

20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu

35 40 45

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile

50 55 60

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly Arg Met Asp Pro Lys Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

180 185 190

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
195 200 205

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
210 215 220

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
225 230 235 240

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
245 250 255

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
260 265 270

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
275 280 285

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
290 295 300

Ser Pro Gly Lys
305

<210> 17

<211> 292

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 17

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
50 55 60

Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
65 70 75 80

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 85 90 95
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 100 105 110
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 115 120 125
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 130 135 140
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 145 150 155 160
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 165 170 175
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 180 185 190
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 195 200 205
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 210 215 220
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 225 230 235 240
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 245 250 255
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 260 265 270
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 275 280 285
 Ser Pro Gly Lys
 290
 <210> 18
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25 30
Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45
Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser

50 55 60
Gly Gly Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

65 70 75 80
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

85 90 95
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

100 105 110
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

115 120 125
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

130 135 140
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

145 150 155 160
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

165 170 175
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

180 185 190
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

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

210 215 220
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

225 230 235 240
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 245 250 255
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

 260 265 270
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 275 280 285
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 290 295
 <210> 19
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 19
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

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

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

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

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

 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 275 280 285
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 290 295
 <210> 20
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 20
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

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

275 280 285
 Ser Thr Trp Ser
 290
 <210> 21
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 21
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

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

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

 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu

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

<210> 22

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 22

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

 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

	85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile			
	100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val			
	115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser			
	130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu			
145	150	155	160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro			
	165	170	175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val			
	180	185	190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met			
	195	200	205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser			
	210	215	220
Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr			
225	230	235	240
Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser			
	245	250	255
Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp			
	260	265	270
Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln			
	275	280	285
Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser			
	290	295	
<210> 23			
<211> 297			
<212>			
> PRT			
<213> Artificial Sequence			

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser

50 55 60

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly

65 70 75 80

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu

85 90 95

Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu

100 105 110

Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val

115 120 125

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe

130 135 140

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu

210 215 220

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro

225 230 235 240

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val

245 250 255
Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val

260 265 270
His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro

275 280 285
Pro Gly Lys His His His His His His

290 295

<210> 24

<211> 300

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser

50 55 60

Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu

65 70 75 80

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

85 90 95

Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp

100 105 110

Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn

115 120 125

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

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

 Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln
 195 200 205
 Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile
 210 215 220
 Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn
 225 230 235 240
 Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys
 245 250 255

 Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys
 260 265 270
 Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile
 275 280 285
 Ser Arg Pro Pro Gly Lys His His His His His His
 290 295 300

 <210> 25
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 25
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr

 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro

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

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

 195 200 205
 Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
 210 215 220
 Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
 225 230 235 240
 Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
 245 250 255
 Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro

 260 265 270
 Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
 275 280 285

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys His His His His His His

290 295 300

<210> 26

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 26

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val

35 40 45

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe

50 55 60

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu

65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His

85 90 95

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys

100 105 110

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

115 120 125

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn

165 170 175

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met

180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
195 200 205

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
210 215 220

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
245 250 255

Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
260 265 270

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
275 280 285

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 27

<211> 301

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 27

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
35 40 45

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
50 55 60

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His

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

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

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

 275 280 285
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 290 295 300
 <210> 28
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 28

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
1 5 10 15

Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
20 25 30

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
35 40 45

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
50 55 60

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
85 90 95

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
100 105 110

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

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
130 135 140

Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
145 150 155 160

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
165 170 175

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
195 200 205

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
210 215 220

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
225 230 235 240

Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val
245 250 255

Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg
275 280 285

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

<210> 29

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 29

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Asp Lys Thr
50 55 60

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
85 90 95

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
100 105 110

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
115 120 125

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
130 135 140

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
145 150 155 160

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
165 170 175

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
180 185 190

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
195 200 205

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
210 215 220

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
225 230 235 240

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
245 250 255

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
260 265 270

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
275 280 285

<210> 30

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 30

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly

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

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

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

 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 245 250 255
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 260 265 270
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 275 280 285
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 290
 <210> 31

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

130 135 140

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

145 150 155 160

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
210 215 220

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
225 230 235 240

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

245 250 255
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
260 265 270

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
275 280 285

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

290

<210> 32

<211> 294

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 32

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

1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu

65 70 75 80
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
85 90 95

Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
100 105 110

Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn
115 120 125
Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
130 135 140
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
145 150 155 160
Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro
165 170 175
Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys
180 185 190
Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln
195 200 205
Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile
210 215 220
Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn
225 230 235 240
Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys
245 250 255
Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys
260 265 270
Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile
275 280 285
Ser Arg Pro Pro Gly Lys
290
<210> 33
<211> 311
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 33
Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly

50 55 60

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys

65 70 75 80

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Ala Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

245 250 255

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

260 265 270
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

275 280 285
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

290 295 300
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

305 310

<210> 34

<211> 67

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 34

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Cys Gly

65

<210> 35

<211> 67

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 35

Gly Cys Gly Ser Gly Gly Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys
1 5 10 15

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

20 25 30
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu
 35 40 45
 Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser
 50 55 60

Thr Trp Ser

65

<210> 36

<211> 746

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 36

Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
 1 5 10 15

Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val Ile Pro Ser
 20 25 30

Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr Leu Asp Cys
 35 40 45

Ile Arg Ala Ile Ala Ala Asn Glu Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Ala
 50 55 60

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

Val Ala Glu Phe Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Pro Gln Thr Phe Tyr Tyr
 85 90 95

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Asp Ser Gly Phe Gln Met Asn Gln Leu
 100 105 110

Arg Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
 115 120 125

Asn Ile Pro Ile Gly Leu Leu Tyr Cys Asp Leu Pro Glu Pro Arg Lys
 130 135 140

Pro Leu Glu Lys Ala Val Ala Asn Phe Phe Ser Gly Ser Cys Ala Pro

145 150 155 160
 Cys Ala Asp Gly Thr Asp Phe Pro Gln Leu Cys Gln Leu Cys Pro Gly
 165 170 175

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

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

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

 Val Ser Ala Glu Thr Thr Glu Asp Cys Ile Ala Lys Ile Met Asn Gly
 370 375 380
 Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly Gly Phe Val Tyr Ile Ala Gly
 385 390 395 400

Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu Asn Tyr Asn Lys Ser Asp
 405 410 415
 Asn Cys Glu Asp Thr Pro Glu Ala Gly Tyr Phe Ala Val Ala Val Val
 420 425 430

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

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

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

 Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys
 625 630 635 640
 Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val

645 650 655
 Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu
 660 665 670
 Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro Ile Glu Gly Arg Met Asp Gln Leu Tyr
 675 680 685

 Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
 690 695 700
 Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
 705 710 715 720
 Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
 725 730 735
 Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 740 745

 <210> 37
 <211> 846
 <212>
 PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 37
 Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
 1 5 10 15
 Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val Ile Pro Ser
 20 25 30
 Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr Leu Asp Cys
 35 40 45
 Ile Arg Ala Ile Ala Ala Asn Glu Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Ala

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

100 105 110
 Arg Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp

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

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

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

 305 310 315 320
 Thr Ala Ile Arg Asn Leu Arg Glu Gly Thr Cys Pro Glu Ala Pro Thr
 325 330 335
 Asp Glu Cys Lys Pro Val Lys Trp Cys Ala Leu Ser His His Glu Arg
 340 345 350

Leu Lys Cys Asp Glu Trp Ser Val Asn Ser Val Gly Lys Ile Glu Cys
 355 360 365
 Val Ser Ala Glu Thr Thr Glu Asp Cys Ile Ala Lys Ile Met Asn Gly
 370 375 380
 Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly Gly Phe Val Tyr Ile Ala Gly
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu Asn Tyr Asn Lys Ser Asp
 405 410 415
 Asn Cys Glu Asp Thr Pro Glu Ala Gly Tyr Phe Ala Val Ala Val Val
 420 425 430
 Lys Lys Ser Ala Ser Asp Leu Thr Trp Asp Asn Leu Lys Gly Lys Lys
 435 440 445
 Ser Cys His Thr Ala Val Gly Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met
 450 455 460
 Gly Leu Leu Tyr Asn Lys Ile Asn His Cys Arg Phe Asp Glu Phe Phe
 465 470 475 480
 Ser Glu Gly Cys Ala Pro Gly Ser Lys Lys Asp Ser Ser Leu Cys Lys
 485 490 495
 Leu Cys Met Gly Ser Gly Leu Asn Leu Cys Glu Pro Asn Asn Lys Glu
 500 505 510
 Gly Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly
 515 520 525
 Asp Val Ala Phe Val Lys His Gln Thr Val Pro Gln Asn Thr Gly Gly
 530 535 540
 Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys Asp Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu Tyr Ala Asn
 565 570 575
 Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr Arg Lys Asp
 580 585 590
 Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln His Leu Phe

595 600 605
 Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu Phe Arg Ser
 610 615 620
 Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys

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

 690 695 700
 Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Lys Arg Ser Leu Ser Gln
 705 710 715 720
 Glu Asp Ala Pro Gln Thr Pro Arg Pro Val Ala Glu Ile Val Pro Ser
 725 730 735
 Phe Ile Asn Lys Asp Thr Glu Thr Ile Asn Met Met Ser Glu Phe Val
 740 745 750
 Ala Asn Leu Pro Gln Glu Leu Lys Leu Thr Leu Ser Glu Met Gln Pro

 755 760 765
 Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val Leu Lys Asp Ser Ser
 770 775 780
 Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg Asn Arg Gln Ser Glu
 785 790 795 800
 Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr Leu Gly Leu Asp Thr
 805 810 815
 His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys

 820 825 830
 Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
 835 840 845

<210> 38

<211> 652

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

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

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

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

450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480

 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540

 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ile Glu Gly Arg Met Asp Gln
 580 585 590
 Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys
 595 600 605

 Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 610 615 620
 Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg
 625 630 635 640
 Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 645 650

 <210> 39
 <211> 752
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 39

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

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

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

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

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

245 250 255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

260 265 270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

275 280 285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

290 295 300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

305 310 315 320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ile Glu Gly Arg Met Asp Asp
 580 585 590
 Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg
 595 600 605
 Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Lys Arg Ser Leu
 610 615 620
 Ser Gln Glu Asp Ala Pro Gln Thr Pro Arg Pro Val Ala Glu Ile Val
 625 630 635 640
 Pro Ser Phe Ile Asn Lys Asp Thr Glu Thr Ile Asn Met Met Ser Glu
 645 650 655
 Phe Val Ala Asn Leu Pro Gln Glu Leu Lys Leu Thr Leu Ser Glu Met
 660 665 670
 Gln Pro Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val Leu Lys Asp
 675 680 685
 Ser Ser Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg Asn Arg Gln
 690 695 700
 Ser Glu Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr Leu Gly Leu
 705 710 715 720
 Asp Thr His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn
 725 730 735
 Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

740 745 750

<210> 40

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 40

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

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys

20 25 30

Arg Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly

50 55 60

Arg Met Asp Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

290 295

<210> 41

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 41

Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

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

 Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
 275 280 285
 Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 290 295
 <210> 42
 <211> 55
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu

20 25 30

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile

35 40 45

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55

<210> 43

<211> 57

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 43

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

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met

20 25 30

Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile

35 40 45

Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55

<210> 44

<211> 59

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala

35 40 45

Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55

<210> 45

<211> 61

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55 60

<210> 46

<211> 63

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu

35 40 45

Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55 60

<210> 47

<211> 67

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu

35 40 45

Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser

50 55 60

Thr Trp Ser

65

<210> 48

<211> 58

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 48

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

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp

20 25 30

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln

35 40 45

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50 55

<210> 49

<211> 64

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg

35 40 45

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

50 55 60

<210> 50

<211> 65

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser

65

<210> 51

<211> 66

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys

35 40 45

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

50 55 60

Trp Ser

65

<210> 52

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly

50 55 60

Arg Met Asp Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
115 120 125

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
130 135 140

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
165 170 175

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
180 185 190

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
210 215 220

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
225 230 235 240

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
245 250 255

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
260 265 270

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
275 280 285

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290 295

<210> 53

<211> 291

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 53

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

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

260 265 270
 His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
 275 280 285
 Pro Gly Lys
 290
 <210> 54
 <211> 294

 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 54
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser

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

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

165 170 175
Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys

180 185 190
Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln

195 200 205
Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile

210 215 220
Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn

225 230 235 240
Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys

245 250 255
Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys

260 265 270
Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile

275 280 285
Ser Arg Pro Pro Gly Lys

290

<210> 55

<211> 297

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 55

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

1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

20 25 30
Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val

35 40 45
Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser

50 55 60

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val

100 105 110

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe

115 120 125

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu

130 135 140

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His

145 150 155 160

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys

165 170 175

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

180 185 190

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu

195 200 205

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

210 215 220

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn

225 230 235 240

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met

245 250 255

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro

260 265 270

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu

275 280 285

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys

290 295

<210> 56

<211> 292

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 56

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
20 25 30

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

Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
50 55 60

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
85 90 95

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
100 105 110

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

Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
145 150 155 160

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
165 170 175

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
180 185 190

Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
195 200 205

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

Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met
 275 280 285

Ser Thr Trp Ser
 290

<210> 57

<211> 295

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 57

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
 20 25 30

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

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
 100 105 110

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

Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
145 150 155 160

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
165 170 175

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
180 185 190

Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
225 230 235 240

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
245 250 255

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu
260 265 270

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
275 280 285

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 58

<211> 298

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 58

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

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

260	265	270	
Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln			
275	280	285	
Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser			
290	295		

<210> 59

<211> 240

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 59

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagctggatg	120
gaagaagtga ttaaaactgtg cggccgcgaa ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc	180
atgagcacct ggagctatcc gtatgatgtg ccggattatg cgcatcatca tcatcatcat	240

<210> 60

<211> 246

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 60

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcagc	120
tggatggaag aagtatttaa actgtgcggc cgcgaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt	180
tgcggcatga gcacctggag ctatccgtat gatgtgccgg attatgcgca tcatcatcat	240
catcat	246

<210> 61

<211> 252

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 61

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60

tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagctgga tggaagaagt gattaaactg tgcggccgcg aactgggtgcg cgcgcagatt 180

gcgatttgcg gcatgagcac ctggagctat ccgtatgatg tgccggatta tgcgcatcat 240

catcatcatc at 252

<210> 62

<211> 258

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 62

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60

tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg 180

cagattgcga ttgcggcat gagcacctgg agctatccgt atgatgtgcc ggattatgcg 240

catcatcatc atcatcat 258

<210> 63

<211> 264

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 63

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60

tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggcg gcggcagctg gatggaagaa gtgattaaac tgtgcggcgg cgaactggtg 180

cgcgcgcaga ttgcgatttg cggcatgagc acctggagct atccgtatga tgtgccggat 240

tatgcgcac c atcatcatca tcat 264

<210> 64

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 64
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120
ggcagcggcg gcggcagcgg cggcggcagc tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc 180
cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt tgcggcatga gcacctggag ctatccgtat 240

gatgtgccgg attatgcgca tcatcatcat catcat 276
<210> 65
<211> 204
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 65
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120
agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc ggccgcgaac tggcgcgcgc gcagattgcg 180
atttgcggca ttagcacctg gagc 204
<210> 66

<211> 222
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 66
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120
ggcagcggcg gcggcagcag ctggatggaa gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg 180
gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg agcacctgga gc 222
<210> 67
<211> 225
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 67

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60

tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaaactgtg cggccgcgaa 180

ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 225

<210> 68

<211> 228

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 68

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60

tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggcg gcggcagcgg cggcagctgg atggaagaag tgattaaact gtgcggccgc 180

gaactggtgc gcgcgcagat tgcgatttgc ggcatgagca cctggagc 228

<210> 69

<211> 186

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 69

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggctgc ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg 120

attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc 180

tggagc 186

<210> 70

<211> 186

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 70

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcaaa ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg 120

attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc 180

tggagc 186

<210> 71

<211> 183

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 71

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcaaacgcag cctgagccgc aaaaaacgca gctggatgga agaagtgatt 120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttcgggcat gaggacctgg 180

agc 183

<210> 72

<211> 180

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 72

gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt 60

agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggcc gcgcggcgcc gtatggcgtg 120

cgctgtgcg gccgcgaatt tttcgcgcg gtgattttta cctgcggcgg cagccgctgg 180

<210> 73

<211> 210

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 73

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc 60

tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggcc gcgcggcgcc gtatggcgtg cgctgtgcg gccgcgaatt tttcgcgcg 180

gtgattttta cctgcggcgg cagccgctgg 210

<210> 74

<211> 924

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 74

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg	180
cagattgcga ttgcgcat gagcacctgg agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg	240
tcgataaaa ccatacttg cccgccgtgc ccggcggcgg aactgctggg cggcccagac	300
gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat accctgatga ttagccgcac cccggaagtg	360
acctgcgtgg tggatgatg gagccatgaa gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg	420
gatggcgtgg aagtgcataa cgcaaaaacc aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc	480
tatcgctgg tgagcgtgct gaccgtgctg catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat	540
aatgcaaaag tgagcaaaa agcgtgccg gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg	600
aaaggccagc cgcgcaacc gcaggtgtat accctgccgc cgagccgca tgaactgacc	660
aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg	720
gaatgggaaa gcaacggcca gccgaaaaac aactataaaa ccacccgcc ggtgctggat	780
agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag	840
ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat gaagcgtgc ataaccatta taccagaaa	900
agcctgagcc tgagcccggg caaa	924

<210> 75

<211> 876

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 75

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgcat gagcacctgg	180
agcggcggca gcccggataa aaaccatacc tgcccgcgt gcccgcgcc ggaactgctg	240
ggcggcccga gcgtgtttct gtttccgccg aaaccgaaag atacctgat gattagccgc	300
accccggaag tgacctgctg ggtggtggat gtgagccatg aagatccgga agtgaaattt	360

aactggtatg tggatggcgt ggaagtgc at aacgcgaaaa ccaaaccgcg cgaagaacag 420
tataacagca cctatcgctg ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcacagga ttggctgaac 480

ggcaaagaat ataatgcaa agtgagcaac aaagcgtgc cggcgccgat tgaaaaaacc 540
attagcaaag cgaaaggcca gccgcgcgaa ccgcaggtgt ataccctgcc gccgagccgc 600
gatgaactga caaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaaaggctt ttatccgagc 660
gatattgcgg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg 720
ccggtgctgg atagcgatgg cagctttttt ctgtatagca aactgaccgt ggataaaagc 780
cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc atgaagcgt gcataacat 840
tataccaga aaagcctgag cctgagcccg ggcaaa 876

<210> 76

<211> 885

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 76

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
agcggcggca gcggcggcag cccgataaa acccatacct gcccgccgtg cccggcgcgg 240
gaactgctgg gcggcccagc cgtgtttctg tttccgccga aaccgaaaga taccctgatg 300
attagccgca ccccggaagt gacctgcgtg gtggtggatg tgagccatga agatccggaa 360

gtgaaattta actggtatgt ggatggcgtg gaagtgcata acgcgaaaac caaaccgcgc 420
gaagaacagt ataacagcac ctatcgctg gtgagcgtgc tgaccgtgct gcatcaggat 480
tggtgaacg gcaaagaata taaatgcaaa gtgagcaaca aagcgtgcc gccgccgatt 540
gaaaaaacca ttagcaaacg gaaaggccag ccgcgcgaac cgcaggtgta taccctgccg 600
ccgagccgcg atgaactgac caaaaaccag gtgagcctga cctgcctggt gaaaggcttt 660
tatccgagcg atattgcgtt ggaatgggaa agcaacggcc agccggaaaa caactataaa 720
accacccgcg cgtgtctgga tagcgatggc agcttttttc tgtatagcaa actgaccgtg 780

gataaaagcc gctggcagca gggcaacgtg tttagctgca gcgtgatgca tgaagcgtg 840
cataaccatt ataccagaa aagcctgagc ctgagcccg gcaaa 885

<210> 77

<211> 894

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 77

```
cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg      60
gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt      120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgggcat gaggacctgg      180
agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccgataaaaa cccataacctg cccgccgtgc      240

ccggcgccgg aactgctggg cggcccgagc gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat      300
acctgatga ttagccgcac cccggaagtg acctgcgtgg tggatgatgt gagccatgaa      360
gatccgaag tgaatttaa ctggtatgtg gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc      420
aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgctggg tgagcgtgct gaccgtgctg      480
catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg      540
gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg aaaggccagc cgcgcgaacc gcagggtgat      600
acctgccgc cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg      660

aaaggctttt atccgagcga tattcggtg gaatgggaaa gcaacggcca gccgaaaaac      720
aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa      780
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat      840
gaagcgctgc ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccggg caaa      894
```

<210> 78

<211> 876

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 78

```
gataaaacc atacctgcc gccgtgccg gcgccgaac tgctggcggg cccgagcgtg      60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc      120

tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat      180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaacccaa ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat      240
cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataaaa      300
tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa      360
```

ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgacaaaa 420
aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa 480
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc 540

gatggcagct tttttctgta tagcaaacctg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc 600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc 660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ccgcagctgt atagcgcgct ggcaacaaaa 720
tgctgccatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgct tttgcggcgg cggcagcggc 780
ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc 840
gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc tggagc 876

<210> 79

<211> 885

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 79

gataaaacc atacctgccc gccgtgcccg gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc 120
tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat 180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaacaaaa ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat 240
cgctggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataataa 300
tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa 360

ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgacaaaa 420
aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa 480
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc 540
gatggcagct tttttctgta tagcaaacctg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc 600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc 660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ggccggcagc ccgcagctgta tagcgcgctg 720
gcgaacaaat gctgccatgt gggctgcacc aaacgcagcc tggcgcgctt ttgcggcggc 780

ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaactgtg cggcccgcaa 840
ctggtgcgcg cgagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 885

<210> 80

<211> 894

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 80

gataaaaccc atacctgccc gccgtgcccg gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg	60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc	120
tgctgtgttg tggtgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat	180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaacaaaa ccgcgcgaag aacagtataa cagcacctat	240
cgctgtgtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataataa	300
tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa	360
ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgacaaaa	420
aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa	480
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc	540
gatggcagct tttttctgta tagcaaacctg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc	600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc	660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ggccggcagcg gcggcagccc gcagctgtat	720
agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggccgcgttt	780
tgcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc	840
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagc	894

<210> 81

<211> 891

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 81

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggc gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agcggcggca gcccacctg cccgacctgc cataaatgcc cgggtccgga actgctgggc	240
ggcccagcgc tgittatttt tccgccgaaa ccgaaagata ttctgctgat tagccagaac	300
gcgaaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agcgaagaag aaccggatgt gcagtttagc	360

tggtttgtga acaacgtgga agtgcatacc gcgcagaccc agccgcgcga agaacagtat 420
aacagcacct ttcgcgtggt gagcgcgctg ccgattcagc atcaggattg gatgagcggc 480
aaagaattta aatgcaaagt gaacaacaaa gcgctgccga gcccattga aaaaaccatt 540

agcaaaccga aaggcctggt gcgcaaaccg caggtgtatg tgatgggccc gccgaccgaa 600
cagctgaccg aacagaccgt gagcctgacc tgcctgacca gcggctttct gccgaacgat 660
attggcgtgg aatggaccag caacggccat attgaaaaa actataaaaa caccgaaccg 720
gtgatggata gcgatggcag cttttttatg tatagcaaac tgaacgtgga acgcagccgc 780
tggtatagcc gcgcgccgtt tgtgtgcagc gtggtgcatg aaggcctgca taaccatcat 840
gtggaaaaaa gcattagccg cccgccgggc aaacatcatc atcatcatca t 891

<210> 82

<211> 900

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 82

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggcga gctggatgga agaagtatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
agcggcggca gcggcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgcc ggtgccggaa 240
ctgctggcgg gcccgagcgt gtttatTTTT cgcgcgaaac cgaaagatat tctgctgatt 300
agccagaacg cgaaagtac ctgcgtggtg gtggatgtga gcgaagaaga accggatgtg 360

cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataccg gcgagacca gccgcgcgaa 420
gaacagtata acagcacctt tgcgctggtg agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg 480
atgagcggca aagaatttaa atgcaaagtg aacaacaaag cgctccgag cccgattgaa 540
aaaaccatta gcaaaccgaa aggcctggtg cgcaaaccgc aggtgtatgt gatgggccc 600
ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gcctgaccag cggctttctg 660
ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaa ctataaaaac 720
accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa 780

cgagccgct gggatagccg cgcgccgttt gtgtgcagcg tggatgcatg aggcctgcat 840
aacatcatgt tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aacatcatca tcatcatcat 900

<210> 83

<211> 909

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 83

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgcat gacacctgg	180
agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg	240
gtgccggaac tgctggcgcg cccgagcgtg tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt	300
ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag cgaagaagaa	360
ccgatgtgc agtttagctg gtttgtgaac aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag	420
ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt cgcgtggtga gcgcgtgcc gattcagcat	480
caggattgga tgagcggaac agaatttaa tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc	540
ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa ggcctggtgc gcaaacgca ggtgtatgtg	600
atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc	660
ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa tggaccagca acggccatat tgaaaaaac	720
tataaaaaca ccgaaccggt gatgatatgc gatggcagct ttttatgta tagcaaaactg	780
aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa	840
ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc attagccgcc cgccgggcaa acatcatcat	900
catcatcat	909

<210> 84

<211> 894

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 84

catcatcatc atcatcatcc gacctgccc acctgccata aatgcccggt gccggaactg	60
ctgggcggcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc	120
cagaacgcga aagtacactg cgtggtggtg gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag	180
tttagctggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagcc gcgcgaagaa	240
cagtataaca gcacctttcg cgtggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg	300

agcggcaaag aatttaaatg caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa 360
accattagca aaccgaaagg cctggtgctc aaaccgcagg tgtatgtgat gggcccgccg 420
accgaacagc tgaccgaaca gaccgtgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg 480

aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaacta taaaaacacc 540
gaaccggtga tggatagcga tggcagcttt tttatgtata gcaaaactgaa cgtggaacgc 600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcataagg cctgcataac 660
catcatgtgg aaaaaagcat tagccgcccg ccgggcaaag gcggcagccc gcagctgtat 720
agcgcgtgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt 780
tgcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 840
ggccgcgaac tggctgcgcg gcagattgagc atttgcggca tgagcacctg gaggc 894

<210> 85

<211> 903

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 85

catcatcatc atcatcatcc gacctgcccg acctgccata aatgcccgtt gccggaactg 60
ctgggcggcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc 120
cagaacgcga aagtgcctg cgtggtggtg gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag 180
tttagctggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagacc gcgcgaagaa 240
cagtataaca gcacctttcg cgtggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg 300
agcggcaaag aatttaaatg caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa 360

accattagca aaccgaaagg cctggtgctc aaaccgcagg tgtatgtgat gggcccgccg 420
accgaacagc tgaccgaaca gaccgtgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg 480
aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaacta taaaaacacc 540
gaaccggtga tggatagcga tggcagcttt tttatgtata gcaaaactgaa cgtggaacgc 600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcataagg cctgcataac 660
catcatgtgg aaaaaagcat tagccgcccg ccgggcaaag gcggcagcgg cggcagcccg 720
cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 780

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 840
aaactgtgag gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 900

agc	903
<210> 86	
<211> 912	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> relaxin fusion polypeptide	
<400> 86	
catcatcatc atcatcatcc gacctgcccc acctgccata aatgccccgt gccggaactg	60
ctggcgcgcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc	120
cagaacgcga aagtgacctg cgtgggtggtg gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag	180
tttagctggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagcc gcgcgaagaa	240
cagtataaca gcacctttcg cgtgggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg	300
agcggcaaag aatttaaatg caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa	360
accattagca aaccgaaagg cctggtgagc aaaccgcagg tgtatgtgat gggccccgcc	420
accgaacagc tgaccgaaca gacctgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg	480
aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaacta taaaaacacc	540
gaaccggtga tggatagcga tggcagcttt ttatgtata gcaaaactgaa cgtggaacgc	600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcatgaagg cctgcataac	660
catcatgttg aaaaaagcat tagccgcccc ccgggcaaag gcggcagcgg cggcagcggc	720
ggcagccccg agctgtatag cgcgctggcg aacaaatgct gccatgtggg ctgcacaaa	780
cgcagcctgg cgcgctttt ggccggcgcg agcggcgcg gcagcggcag ctggatggaa	840
gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg	900
agcacctgga gc	912
<210> 87	
<211> 864	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> relaxin fusion polypeptide	
<400> 87	
cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcgcgcg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttcgggcat gacacactgg	180

agcgataaaa ccataactg cccgccgtgc ccggcgccgg aactgctggg cgccccgagc 240
 gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat accctgatga ttagccgcac cccggaagtg 300
 acctgcgtgg tgggtgatgt gagccatgaa gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg 360

gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc 420
 tatcgctggg tgagcgtgct gaccgtgctg catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat 480
 aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg 540
 aaaggccagc cgcgcgaacc gcaggtgtat accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc 600
 aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg 660
 gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat 720
 agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag 780

ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat gaagcgtgc ataaccatta taccagaaa 840
 agcctgagcc tgagcccggg caaa 864

<210> 88
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 88

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
 gcgcgtttt gcggcgccgg cagcgccggc ggccagcgga gctggatgga agaagtgatt 120
 aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgccat gagcacctgg 180
 agcggcagcg gcagcggcag cgataaaacc catacctgcc cgccgtgccc ggcgccggaa 240

ctgctgggcg gcccgagcgt gtttctgttt ccgccgaaac cgaaagatac cctgatgatt 300
 agccgcaccc cggaagtgc ctgcgtggtg gtggatgtga gccatgaaga tccggaagtg 360
 aaatttaact ggtatgtgga tggcgtggaa gtgcataacg cgaaaaccaa accgcgcgaa 420
 gaacagtata acagcaccta tcgcgtggtg agcgtgctga ccgtgctgca tcaggattgg 480
 ctgaacggca aagaatataa atgcaaagtg agcaacaaag cgctgccggc gccgattgaa 540
 aaaaccatta gcaaagcgaa aggccagccg cgcgaaccgc aggtgtatac cctgccgccg 600
 agccgcgatg aactgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggtttttat 660

ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaacacaa ctataaaacc 720
 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat 780

aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 840
 aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agccccgggca aa 882
 <210> 89
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 89
 cagctgtata ggcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
 gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
 aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgctggcat gaggacctgg 180
 agcggcagcg gcagcggcag cgataaaacc cataccgcgc cgccggcgcc ggcgccggaa 240
 ctgctggcgg gcccgagcgt gtttctgttt ccgccgaac cgaaagatac cctgatgatt 300
 agccgcaccc cggaaagtgc ctgcgtggtg gtggatgtga gccatgaaga tccggaagtg 360
 aaatttaact ggtatgtgga tggcgtggaa gtgcataacg cgaaaaccaa accgcgcgaa 420
 gaacagtata acagcaccta tcgcgtggtg agcgtgctga ccgtgctgca tcaggattgg 480
 ctgaacggca aagaatataa atgcaaagtg agcaacaaag cgctgccggc gccgattgaa 540
 aaaaccatta gcaaagcgaa aggccagccg cggaaccgc aggtgtatac cctgccgccg 600
 agccgcgatg aactgaccaa aaaccagtg agcctgacct gcctggtgaa aggcctttat 660
 ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaacaa ctataaaacc 720
 accccgccgg tgctggatag cgatggcagc tttttctgt atagcaaact gaccgtggat 780
 aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat 840
 aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agccccgggca aa 882
 <210> 90
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 90
 cagctgtata ggcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
 gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
 aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgctggcat gaggacctgg 180

agcggcagcg gcagcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgccc ggtgccggaa 240

ctgctgggcg gcccagcgt gtttattttt ccgccaaac cgaaagatat tctgctgatt 300

agccagaacg cgaaagtac ctgctggtg gtggatgtga gcgaagaaga accgatgtg 360

cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataccg cgcagacca gccgcgcgaa 420

gaacagtata acagcacctt tcgctggtg agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg 480

atgagcggca aagaatttaa atgcaaagtg aacaacaaag cgctgccgag cccgattgaa 540

aaaaccatta gcaaacgaa aggcctggtg cgcaaacgc aggtgtatgt gatgggccc 600

ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gcctgaccag cggtttctg 660

ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaa ctataaaaac 720

accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa 780

cgcagccgct gggatagccg cgcgccgttt gtgtgcagcg tggatcatga aggcctgcat 840

aaccatcatg tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aa 882

<210> 91

<211> 933

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 91

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt 120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcgat gaggacctgg 180

agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc accctggtga ccgtgagcag cgaaagcaaa 240

tatggcccgc cgtgcccgcc gtgcccggcg ccggaagcgg cggcggcggga actgctgggc 300

ggcccagcgc tgtttctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc 360

ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac 420

tggtatgtgg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat 480

aacagcacct atcgctggt gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc 540

aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcctgcccgg cggcgattga aaaaaccatt 600

agcaaagcga aaggccagcc gcgcgaaccg caggtgtata ccctgccgcc gagccgcgat 660

gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgctggtga aagctttta tccgagcgat 720

attgcggtgg aatgggaaag caacggccag ccggaacaa actataaaa cccccgccg 780

gtgctggata gcgatggcag cttttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc 840
 tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgctgca taaccattat 900
 acccagaaaa gcctgagcct gagcccgggc aaa 933
 <210> 92
 <211> 201
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 92
 cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

 gcgcgctttt gcggcgggcg cagcggcggc ggagcgcgca gctggatgga agaagtgatt 120
 aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
 agcggcgcgca gcggctgcgg c 201
 <210> 93
 <211> 201
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 93
 ggctgcggca gcggcgggcca gctgtatagc gcgctggcga acaaatgctg ccatgtgggc 60
 tgcaccaaac gcagcctggc gcgcttttgc ggcgcgcgca gcggcgggcg cagcggcagc 120
 tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc cggaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt 180

 tgcggcatga gcacctggag c 201
 <210> 94
 <211> 2238
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 94
 gtgccggata aaaccgtgcg ctggtgcgcg gtgagcgaac atgaagcgac caaatgccag 60
 agctttcgcg atcatatgaa aagcgtgatt ccgagcgatg gcccgagcgt ggcgtgcgtg 120
 aaaaaagcga gctatctgga ttgcattcgc gcgattgcgg cgaacgaagc ggatgcggtg 180
 accctggatg cgggcctggt gtatgatgcg tatctggcgc cgaacaacct gaaaccggtg 240

gtggcggaat tttatggcag caaagaagat ccgcagacct tttattatgc ggtggcggtg 300

gtgaaaaaag atagcggtt tcagatgaac cagctgcgcg gcaaaaaaag ctgccatacc 360

ggcctgggcc gcagcgcggg ctggaacatt ccgattggcc tgcgtattg cgatctgccg 420

gaaccgcga aaccgctgga aaaagcgggt gcgaactttt ttagcggcag ctgcgcgccg 480

tgcgcggatg gcaccgattt tccgcagctg tgccagctgt gcccgggctg cggctgcagc 540

acctgaacc agtattttgg ctatagcggc gcgtttaaat gcctgaaaga tggcgcgggc 600

gatgtggcgt ttgtgaaaca tagcaccatt ttgaaaacc tggcgaaca agcggatcgc 660

gatcagtatg aactgctgtg cctggataac acccgcaaac cggtggtatga atataaagat 720

tgccatctgg cgcagggtgcc gagccatacc gtggtggcgc gcagcatggg cggcaaagaa 780

gatctgattt gggaactgct gaaccaggcg caggaacatt ttggcaaaga taaaagcaaa 840

gaatttcagc tgtttagcag cccgcattggc aaagatctgc tgtttaaaga tagcgcgcac 900

ggctttctga aagtgccgcc gcgcattggat gcgaaaatgt atctgggcta tgaatatgtg 960

accgcgattc gcaacctgcg cgaaggcacc tgcccgaag cgccgaccga tgaatgcaaa 1020

ccggtgaaat ggtgcgcgct gagccatcat gaacgcctga aatgcgatga atggagcgtg 1080

aacagcgtgg gcaaaattga atgcgtgagc gcggaaacca ccgaagattg cattgcgaaa 1140

attatgaacg gcgaagcgga tgcgatgagc ctggatggcg gctttgtgta tattgcgggc 1200

aaatgcggcc tggtgccggt gctggcggaa aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat 1260

accccggaag cgggctattt tgcggtggcg gtggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc 1320

tgggataacc tgaagggcaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg 1380

aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaacatt gccgctttga tgaatttttt 1440

agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaaa gatagcagcc tgtgcaaact gtgcatgggc 1500

agcggcctga acctgtgcga accgaacaac aaagaaggct attatggcta taccggcgcg 1560

tttcgctgcc tggtggaata aggcgatgtg gcgtttgtga aacatcagac cgtgccgcag 1620

aacaccggcg gcaaaaacc ggatccgtgg gcgaaaaacc tgaacgaaaa agattatgaa 1680

ctgctgtgcc tggatggcac ccgcaaaccg gtggaagaat atgcgaactg ccatctggcg 1740

cgcgcccca accatgcggt ggtgaccgc aaagataaag aagcgtgcgt gcataaaatt 1800

ctgcgccagc agcagcatct gtttggcagc aacgtgaccg attgcagcgg caacttttgc 1860

ctgtttcgca gcgaaacaa agatctgctg tttcgcatg ataccgtgtg cctggcgaaa 1920

ctgcatgatc gcaacaccta tgaaaaatat ctggcggaag aatatgtgaa agcgggtgggc 1980

aacctgcgca aatgcagcac cagcagcctg ctggaagcgt gcacctttcg cgcgccgatt 2040
 gaaggccgca tggatcagct gtatagcgcg ctggcgaaca aatgctgcca tgtgggctgc 2100
 accaaacgca gcctggcgcg cttttgcggc ggcggcagcg gcggcgagcag cggcagctgg 2160
 atggaagaag tgattaaact gtgcggccgc gaactggtgc gcgcgcagat tgcgatttgc 2220
 ggcatgagca cctggagc 2238
 <210> 95
 <211> 2538
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 95
 gtgccggata aaaccgtgcg ctggtgcgcg gtgagcgaac atgaagcgac caaatgccag 60
 agcttttcgag atcatatgaa aagcgtgatt ccgagcgatg gcccgcgagt ggctgcgtg 120
 aaaaaagcga gctatctgga ttgcattcgc gcgattgcgg cgaacgaagc ggatgcggtg 180
 accctggatg cgggccttgt gtatgatgcg tatctggcgc cgaacaacct gaaaccggtg 240
 gtggcggaat tttatggcag caaagaagat ccgcagacct tttattatgc ggtggcggtg 300
 gtgaaaaaag atagcggtct tcagatgaac cagctgcgcg gcaaaaaaag ctgccatacc 360
 ggccctgggc gcagcgcggtg ctggaacatt ccgattggcc tgcgtatttg cgatctgccg 420
 gaaccgcgca aaccgctgga aaaagcgggtg gcgaactttt ttagcggcag ctgcgcgccg 480
 tgccgagatg gcaccgattt tccgcagctg tgccagctgt gcccgggctg cggctgcagc 540
 accctgaacc agtatttttg ctatagcggc gcgttttaaat gcctgaaaga tggcgcgggc 600
 gatgtggcgt ttgtgaaaca tagcaccatt ttgaaaacc tggcgaacaa agcggatcgc 660
 gatcagtatg aactgctgtg cctggataac acccgcaaac cggtaggatga atataaagat 720
 tgccatctgg cgcaggtgcc gagccatacc gtggtggcgc gcagcatggg cggcaaagaa 780
 gatctgattt gggaaactgct gaaccaggcg caggaacatt ttggcaaaga taaaagcaaa 840
 gaatttcagc tgtttagcag cccgcatggc aaagatctgc tgtttaaga tagcgcgcat 900
 ggctttctga aagtgccgc gcgcatggat gcgaaaatgt atctgggcta tgaatatgtg 960
 accgcgattc gcaacctgcg cgaaggcacc tgcccgaag cgcgcaccga tgaatgcaaa 1020
 ccggtgaaat ggtgcgcgct gagccatcat gaacgcctga aatgcgatga atggagcgtg 1080
 aacagcgtgg gcaaaattga atgcgtgagc gcggaaacca ccgaagattg cattgcgaaa 1140
 attatgaacg gcgaagcgga tgcgatgagc ctggatggcg gctttgtgta tattgcgggc 1200
 aaatgcggcc tggcgccggt gctggcggaa aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat 1260

accccggaag cgggctatit tgcggtggcg gtggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc 1320

 tgggataacc tgaaggcaaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg 1380
 aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaacatt gccgctttga tgaatititit 1440
 agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaaa gatagcagcc tgtgcaaact gtgcatgggc 1500
 agcggcctga acctgtgcga accgaacaac aaagaaggct attatggcta taccggcgcg 1560
 ttctgctgcc tgggtgaaaa aggcgatgtg gcgtttgtga aacatcagac cgtgccgcag 1620
 aacaccggcg gcaaaaaccc ggatccgtgg gcgaaaaacc tgaacgaaaa agattatgaa 1680
 ctgctgtgcc tggatggcac ccgcaaaccg gtggaagaat atgcgaactg ccatctggcg 1740

 cgcgcgccga accatgcggt ggtgacccgc aaagataaag aagcgtgctg gcataaaatt 1800
 ctgcccagc agcagcatct gtttggcagc aacgtgaccg attgcagcgg caacttttgc 1860
 ctgtttcgca gcgaaaccaa agatctgctg ttctgcgatg ataccgtgtg cctggcgaaa 1920
 ctgcatgac gcaacaccta tgaataatat ctgggcgaag aatatgtgaa agcgggtggc 1980
 aacctgcga aatgcagcac cagcagcctg ctggaagcgt gcacctttcg ccgccgatt 2040
 gaaggccgca tggatgatag ctggatggaa gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg 2100
 gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg agcacctgga gcaaacgcag cctgagccag 2160

 gaagatgcgc cgagacccc gcgcccgtg gcggaattg tgccgagctt tattaacaaa 2220
 gataccgaaa ccattaacat gatgagcgaa ttgtggcgca acctgccga ggaactgaaa 2280
 ctgacctga gcgaaatgca gccgcgctg ccgcagctgc agcagcatgt gccggtgctg 2340
 aaagatagca gcctgctgtt tgaagaattt aaaaaactga ttcgcaaccg ccagagcgaa 2400
 gcggcggata gcagcccag cgaactgaaa tatctgggcc tggatacca tagccgcaaa 2460
 aaacgccagc tgtatagcgc gctggcgaaac aaatgctgcc atgtgggctg caccaaacgc 2520
 agcctggcgc gcttttgc 2538

 <210> 96
 <211> 1956
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> relaxin fusion polypeptide
 <400> 96
 gatgcgcata aaagcgaagt ggcgcatcgc tttaaagatc tggcggaaga aaactttaaa 60
 gcgctggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg 120
 aaactggtga acgaagtgac cgaatttgcg aaaacctgcg tggcggatga aagcgcggaa 180

aactgcgata aaagcctgca tacctgtttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg 240
 cgcgaaacct atggcgaaat ggcggattgc tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa 300
 tgctttctgc agcataaaga tgataacccg aacctgccgc gcctggtgcg cccggaagtg 360

gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat 420
 gaaattgcgc gccgccatcc gtatttttat gcgccggaac tgtgtttttt tgcgaaacgc 480
 tataaagcgg cgtttacga atgctgccag gcggcggata aagcggcgtg cctgctgccg 540
 aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc 600
 gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcgggtggc gcgcctgagc 660
 cagcgctttc cgaaagcggg atttgcggaa gtgagcaaac tggtagaccg tctgacaaaa 720
 gtgcataccg aatgctgccg tggcgatctg ctggaatgcg cggatgatcg gcgcatctg 780

gcgaaatata tttagcaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa 840
 aaaccgctgc tggaaaaaag ccatgtcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg 900
 gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg 960
 gaagcgaaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat 1020
 tatagcgtgg tgctgtctgt gcgcctggcg aaaacctatg aaaccaccct ggaaaaatgc 1080
 tgcgcggcgg cggatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg 1140
 gtggaagaac cgcagaacct gattaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa 1200

tataaatttc agaacgcgt gctggtgcgc tatacaaaa aagtgccgca ggtgagcacc 1260
 ccgaccctgg tggaagttag ccgcaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat 1320
 ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtggtgct gaaccagctg 1380
 tgcgtgctgc atgaaaaaac cccgtgagc gatcgctga ccaaatgctg caccgaaagc 1440
 ctggtgaacc gccgcccgtg ctttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa 1500
 gaatttaacg cggaaacctt tacctttcat gcggatatat gcaccctgag cgaaaaagaa 1560
 cgccagatta aaaaacagac gcgcgtggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc 1620

aaagaacagc tgaaagcggg gatggatgat tttagcgcgt ttgtgaaaaa atgctgcaaa 1680
 gcggatgata aagaaacctg ctttagcgaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag 1740
 gcggcgtgg gcctgattga aggcgcgatg gatcagctgt atagcgcgt ggcaacaaa 1800
 tgctgcatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgt tttgcggcgg cggcagcggc 1860
 ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggcccgca actggtgcgc 1920
 gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc tggagc 1956

<210> 97

<211> 2256

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 97

gatgcgcata aaagcgaagt ggcgcatcgc tttaaagatc tgggcgaaga aaactttaaa	60
gcgctggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg	120
aaactggtga acgaagtgc cgaatttgcg aaaacctgcg tggcggatga aagcgcggaa	180
aactgcgata aaagcctgca taccctgttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg	240
cgcgaaacct atggcgaaat ggcggttgc tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa	300
tgctttctgc agcataaaga tgataaccgc aacctgccgc gcctggtgcg cccggaagtg	360
gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat	420
gaaattgcgc gccgccatcc gtatTTTTat gcgccggaac tgctgttttt tgcgaaacgc	480
tataaagcgg cgtttaccga atgctgccag gcggcggata aagcggcgtg cctgctgccg	540
aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc	600
gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcgggtggc gcgcctgagc	660
cagcgctttc cgaaagcgga atttgcggaa gtgagcaaac tggtgaccga tctgacaaaa	720
gtgcataccg aatgctgcc tggcgatctg ctggaatgcg cggatgatcg cgcgcatctg	780
gcgaaatata tttgcgaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa	840
aaaccgctgc tggaaaaaag ccattgcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg	900
gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg	960
gaagcgaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat	1020
tatagcgtgg tgctgctgct gcgcctggcg aaaacctatg aaaccacct ggaaaaatgc	1080
tgcgcggcgg cggatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg	1140
gtggaagaac cgcagaacct gattaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa	1200
tataaatTtc agaacgcgct gctggtgcgc tatacaaaaa aagtcccga ggtgagcacc	1260
ccgacctgg tggaagtgc cgcgaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat	1320
ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtggtgct gaaccagctg	1380
tgctgctgc atgaaaaaac cccgtgagc gatcgcgtga ccaaatgctg caccgaaagc	1440
ctggtgaacc gccgccctg cttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa	1500
gaatttaacg cggaaacctt tacctttcat gcggatattt gcacctgag cgaaaaagaa	1560

cgccagatta aaaaacagac cgcgctggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc 1620

aaagaacagc tgaagcggg gatgatgat ttgcgcgct ttgtgaaaa atgctgcaaa 1680

gcggatgata aagaaacctg ctttcgggaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag 1740

gcggcgctgg gcctgattga aggccgcag gatgatagct ggatggaaga agtgattaaa 1800

ctgtgcggcc gcgaactggt gcgcgcgcag attgcgattt gcggcatgag cacctggagc 1860

aaacgcagcc tgagccagga agatgcgccg cagacccgc gcccggtggc ggaaattgtg 1920

ccgagcttta ttaacaaaga taccgaaacc attaacatga tgagcgaatt tgtggcgaac 1980

ctgccgcagg aactgaaact gacctgagc gaaatgcagc cgcgctgcc gcagctgcag 2040

cagcatgtgc cggctgtgaa agatagcagc ctgctgtttg aagaatttaa aaaactgatt 2100

cgcaaccgcc agagcgaagc ggcggatagc agcccagcg aactgaaata tctgggcctg 2160

gatacccata gccgcaaaaa acgccagctg tatagcgcgc tggcgaacaa atgctgccat 2220

gtgggctgca ccaaacgcag cctggcgcgc ttttgc 2256

<210> 98

<211> 894

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 98

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcaaacgcag cctgagccgc aaaaaacgca gctggatgga agaagtgatt 120

aaactgtgcg gccggaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgggcat gagcacctgg 180

agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg tgcgataaaa ccataacctg cccgccgtgc 240

ccggcgccgg aactgctggg cgccccgagc gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat 300

acctgatga ttagccgcac ccggaagtg acctgcgtgg tggatgatgt gagccatgaa 360

gatccggaag tgaatttaa ctggtatgtg gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc 420

aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgctgg tgagcgtgct gaccgtgctg 480

catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg 540

gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg aaaggccagc cgcggaacc gcagggtat 600

acctgccgc cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg 660

aaagctttt atccgagcga tattcggtg gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac 720

aactataaaa ccacccgcc ggtgtggat agcgatggca gctttttct gtatagcaaa 780

ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat 840
gaagcgctgc ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccgga caaa 894
<210> 99
<211> 894
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 99
ccgaaagcgt gcgataaaac ccatacctgc ccgccgtgcc cggcgccgga actgctgggc 60
ggcccgagcg tgittctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc 120
ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac 180
tggtatgtgg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat 240
aacagcacct atcgcgtggt gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc 300
aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcgctgccgg cgccgattga aaaaaccatt 360

agcaaagcga aaggccagcc gcgcaaacg caggtgtata ccctgccgc gagccgcgat 420
gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgcctggtga aaggctttta tccgagcgat 480
attgcggtgg aatgggaaag caacggccag ccgaaaaaca actataaaac caccgcgcg 540
gtgctggata gcgatggcag cttttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc 600
tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgtgca taaccattat 660
accagaaaa gcctgagcct gagcccgggc aaaattgaag gccgcatgga tcagctgtat 720
agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt 780

tgcaaagcga gcctgagccg caaaaaacgc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 840
ggccgcgaac tggatgcgcg gcagattgagc atttgcggca tgagcacctg gagc 894

<210> 100

<211> 165

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 100
cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcgcggcgcg cagctggatg gaagaagtga ttaactgtg cgcccgcgaa 120
ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 165

<210> 101

<211> 171

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 101

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcagc tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc	120
cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt tgcggcatga gcacctggag c	171

<210> 102

<211> 177

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 102

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagctgga tggaagaagt gattaaactg	120
tgcggccgcg aactggtgcg cgcgcagatt gcgatttgcg gcatgagcac ctggagc	177

<210> 103

<211> 183

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 103

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agc	183

<210> 104

<211> 189

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 104

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggcg gcggcagctg gatggaagaa 120

gtgattaaac tgtcgggcgc gaactggtg cgcgcgcaga ttgcgatttg cggcatgagc 180

acctggagc 189

<210> 105

<211> 201

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 105

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggcg gcggcagcgg cggcggcagc 120

tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc cgcaactgg tgcgcgcga gattgcgatt 180

tgcggcatga gcacctggag c 201

<210> 106

<211> 174

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 106

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc agctggatgg aagaagtat taaactgtgc 120

ggcgcgaac tggcgcgc gcagattgcg atttcggca tgagcacctg gagc 174

<210> 107

<211> 192

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 107

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggcg gcggcagcag ctggatggaa 120

gaagtgatta aactgtgcgg ccgcaactg gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcgcatg 180
agcacctgga gc 192

<210> 108
<211> 195
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 108

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg 120
gaagaagtga ttaactgtg cgccgcgaa ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc 180
atgagcacct ggagc 195

<210> 109
<211> 198
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 109

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagcgg cggcagctgg 120
atggaagaag tgattaaact gtgcggccgc gaactggtgc gcgcgcagat tgcgatttgc 180
ggcatgagca cctggagc 198

<210> 110
<211> 894
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 110

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgtttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg tgcgataaaa ccataacctg cccgccgtgc 240

ccggcgccgg aactgctggg cggcccgagc gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat 300
accctgatga ttagccgcac cccggaagtg acctgcgtgg tggatgatgt gagccatgaa 360
gatccggaag tgaattttaa ctggtatgtg gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc 420
aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgctggg tgagcgtgct gaccgtgctg 480

catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg 540
gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg aaaggccagc cgcgcgaacc gcaggtgtat 600
accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg 660
aaaggctttt atccgagcga tattgcgttg gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac 720
aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat agcgatggca gctttttct gtatagcaaa 780
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat 840
gaagcgtgcg ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccggg caaa 894

<210> 111

<211> 873

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 111

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgtttt gcggcgccgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gcccgaaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
agcggcggca gcccacctg cccacctgc cataaatgcc cggcgccgga actgctgggc 240
ggcccgagcg tgttttttt tccgccgaaa ccgaaagata ttctgctgat tagccagaac 300
gcgaaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agcgaagaag aaccggatgt gcagtttagc 360

tggtttgtga acaacgtgga agtgcatacc gcgcagaccc agccgcgcga agaacagtat 420
aacagcacct ttgcgtggt gagcgcgtg ccgattcagc atcaggattg gatgagcggc 480
aaagaattta aatgcaaagt gaacaacaaa gcgctgccga gcccgattga aaaaaccatt 540
agcaaaccga aaggcctggt gcgcaaacg caggtgtatg tgatggggcc gccgaccgaa 600
cagctgaccg aacagaccgt gagcctgacc tgcctgacca gcggctttct gccgaacgat 660
attggcgtgg aatggaccag caacggccat attgaaaaa actataaaaa caccgaaccg 720
gtgatggata gcgatggcag cttttttatg tatagcaaac tgaacgtgga acgcagccgc 780

tgggatagcc gcgcgccgtt tgtgtgcagc gtggtgcatg aaggcctgca taaccatcat 840

gtggaaaaaa gcattagccg cccgccgggc aaa 873

<210> 112

<211> 882

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 112

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgttttt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcggca gctggatgga agaagtgatt 120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180

agcggcggca gcggcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgccc ggtgccggaa 240

ctgctggcgc gcccgagcgt gtttatTTTT cgcgcgaaac cgaaagatat tctgctgatt 300

agccagaacg cgaaagtac ctgcgtgggt gtggatgtga gcgaagaaga accggatgtg 360

cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataccg cgcagacca gccgcgcgaa 420

gaacagtata acagcacctt tcgcgtgggt agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg 480

atgagcggca aagaatttaa atgcaaagtg aacaacaaag cgctgccgag cccgattgaa 540

aaaaccatta gcaaacgaa aggcctgggt cgcaaacgc aggtgtatgt gatgggccc 600

ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gccgaccag cggctttctg 660

ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaa ctataaaaac 720

accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa 780

cgcagccgct gggatagccg cgcgccgttt gtgtgcagcg tggatcatga aggcctgcat 840

aacctcatg tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aa 882

<210> 113

<211> 891

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 113

cagctgtata gcgcgtggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgttttt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcggca gctggatgga agaagtgatt 120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180

agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccgacctgcc cgacctgcca taaatgccc 240

gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt 300
ctgctgatta gccagaacgc gaaagtacc tgcgtgggtg tgatgtgag cgaagaagaa 360
ccgatgtgc agtttagctg gtttgaac aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag 420
ccgcgcaag aacagtataa cagcaccttt cgcgtgggtga gcgcgctgcc gattcagcat 480
caggattgga tgagcggcaa agaattttaa tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc 540

ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa ggcctggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg 600
atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc 660
ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa tggaccagca acggccatat tgaaaaaac 720
tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc gatggcagct tttttatgta tagcaactg 780
aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa 840
ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc attagccgcc cgccgggcaa a 891

<210> 114
<211> 876
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide
<400> 114

ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60
tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt ctgctgatta gccagaacgc gaaagtacc 120
tgcgtgggtg tgatgtgag cgaagaagaa ccgatgtgc agtttagctg gtttgaac 180
aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag ccgcgcaag aacagtataa cagcaccttt 240
cgcgtgggtga gcgcgctgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaattttaa 300
tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa 360

ggcctggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa 420
cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa 480
tggaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc 540
gatggcagct tttttatgta tagcaactg aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc 600
gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc 660
attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ccgcagctgt atagcgcgt ggcaacaaa 720
tgctgccatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgt tttgcggcgg cggcagcggc 780

ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggccgca actggtgcgc 840

gcgagattg cgatttgcgg catgagcacc tggagc 876

<210> 115

<211> 885

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 115

ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60

tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc 120

tgcgtggtgg tggatgtgag cgaagaagaa ccgcatgtgc agtttagctg gtttgaac 180

aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt 240

cgctggtga gcgcgtgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaatttaa 300

tgcaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa 360

ggcctggtgc gaaaccgca ggtgtatgtg atgggccgcgc cgaccgaaca gctgaccgaa 420

cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa 480

tggaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc 540

gatggcagct tttttatgta tagcaaacgt aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc 600

gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggctgcata accatcatgt ggaaaaaagc 660

attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ggccgagcc cgagctgta tagcgcgtg 720

gcgaacaaat gctgccatgt gggctgcacc aaacgcagcc tggcgcgctt ttgcggcggc 780

ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaactgtg cggccgcgaa 840

ctggtgcgcg cgagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 885

<210> 116

<211> 894

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 116

ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60

tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc 120

tgcgtggtgg tggatgtgag cgaagaagaa ccgcatgtgc agtttagctg gtttgaac 180

aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt 240

cgctgggtga gcgcgctgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa 300
 tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaacggaaa 360
 ggcttgggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa 420
 cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa 480
 tggaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc 540

gatggcagct tttttatgta tagcaaactg aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc 600
 gcgcgctttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggctgcata accatcatgt ggaaaaaagc 660
 attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ggccggcagc gcggcagccc gcagctgtat 720
 agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggccgcgttt 780
 tgcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 840
 ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagc 894

<210> 117

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 117

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

1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

20

<210> 118

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 118

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

1 5 10 15

<210> 119

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 119

Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg

1 5 10 15

Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

20 25

<210> 120

<211> 231

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 120

Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

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

<210> 121

<211> 226

<212> PRT

<213> Rattus Norvegicus

<400> 121

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

50 55 60

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

115 120 125

Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu
 130 135 140
 Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp

145 150 155 160
 Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val
 165 170 175
 Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu

 180 185 190
 Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val His
 195 200 205
 Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro
 210 215 220
 Gly Lys
 225
 <210> 122
 <211> 679
 <212> PRT
 <213> Homo Sapiens
 <400> 122
 Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
 1 5 10 15

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

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

Asn Ile Pro Ile Gly Leu Leu Tyr Cys Asp Leu Pro Glu Pro Arg Lys
 130 135 140

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

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

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

 Asp Glu Cys Lys Pro Val Lys Trp Cys Ala Leu Ser His His Glu Arg
 340 345 350
 Leu Lys Cys Asp Glu Trp Ser Val Asn Ser Val Gly Lys Ile Glu Cys
 355 360 365
 Val Ser Ala Glu Thr Thr Glu Asp Cys Ile Ala Lys Ile Met Asn Gly

370 375 380
 Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly Gly Phe Val Tyr Ile Ala Gly
 385 390 395 400

 Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu Asn Tyr Asn Lys Ser Asp
 405 410 415
 Asn Cys Glu Asp Thr Pro Glu Ala Gly Tyr Phe Ala Val Ala Val Val
 420 425 430
 Lys Lys Ser Ala Ser Asp Leu Thr Trp Asp Asn Leu Lys Gly Lys Lys
 435 440 445
 Ser Cys His Thr Ala Val Gly Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met
 450 455 460

 Gly Leu Leu Tyr Asn Lys Ile Asn His Cys Arg Phe Asp Glu Phe Phe
 465 470 475 480
 Ser Glu Gly Cys Ala Pro Gly Ser Lys Lys Asp Ser Ser Leu Cys Lys
 485 490 495
 Leu Cys Met Gly Ser Gly Leu Asn Leu Cys Glu Pro Asn Asn Lys Glu
 500 505 510
 Gly Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly
 515 520 525

 Asp Val Ala Phe Val Lys His Gln Thr Val Pro Gln Asn Thr Gly Gly
 530 535 540
 Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys Asp Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu Tyr Ala Asn
 565 570 575
 Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr Arg Lys Asp
 580 585 590

 Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln His Leu Phe
 595 600 605
 Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu Phe Arg Ser
 610 615 620

Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys
625 630 635 640
Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val
645 650 655

Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu
660 665 670
Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro
675
<210> 123
<211> 585
<212> PRT
<213> Homo Sapiens
<400> 123
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

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

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

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

 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 124

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 124

Asp Val Leu Ala Gly Leu Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser
1 5 10 15

Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys

20

<210> 125

<211> 27

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 125

Arg Ala Ala Pro Tyr Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile Arg

1 5 10 15

Ala Val Ile Phe Thr Cys Gly Gly Ser Arg Trp

20 25

<210> 126

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 126

Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys

1 5 10 15

<210> 127

<211> 72

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 127

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60

gcgcgctttt gc 72

<210> 128

<211> 48

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 128

aaatgctgcc atgtgggctg caccaaacgc agcctggcgc gcttttgc 48

<210> 129

<211> 84

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 129

agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc ggccgcgaac tggcgcgcgc gcagattgcg 60

atttcggca tgagcacctg gagc 84

<210> 130

<211> 693

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 130

ccgaaagcgt gcgataaac ccatacctgc ccgccgtgcc cggcgccgga actgctgggc 60

ggcccagcgc tgtttctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc 120

ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac 180

tggatatgtg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat 240

aacagcacct atcgctggtg gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc 300

aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcgctgccgg cgccgattga aaaaaccatt 360

agcaaagcga aaggccagcc gcgcgaaccg caggtgtata ccctgccgc gagccgcgat 420

gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgcctggtga aaggctttta tccgagcgat 480

attgcggtgg aatgggaaag caacggccag ccggaaaaca actataaac cccccgccg 540

gtgctggata gcgatggcag ctttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc 600

tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgctgca taaccattat 660

accagaaaa gcctgagcct gagccccggc aaa 693

<210> 131

<211> 678

<212> DNA

<213> Rattus Norvegicus

<400> 131

acctgcccga cctgccataa atgcccgtg ccggaactgc tggcgccccc gagcgtgttt 60

atccccccgc cgaaaccgaa agatattctg ctgattagcc agaacgcgaa agtgacctgc 120

gtggtggtgg atgtgagcga agaagaaccg gatgtgcagt ttagctggtt tgtgaacaac 180

gtggaagtgc ataccgcga gaccagccg cgcgaagaac agtataacag cacctttcgc 240

gtggtgagcg cgctgccgat tcagcatcag gattggatga gcggcaaaga atttaaatgc 300

aaagtgaaca acaaagcgct gccgagcccg attgaaaaaa ccattagcaa accgaaaggc 360

ctggtgcgca aaccgcaggt gtatgtgatg ggcccgcgca ccgaacagct gaccgaacag 420

accgtgagcc tgacctgcct gaccagcggc tttctgccga acgatattgg cgtggaatgg 480

accagcaacg gccatatga aaaaaactat aaaaacaccg aaccggtgat ggatagcgat 540

ggcagctttt ttatgtatag caaactgaac gtggaacgca gccgctggga tagccgcgcg 600

ccgtttgtgt gcagcgtggt gcatgaaggc ctgcataacc atcatgtgga aaaaagcatt 660

agccgccccg cgggcaaa 678

<210> 132

<211> 2037

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 132

gtgccggata aaaccgtgcg ctggtgcgcg gtgagcgaac atgaagcgac caaatgccag 60

agcttttcgag atcatatgaa aagcgtgatt ccgagcgatg gcccgagcgt ggctgctgtg 120

aaaaaagcga gctatctgga ttgcattcgc gcgattgcgg cgaacgaagc ggatgcggtg 180

accctggatg cgggcctggt gtatgatgcg tatctggcgc cgaacaacct gaaaccggtg 240

gtggcggaat ttatggcag caaagaagat ccgagacct tttattatgc ggtggcggtg 300

gtgaaaaaag atagcggctt tcagatgaac cagctgcgcg gcaaaaaaag ctgccatacc 360

ggcctgggcc gcagcgcggg ctggaacatt ccgattggcc tgctgtattg cgatctgccg 420

gaaccgcgca aaccgctgga aaaagcgggt gcgaactttt ttagcggcag ctgcgcgccg 480

tgcgcggtatg gcaccgattt tccgcagctg tgccagctgt gcccggtgctg cggtgcagc 540

accctgaacc agtattttgg ctatagcggc gcgttttaaat gcctgaaaga tggcgcgggc 600

gatgtggcgt ttgtgaaaca tagcaccatt ttgaaaacc tggcgaacaa agcggatcgc 660

gatcagtatg aactgctgtg cctggataac acccgcaaac cggtggatga atataaagat 720

tgccatctgg cgcaggtgcc gagccatacc gtggtggcgc gcagcatggg cggcaaagaa 780

gatctgattt gggaaactgct gaaccaggcg caggaacatt ttggcaaaga taaaagcaaa 840

gaatttcagc tgtttagcag cccgcatggc aaagatctgc tgtttaaaga tagcgcgcat 900

ggctttctga aagtgccgcc gcgcatggat gcgaaaatgt atctgggcta tgaatatgtg 960

accgcgattc gcaacctgcg cgaaggcacc tgcccgaag cgccgaccga tgaatgcaaa 1020

ccgtgaaat ggtgcgcgct gagccatcat gaacgcctga aatgcgatga atggagcgtg 1080

aacagcgtgg gcaaaattga atgcgtgagc gcggaaacca ccgaagattg cattgcgaaa 1140

attatgaacg gcgaagcgga tgcgatgagc ctggatggcg gctttgtgta tattgcgggc	1200
aaatgcggcc tgggtgccgt gctggcggaa aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat	1260
accccggaag cgggctatit tgcggtggcg gtgggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc	1320
tgggataacc tgaaggcaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg	1380
aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaacatt gccgctttga tgaatttttt	1440
agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaaa gatagcagcc tgtgcaaact gtgcatgggc	1500
agcggcctga acctgtgcga accgaacaac aaagaaggct attatggcta taccggcgcg	1560
tttcgctgcc tgggtgaaaa aggcgatgtg gcgtttgtga aacatcagac cgtgccgcag	1620
aacacggcg gcaaaaacc ggatccgtgg gcgaaaaacc tgaacgaaaa agattatgaa	1680
ctgctgtgcc tggatggcac ccgcaaaccg gtggaagaat atgcgaactg ccatctggcg	1740
cgcgcgccga accatgcggt ggtgaccgc aaagataaag aagcgtgcgt gcataaaatt	1800
ctgcgcagc agcagcatct gtttggcagc aacgtgaccg attgcagcgg caacttttgc	1860
ctgtttcgca gcgaaacaa agatctgctg tttcgcgatg ataccgtgtg cctggcgaaa	1920
ctgcatgac gcaacaccta tgaaaaatat ctggcggaag aatatgtgaa agcgggtggc	1980
aacctgcga aatgcagcac cagcagcctg ctggaagcgt gcacctttcg ccgcccg	2037
<210> 133	
<211> 1755	
<212> DNA	
<213> Homo Sapiens	
<400> 133	
gatgcgata aaagcgagt ggcgcatgc tttaaagatc tggcggaaga aaactttaaa	60
gcgctggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg	120
aaactggtga acgaagtgc cgaatttgcg aaaacctgcg tggcggatga aagcgcgga	180
aactgcgata aaagcctgca taccctgttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg	240
cgcgaaacct atggcgaaat ggcggttgc tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa	300
tgctttctgc agcataaaga tgataaccg aacctgccgc gcctgggtgcg cccggaagtg	360
gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat	420
gaaattgcgc gccccatcc gtatttttat gcgccggaac tgctgttttt tgcgaaacgc	480
tataaagcgg cgtttaccga atgctgccag gcggcgata aagcggcgtg cctgctgccg	540
aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc	600
gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcggtggc gcgcctgagc	660

cagcgctttc cgaaagcgga atttgcggaa gtgagcaaac tggtgaccga tctgaccaaa	720
gtgcataccg aatgctgccg tggcgatctg ctggaatgcg cggatgatcg cgcgcatctg	780
gcgaaatata tttgcgaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa	840
aaaccgctgc tggaaaaaag ccattgcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg	900
gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg	960
gaagcgaaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat	1020
tatagcgtgg tgctgctgct gcgcctggcg aaaacctatg aaaccaccct ggaaaaatgc	1080
tgcgcgccgg cggatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg	1140
gtggaagaac cgcagaacct gattaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa	1200
tataaatttc agaacgcgct gctggtgcgc tatacaaaa aagtgccgca ggtgagcacc	1260
ccgaccctgg tggaagtgag ccgcaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat	1320
ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtggtgct gaaccagctg	1380
tgctgctgc atgaaaaaac cccggtgagc gatcgctga ccaaatgctg caccgaaagc	1440
ctggtgaacc gccgccctg ctttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa	1500
gaatttaacg cgaaacctt tacctttcat gcggatattt gcaccctgag cgaaaaagaa	1560
cgccagatta aaaaacagac cgcgtggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc	1620
aaagaacagc tgaagcggg gatggatgat ttgcggcgt ttgtggaaaa atgctgcaaa	1680
gcggatgata aagaaacctg ctttgcggaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag	1740
gcggcgtgg gcctg	1755
<210> 134	
<211> 72	
<212> DNA	
<213> Homo Sapiens	
<400> 134	
gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt	60
agcagcctgt gc	72
<210> 135	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Homo Sapiens	
<400> 135	

cgcgcgggcg cgatggcgt ggcctgtgc ggccgcgaat ttattcgcg ggtgatttt 60

acctgcggcg gcagccgctg g 81

<210> 136

<211> 45

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 136

tgctgcaaat ggggctgcag caaaagcgaa attagcagcc tgtgc 45

<210> 137

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 137

Gly Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 138

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 138

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 139

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 140

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

1 5 10

<210> 141

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 141

Gly Gly Gly Ser Gly Cys Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 142

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 142

Gly Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 143

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 143

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

1 5 10

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 144

Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys Arg

1 5

<210> 145

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 145

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

1 5 10

<210> 146

<211> 11

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 146

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 147

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 147

Ile Glu Gly Arg Met Asp

1 5

<210> 148

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 148

Gly Gly Ser Pro

1

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 149

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro

1 5

<210> 150

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 150

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro

1 5 10

<210> 151

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 151

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 152

<211> 71

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 152

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Ser Trp Met Glu Glu Val

1 5 10 15

Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys

20 25 30

Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln

35 40 45

Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys

50 55 60

Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys

65 70

<210> 153

<211> 71

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 153

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

1 5 10 15

Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser

20 25 30

Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu

35 40 45

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile

50 55 60

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

65 70

<210> 154

<211> 71

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 154

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

Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys
 65 70

<210> 155

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 155

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

<210> 156

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion polypeptide

<400> 156

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Arg Ala Ala Pro Tyr Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Ser Arg Trp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ala Arg Phe Cys

65 70

<210> 157

<211> 213

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion

<400> 157

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 60

ggccgcgaac tggatgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagcggcggc 120

ggcagcggcg gcggcagcgg ccagctgtat agcgcgtgg cgaacaaatg ctgccatgtg 180

ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt tgc 213

<210> 158

<211> 213

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion

<400> 158

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc 60

tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg 180

cagattgcga ttgcggcat gagcacctgg agc 213

<210> 159

<211> 213

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion

<400> 159

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc	60
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgctg atttgcggca tgagcacctg gagcggcggc	120
ggcagcggcg gcggcagcgg cgatgtgctg gcgggcctga gcagcagctg ctgcaaatgg	180
ggctgcagca aaagcgaaat tagcagcctg tgc	213

<210> 160

<211>

210

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion

<400> 160

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcc gcgcggcgcc gtatggcgtg cgctgtgctg gccgcgaatt tattcgcgcg	180
gtgattttta cctgcggcgg cagccgctgg	210

<210> 161

<211> 210

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> relaxin fusion

<400> 161

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg gcgcggcgcg cgatggcgt gcgcctgtgc	60
ggccgcgaat ttattcgcgc ggtgattttt acctgcggcg gcagccgctg gggcggcggc	120
agcggcggcg gcagcggcca gctgtatagc gcgctggcga acaaatgctg ccatgtgggc	180
tgaccaaac gcagcctggc gcgcttttgc	210