



공개특허 10-2024-0115352



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0115352
(43) 공개일자 2024년07월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/55 (2006.01) *A61P 29/00* (2023.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/55 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7023942(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년11월28일
심사청구일자 2024년07월17일
- (62) 원출원 특허 10-2020-7017255
원출원일자(국제) 2018년11월28일
심사청구일자 2021년11월22일
- (85) 번역문제출일자 2024년07월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/062808
- (87) 국제공개번호 WO 2019/112854
국제공개일자 2019년06월13일
- (30) 우선권주장
62/595,357 2017년12월06일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
팬디온 오퍼레이션스, 인코포레이티드
미국, 메사추세츠 02472, 워터타운, 세컨 플로어,
콜리지 애브뉴 134
- (72) 발명자
히킨슨-스콧, 나단
미국, 메사추세츠 02139, 캠브릿지, 노스, 메인
스트리트 700
바이니, 조앤 엘.
미국, 메사추세츠 02139, 캠브릿지, 노스, 메인
스트리트 700
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
최덕규

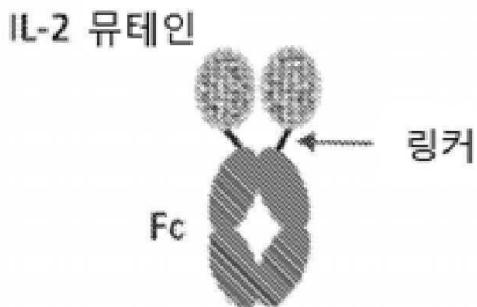
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 IL-2 뮤테인 및 그 용도

(57) 요약

본 명세서는 IL-2 뮤테인, 이를 포함하는 조성물 및 이를 사용하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/65 (2017.08)*A61K 47/68* (2017.08)*A61P 29/00* (2023.02)*C07K 2319/30* (2013.01)

(72) 발명자

비스웨스와라이아, 요스나

미국, 메사추세츠 02139, 캠브릿지, 노스, 메인 스
트리트 700

삼손, 에릭 로버트

미국, 메사추세츠 02139, 캠브릿지, 노스, 메인 스
트리트 700

오티포비, 케빈 루이스

미국, 메사추세츠 02139, 캠브릿지, 노스, 메인 스
트리트 700

(30) 우선권주장

62/675,972 2018년05월24일 미국(US)

16/109,875 2018년08월23일 미국(US)

16/109,897 2018년08월23일 미국(US)

62/721,644 2018년08월23일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

염증성 장애를 치료하는 의약을 제조하기 위한 펩티드로서, 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 염증성 장애가 원형 탈모증, 아토피성 피부염, 포진성 피부염, 건선, 루푸스, 이식편 대 숙주 질환[graft versus host disease, GVHD], 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환, 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병성 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병성 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 피부근염[dermatomyositis], 건선 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성 골수염, 피부근염[dermatomyolitis], 결절 다발동맥염, 베게너 육아종증, 동맥염, 류마티스성 다발근육통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙 경화증, 경화성 담관염, 쇼그렌 증후군, 판상 건선, 점상 건선, 역위 건선, 농포성 건선, 홍피성 건선, 피부염, 죽상경화증, 스틸병, 전신 홍반 루푸스[Systemic Lupus Erythematosus, SLE], 중증 근무력증, 염증성 장 질환[inflammatory bowel disease, IBD], 크론병, 궤양성 대장염, 셀리악병, 다발성 경화증[multiple sclerosis, MS], 천식, COPD, 비부비동염, 폴립이 있는 비부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레병, 제1형 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스병), 애디슨병, 레이노 현상, 자가면역 간염, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부, 신장 손상, C형 간염 유도 혈관염, 자연 임신 상실, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체 경화증[focal segmental glomerulosclerosis, FSGS], 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 연관 사구체신장병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 및 루푸스 신염인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 펩티드가 링커 펩티드를 추가로 포함하고, 상기 링커 펩티드가 (GGGGS)_n의 서열을 포함하고, n은 4인 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 펩티드가 Fc 펩티드를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 펩티드.

청구항 4

염증성 장애를 치료하는 의약을 제조하기 위한 약학 조성물로서, 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 염증성 장애가 원형 탈모증, 아토피성 피부염, 포진성 피부염, 건선, 루푸스, 이식편 대 숙주 질환[GVHD], 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환, 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병성 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병성 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 피부근염[dermatomyositis], 건선 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성 골수염, 피부근염[dermatomyolitis], 결절 다발동맥염, 베게너 육아종증, 동맥염, 류마티스성 다발근육통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙 경화증, 경화성 담관염, 쇼그렌 증후군, 판상 건선, 점상 건선, 역위 건선, 농포성 건선, 홍피성 건선, 피부염, 죽상경화증, 스틸병, 전신 홍반 루푸스[SLE], 중증 근무력증, 염증성 장 질환[IBD], 크론병, 궤양성 대장염, 셀리악병, 다발성 경화증[MS], 천식, COPD, 비부비동염, 폴립이 있는 비부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레병, 제1형 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스병), 애디슨병, 레이노 현상, 자가면역 간염, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부, 신장 손상, C형 간염 유도 혈관염, 자연 임신 상실, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체 경화증[FSGS], 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 연관 사구체신장병증, 막증식

사구체신염, IgA 신장병증, 및 루푸스 신염인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 5

염증성 장애를 치료하는 의약을 제조하기 위한 웹티드로서, 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 염증성 장애가 원형 탈모증, 아토피성 피부염, 포진성 피부염, 건선, 루푸스, 이식편 대 숙주 질환[GVHD], 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환, 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병성 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병성 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 피부근염[dermatomyositis], 건선 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성 골수염, 피부근염[dermatomyolitis], 결절 다발동맥염, 베게너 육아종증, 동맥염, 류마티스성 다발근육통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙 경화증, 경화성 담관염, 쇼그렌 증후군, 판상 건선, 점상 건선, 역위 건선, 농포성 건선, 홍피성 건선, 피부염, 죽상경화증, 스틸병, 전신 홍반 루푸스[SLE], 중증 근무력증, 염증성 장 질환[IBD], 크론병, 궤양성 대장염, 셀리악병, 다발성 경화증[MS], 천식, COPD, 비부비동염, 폴립이 있는 비부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레병, 제1형 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스병), 애디슨병, 레이노 현상, 자가면역 간염, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부, 신장 손상, C형 간염 유도 혈관염, 자연 임신 상실, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체 경화증[FSGS], 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 연관 사구체신장병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 및 루푸스 신염인 것을 특징으로 하는 웹티드.

청구항 6

염증성 장애를 치료하는 의약을 제조하기 위한 약학 조성물로서, 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 염증성 장애가 원형 탈모증, 아토피성 피부염, 포진성 피부염, 건선, 루푸스, 이식편 대 숙주 질환[GVHD], 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환, 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절 염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병성 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병성 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청 음성, 부착부병, 관절증 증후군), 피부근염[dermatomyositis], 건선 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성 골수염, 피부근염[dermatomyolitis], 결절 다발동맥염, 베게너 육아종증, 동맥염, 류마티스성 다발근육통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙 경화증, 경화성 담관염, 쇼그렌 증후군, 판상 건선, 점상 건선, 역위 건선, 농포성 건선, 홍피성 건선, 피부염, 죽상경화증, 스틸병, 전신 홍반 루푸스[SLE], 중증 근무력증, 염증성 장 질환[IBD], 크론병, 궤양성 대장염, 셀리악병, 다발성 경화증[MS], 천식, COPD, 비부비동염, 폴립이 있는 비부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레병, 제1형 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스병), 애디슨병, 레이노 현상, 자가면역 간염, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부, 신장 손상, C형 간염 유도 혈관염, 자연 임신 상실, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체 경화증[FSGS], 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 연관 사구체신장병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 및 루푸스 신염인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호-참조

[0002]

본 출원은 2018년 8월 23일 출원된 미국 가출원 제62/721,644호, 2018년 5월 24일 출원된 미국 가출원 제62/675,972호, 2017년 12월 6일 출원된 미국 가출원 제62/595,357호, 2018년 8월 23일 출원된 미국 정규출원 제16/109,875호 및 2018년 8월 23일 출원된 미국 정규출원 제16/109,897호를 우선권으로 주장하고, 이들은 각각 그 전문이 참조로 포함된다.

[0003]

기술분야

[0004] 본 발명의 명세서에 제공된 구체예는 IL-2 뮤테인으로 지칭되는 단백질, 이를 포함하는 조성물 및 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] IL-2는 3개의 막판통 수용체 서브유닛: IL-2 결합시 세포내 신호전달 사건을 함께 활성화시키는 IL-2R β 및 IL-2R γ , 및 다른 2개의 수용체 서브유닛에 대해 IL-2를 제시하는 역할을 하는 CD25(IL-2R α)에 결합한다. IL-2R β γ 에 의해 전달되는 신호는 PI3-키나제, Ras-MAP-키나제 및 STAT5 경로의 신호를 포함한다.

[0006] T 세포는 조직에 일반적으로 존재하는 저농도의 IL-2에 반응하기 위해 CD25의 발현을 필요로 한다. CD25를 발현하는 T 세포는 CD25를 발현하도록 활성화된 자가면역 염증을 억제하는데 필수적인 CD4 $^+$ FOXP3 $^+$ 조절 T 세포(T-reg 세포) 및 FOXP3 $^-$ T 세포를 모두 포함한다. FOXP3 $^-$ CD4 $^+$ T 효과기 세포(T-eff)는 CD4 $^+$ 또는 CD8 $^+$ 세포일 수 있으며, 둘 다 염증성일 수 있고, 대상(subject)의 면역계가 기관 또는 다른 조직을 공격하는 자가면역 및 다른 질병에 기여할 수 있다. IL-2-자극된 STAT5 신호전달은 정상적인 T-reg 세포 성장과 생존 및 높은 FOXP3 발현에 중요하다.

[0007] 3개의 IL-2R 사슬 각각에 대해 저친화성(low affinity) IL-2가 있기 때문에, IL-2R β 및 IL-2R γ 에 대한 친화력의 추가 감소가 CD25에 대한 친화력의 증가에 의해 상쇄될 수 있다. IL-2의 돌연변이 변이체가 생성되었다. 이들 IL-2 돌연변이체는 IL-2 뮤테인으로 지칭될 수 있고 다양한 질환의 치료에 유용한 것으로 밝혀졌다. 그러나, 다양한 응용분야에 사용될 수 있는 추가의 IL-2 뮤테인 및 조성물이 여전히 필요하다. 본 발명의 구체예는 이러한 요구뿐만 아니라 다른 요구도 충족시킨다.

발명의 내용

요약

[0009] 본 발명의 일부 구체예에서, 위치 73, 76, 100 또는 138에 돌연변이를 포함하는, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 웨티드가 제공된다.

[0010] 본 발명의 일부 구체예에서, 위치 53, 56, 80 또는 118에서 돌연변이를 포함하는, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 웨티드가 제공된다.

[0011] 본 발명의 일부 구체예에서, 웨티드는 서열번호 43의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 X₁, X₂, 및 X₃ 및 X₄ 중 적어도 하나는 I이고 나머지는 L 또는 I이다.

[0012] 본 명세서에 기재된 단백질 및 동일한 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 약학 조성물이 또한 제공된다. 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 벡터가 또한 본 명세서에 제공된다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 핵산을 포함하는 플라스미드가 제공된다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 핵산 분자, 벡터 또는 플라스미드를 포함하는 세포가 제공된다.

[0013] 본 발명의 일부 구체예에서, T 조절 세포를 활성화시키는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 T 조절 세포를 본 명세서에 기재된 웨티드 또는 본 명세서에 기재된 약학 조성물과 접촉시키는 것을 포함한다.

[0014] 본 발명의 일부 구체예에서, 대상의 염증성 장애를 치료하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 웨티드(예를 들어, 치료적 유효량의 웨티드)를 필요로 하는 대상을 포함하지만 이에 한정되지는 않는 대상에게 웨티드를 투여하는 단계를 포함한다.

[0015] 본 발명의 일부 구체예에서, T 조절 세포에서 STAT5 인산화를 촉진 또는 자극하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 대상에게 웨티드(예를 들어, 치료적 유효량의 웨티드)를 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 명세서에 제공된 IL-2 뮤테인의 비-제한적 구체예를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] T-reg 세포 증식, 생존, 활성화 및/또는 기능을 조절(예를 들어, 증가)할 수 있는 치료제가 본 명세서에 기술된

다. 일부 구체예에서, 조절은 T-reg 세포에 대해 선택적이거나 특이적이다.

[0018] 본 명세서에 사용된 용어 "선택적(selective)"은 T-reg 세포에서는 활성을 조절하는 치료제 또는 단백질이지만 비-조절성 T 세포에서는 활성을 촉진시키는 능력이 제한되거나 없는 것을 의미한다.

[0019] 본 발명의 일부 구체예에서, 치료제는 IL-2의 돌연변이체이다. IL-2의 돌연변이체는 IL-2 뮤테인으로 지칭될 수 있다. IL-2는 미성숙 형태와 성숙 형태의 두 가지 형태로 존재할 수 있다. 성숙한 형태는 선도 서열(leader sequence)이 제거된 곳에 있다. 이는 번역 후 프로세스 중에 수행된다. 미성숙 IL-2의 야생형 서열은 다음과 같다:

[0020] MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRP
RDLISNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIIVEFLNRWITFCQSIISTLT(서열 번호 1).

[0021] 성숙 IL-2의 야생형 서열은 다음과 같다:

[0022] APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELGSETT
FMCEYADETATIIVEFLNRWITFCQSIISTLT(성숙 IL-2 서열)(서열 번호 2).

[0023] IL-2 뮤테인 분자는 하나 이상의 IL-2 잔기를 돌연변이시킴으로써 제조될 수 있다. IL-2-뮤테인의 비-제한적 예는 WO2016/164937, US9580486, US7105653, US9616105, US 9428567, US2017/0051029, US2014/0286898A1, WO2014153111A2, WO2010/085495, WO2016014428A2, WO2016025385A1, 및 US20060269515에서 찾을 수 있고, 이를 각각은 전체로서 참조로 포함된다.

[0024] 본 발명의 일부 구체예에서, 상기 서열(서열 번호 2)의 1번 위치의 알라닌이 결실된다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 성숙 IL-2 서열의 위치 125에서 시스테인으로 치환되는 세린을 포함한다. IL-2 뮤테인 분자인 돌연변이 및 치환의 다른 조합은 US20060269515에 기재되어 있으며, 이는 그 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 일부 구체예에서, 위치 125의 시스테인은 또한 발린(valine) 또는 알라닌(alanine)으로 치환된다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 V91K 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 N88D 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 N88R 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 H16E, D84K, V91N, N88D, V91K 또는 V91R, 이들의 임의의 조합의 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 이들 IL-2 뮤테인 분자는 또한 본 명세서에 기재된 바와 같은 위치 125에서의 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 T3N, T3A, L12G, L12K, L12Q, L12S, Q13G, E15A, E15G, E15S, H16A, H16D, H16G, H16K, H16M, H16N, H16R, H16S, H16T, H16V, H16Y, L19A, L19D, L19E, L19G, L19N, L19R, L19S, L19T, L19V, D20A, D20E, D20H, D20I, D20Y, D20F, D20G, D20T, D20W, M23R, R81A, R81G, R81S, R81T, D84A, D84E, D84G, D84I, D84M, D84Q, D84R, D84S, D84T, S87R, N88A, N88D, N88E, N88I, N88F, N88G, N88M, N88R, N88S, N88V, N88W, V91D, V91E, V91G, V91S, I92K, I92R, E95G, 및 Q126로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자의 아미노산 서열은 C125A 또는 C125S 치환 및 T3N, T3A, L12G, L12K, L12Q, L12S, Q13G, E15A, E15G, E15S, H16A, H16D, H16G, H16K, H16M, H16N, H16R, H16S, H16T, H16V, H16Y, L19A, L19D, L19E, L19G, L19N, L19R, L19S, L19T, L19V, D20A, D20E, D20F, D20G, D20T, D20W, M23R, R81A, R81G, R81S, R81T, D84A, D84E, D84G, D84I, D84M, D84Q, D84R, D84S, D84T, S87R, N88A, N88D, N88E, N88F, N88I, N88G, N88M, N88R, N88S, N88V, N88W, V91D, V91E, V91G, V91S, I92K, I92R, E95G, Q126I, Q126L, 및 Q126F로부터 선택된 하나의 치환을 갖는 성숙 IL-2 서열에 제시된 아미노산 서열과 상이하다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 C125A 또는 C125S 치환 및 D20H, D20I, D20Y, D20E, D20G, D20W, D84A, D84S, H16D, H16G, H16K, H16R, H16T, H16V, I92K, I92R, L12K, L19D, L19N, L19T, N88D, N88R, N88S, V91D, V91G, V91K, 및 V91S로부터 선택된 하나의 치환을 갖는 성숙 IL-2 서열에 제시된 아미노산 서열과 상이하다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 N88R 및/또는 D20H 돌연변이를 포함한다.

[0025] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 아미노산 30, 아미노산 31, 아미노산 35, 아미노산 69 및 아미노산 74로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서 폴리펩티드 서열의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 위치 30에서의 돌연변이는 N30S이다. 일부 구체예에서, 위치 31에서의 돌연변이는 Y31H이다. 일부 구체예에서, 위치 35에서의 돌연변이는 K35R이다. 일부 구체예에서, 위치 69에서의 돌연변이는 V69A이다. 일부 구체예에서, 위치 74에서의 돌연변이는 Q74P이다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 위치 30, 31 및/또는 35에서 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0026] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 상기 제공된 성숙한 인간 IL-2 서열과 관련한 N88R, N88I, N88G, D20H, D109C, Q126L, Q126F, D84G, 또는 D84I로 이루어진 군으로부터 선택된 치환을 포함한다. 일부 구

체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 D109C의 치환 및 N88R 치환과 C125S 치환 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. 일부 구체예에서, 위치 109의 IL-2 뮤테인 분자에 있는 시스테인은 폴리에틸렌 글리콜 모이어티(moiety)에 연결되며, 여기서 폴리에틸렌 글리콜 모이어티는 약 5 내지 약 40 kDa의 분자량을 갖는다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 위치 109, 126 또는 84에서 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0027] 본 발명의 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 임의의 치환은 위치 125에서의 치환과 조합된다. 치환은 C125S, C125A 또는 C125V 치환일 수 있다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 위치 125에서 돌연변이를 포함하지 않는다.

[0028] IL-2 뮤테인에 대해 달리 기재되지 않는 한, 본 명세서에 언급된 넘버링(numbering)은 성숙 서열을 지칭한다. 서열 또는 위치가 서열 번호 1을 나타내는 경우, 미성숙 서열이다. 그러나, 미성숙 서열(서열 번호 1)로부터 성숙 서열(서열 번호 2)로 위치를 전치시키는 것은 서열 번호 1에 언급된 위치에서 20을 빼서 서열 번호 2에서 상응하는 위치를 얻는 것뿐이다.

[0029] 본 명세서에 기재된 치환 또는 돌연변이 이외에, 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 위치 73, 76, 100 또는 138 중 하나 이상 또는 서열 번호 2에 상응하는 위치 53, 56, 80 또는 118 중 하나 이상에서의 위치에서 치환/돌연변이를 갖는다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 위치 73 및 76; 73 및 100; 73 및 138; 76 및 100; 76 및 138; 100 및 138; 73, 76 및 100; 73, 76 및 138; 73, 100 및 138; 76, 100 및 138; 또는 73, 76, 100 및 138 각각에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 위치 53 및 56; 53 및 80; 53 및 118; 56 및 80; 56 및 118; 80 및 118; 53, 56 및 80; 53, 56 및 118; 53, 80 및 118; 56, 80 및 118; 또는 53, 56, 80 및 118 각각에서 돌연변이를 포함한다. IL-2는 다른 단백질에 융합되거나 테더링될(tethered) 수 있으므로, 본 명세서에 사용된 바와 같이, 상기 용어는 서열 번호 6 또는 15에 대한 참조로서 서열이 NCBI 웹사이트로 사용될 수 있는 것과 같은, 정렬 소프트웨어에 대한 디폴트 설정과 어떻게 정렬되는지를 지칭하는 것에 대응한다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 이소류신에 대한 뮤타인이다. 따라서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 위치 73, 76, 100 또는 138 또는 서열 번호 2에 상응하는 하나 이상의 위치 53, 56, 80 또는 118의 위치에서 하나 이상의 이소류신을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 L53에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 L56에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 L80에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤타인은 서열 번호 2에 상응하는 L118에서 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 이소류신에 대한 뮤타인이다. 일부 구체예에서, 뮤타인은 또한 서열 번호 2에 상응하는 이들 뮤타인에서 위치 69, 74, 88, 125, 또는 이들의 임의의 조합으로서의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 V69A 돌연변이이다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 Q74P 돌연변이이다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 N88D 또는 N88R 돌연변이이다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 C125A 또는 C125S 돌연변이이다.

[0030] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤타인은 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108 및 145 또는 서열 번호 2에 상응하는 하나 이상의 위치 29, 31, 35, 37, 48, 69, 71, 74, 88 및 125에서 돌연변이를 포함한다. 치환은 단독으로 또는 서로 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤타인은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 각각의 위치 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108 및 145에서 치환을 포함한다. 이러한 조합은 비-제한적인 예로서 위치 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108, 및 145; 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 및 108; 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 및 94; 49, 51, 55, 57, 68, 89, 및 91; 49, 51, 55, 57, 68, 및 89; 49, 51, 55, 57, 및 68; 49, 51, 55, 및 57; 49, 51, 및 55; 49 및 51; 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108, 및 145; 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 및 108; 51, 55, 57, 68, 89, 91, 및 94; 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108, 및 145; 55, 57, 68, 89, 91, 94, 및 108; 55, 57, 68, 89, 91, 및 94; 55, 57, 68, 89, 91, 및 94; 55, 57, 68, 89, 및 91; 55, 57, 68, 및 89; 55, 57, 및 68; 55 및 57; 57, 68, 89, 91, 94, 108, 및 145; 57, 68, 89, 91, 94, 및 108; 57, 68, 89, 91, 및 94; 57, 68, 89, 및 91; 57, 68, 및 89; 57 및 68; 68, 89, 91, 94, 108, 및 145; 68, 89, 91, 94, 및 108; 68, 89, 91, 및 94; 68, 89, 및 91; 68 및 89; 89, 91, 94, 108, 및 145; 89, 91, 94, 및 108; 89, 91, 및 94; 89 및 91; 91, 94, 108, 및 145; 91, 94, 및 108; 91, 및 94; 또는 94 및 108에서 돌연변이를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 각각의 돌연변이는 서로 조합될 수 있다. 서열 번호 2에서 동일한 치환이 이루어질 수 있지만, 본 명세서로부터 분명한 바와 같이 넘버링이 적절하게 조정될 것이다(서열 번호 1에 대한 넘버링보다 적은 20은 서열 번호 2의 위치에 상응함).

[0031] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤타인은 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2의 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95 및 126)에서 돌연변이를

포함한다. 이들 돌연변이는 본 명세서에 기재된 이소류신에 대한 다른 류신 돌연변이 또는 서열 번호 1에 상응하는 위치 73, 76, 100 또는 138 또는 서열 번호 2에 상응하는 하나 이상의 위치 53, 56, 80 또는 118에서의 돌연변이와 조합될 수 있다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 E35Q, H36N, Q42E, D104N, E115Q 또는 Q146E, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 구체예에서, 이러한 치환 중 하나 이상은 야생형이다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2에서 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95 또는 126)에서 야생형 잔기를 포함한다.

[0032] 이들 위치에서의 돌연변이는 본 명세서 및 상기 기재된 서열 번호 1에 상응하는 위치 73, 76, 100 또는 138 또는 서열 번호 2에 상응하는 하나 이상의 위치 53, 56, 80 또는 118에서 치환을 포함하나 이에 제한되지 않는 본 명세서에 기재된 임의의 다른 돌연변이와 조합될 수 있다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 N49S 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 Y51S 또는 Y51H 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 K55R 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 T57A 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 V89A 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 N91R 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 Q94P 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 C145A 또는 C145S 돌연변이를 포함한다.

[0033] 이들 치환은 단독으로 또는 서로 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 이들 치환 각각을 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 이들 돌연변이 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개를 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2의 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95, 126 및 126)에서 야생형 잔기를 포함한다.

[0034] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 N29S 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 Y31S 또는 Y31H 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 K35R 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 T37A 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 K48E 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 V69A 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 N71R 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 Q74P 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 N88D 또는 N88R 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 서열 번호 2에 상응하는 C125A 또는 C125S 돌연변이를 포함한다. 이들 치환은 단독으로 또는 서로 조합하여 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 이들 돌연변이 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개를 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 이들 치환 각각을 포함한다. 일부 구체예에서, 뮤테인은 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2의 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95 및 126)에서 야생형 잔기를 포함한다.

[0035] 본 명세서에 기재된 임의의 IL-2 뮤테인에 대해, 일부 구체예에서, 서열 번호 1에 상응하는 하나 이상의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2에서 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95 및 126)는 야생형이다(예를 들어, 서열 번호 1 또는 2에 나타난 바와 같다). 일부 구체예에서, 서열 번호 1에 상응하는 2, 3, 4, 5, 6개 또는 각각의 위치 35, 36, 42, 104, 115 또는 146 또는 서열 번호 2의 동등한 위치(예를 들어, 위치 15, 16, 22, 84, 95 및 126)는 야생형이다.

[0036] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 다음의 서열을 포함한다:

[0038] *MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATEIKHLQCLEEELKPLEEARLAPSKNFHLLPRDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSISTLT(서열 번호 3)

[0039] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 다음의 서열을 포함한다:

[0040] MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATEKLHQCLEEELKPLEEARLAPSKNFHLLPRDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSISTLT(서열 번호 4)

[0041] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 다음의 서열을 포함한다:

- [0042] MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHLQCLEEELKPLEEARLAPSKNFH RPL
RDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATIIVEFLNRWITFSQSIIISTLT(서열 번호 5)
- [0043] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 다음의 서열을 포함한다:
- [0044] MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHLQCLEEELKPLEEARLAPSKNFH RPL
RDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATIIVEFLNRWITFSQSIIISTLT(서열 번호 6)
- [0045] 본 발명의 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 IL-2 뮤테인 서열은 IL-2 선도 서열을 포함하지 않는다. IL-2 선도 서열은 MYRMQLLSCIALSLALVTNS의 서열(서열 번호 7)로 나타낼 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 상기 예시된 서열 또한 선도 서열이 없는 웨티드를 포함할 수 있다. 서열 번호 3-6은 서열 번호 1에 상응하는 위치 73, 76, 100 또는 138 중 하나 또는 서열 번호 2에 상응하는 위치 53, 56, 80 또는 118 중 하나 이상에서의 돌연변이만으로 예시되어 있지만, 웨티드는 이를 위치에서 1, 2, 3 또는 4개의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 각 위치에서의 치환은 이소류신 또는 다른 유형의 보존적 아미노산 치환이다. 일부 구체예에서, 언급된 위치의 류신은 독립적으로 이소류신, 발린, 메티오닌 또는 글리신, 알라닌, 글루타민 또는 글루탐산으로 치환된다.
- [0046] 본 발명의 일부 구체예에서, 서열 번호 2의 IL-2 단백질은 다음의 돌연변이를 포함한다: V69A, Q74P, N88D 및 C125S 또는 C125A 및 L53I, L56I, L80I 및 L118I로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 돌연변이. 일부 구체예에서, IL-2 단백질은 L53I, L56I, L80I 및 L118I로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 단백질은 L53I, L56I, L80I 및 L118I로 이루어진 군으로부터 선택된 3개 또는 각각의 돌연변이를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 단백질은 L53I 및 L56I, L53I 및 L80I, L53I 및 L118I, L56I 및 L80I, L56I 및 L118I, L80I 및 L118I, L53I, L56I 및 L80I, L53I, L56I 및 L118I, L56I, L80I, 및 L118I 또는 L53I, L56I, L80I, 및 L118I를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 L53I, L56I, L80I 또는 L118I 돌연변이를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 T3A 돌연변이를 포함한다.
- [0047] 본 발명의 일부 구체예에서, 서열 번호 2의 IL-2 단백질은 다음의 돌연변이를 포함한다: V69A, Q74P, N88D 및 C125S 또는 C125A 및 서열 번호 2의 45-55, 50-60, 52-57, 75-85, 100-130, 115-125 영역 중 예컨대 보존적 치환에 제한되지 않는, 하나 이상의 돌연변이.
- [0048] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인 분자는 본 명세서에 기재된 바와 같이 Fc 영역 또는 다른 링커 영역(linker region)에 융합된다. 이러한 융합 단백질의 예는 US9580486, US7105653, US9616105, US 9428567, US2017/0051029, WO2016/164937, US2014/0286898A1, WO2014153111A2, WO2010/085495, WO2016014428A2, WO2016025385A1, US2017/0037102, 및 US2006/0269515에서 찾을 수 있고, 이를 각각은 전체가 참조로 포함된다.
- [0049] 본 발명의 일부 구체예에서, Fc 영역은 LALA 돌연변이에서 공지된 것을 포함한다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 L234A 및 L235A 돌연변이(EU 넘버링)를 포함한다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 G237A(EU 넘버링)를 포함한다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 위치 G237(EU 넘버링)에서 돌연변이를 포함하지 않는다. 카바트(Kabat) 넘버링을 사용하여 이는 L247A, L248A 및/또는 G250A에 상응할 것이다. 일부 구체예에서, EU 넘버링 시스템을 사용하여 Fc 영역은 L234A 돌연변이, L235A 돌연변이 및/또는 G237A 돌연변이를 포함한다. 사용된 넘버링 시스템에 상관없이, 일부 구체예에서, Fc 부분은 하나 이상의 이를 잔기에 상응하는 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, Fc 영역은 N297G 또는 N297A(카바트 넘버링) 돌연변이를 포함한다. 카바트 넘버링은 전장(full-length) 서열을 기초로 하지만, Fc 영역에 대해 당업자에 의해 사용된 종래의 정렬에 기초한 단편에서 사용될 것이다(예를 들어, Kabat et al. (“면역학적 목적의 단백질 서열”, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91, 이는 본 명세서에 참조로 포함됨), 이는 본 명세서에 참조로 포함됨). 일부 구체예에서, Fc 영역은 다음의 서열을 포함한다:
- [0050] DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPPKDKTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMEALHNHYTQKSLSLSPG(서열 번호 8)
- [0051] 본 발명의 일부 구체예에서, Fc 영역은 다음의 서열을 포함한다:
- [0052] DKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDKTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMEALHNHYTQKSLSLSPG(서열 번호 15)

[0053] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 Fc 영역에 연결된다. 링커의 비-제한적인 예는 글리신(glycine)/세린(serine) 링커이다. 예를 들어, 글리신/세린 링커는 GGGGSGGGSGGGSGGGGS(서열 번호 9)의 서열이거나 이를 포함할 수 있고, 또는 GGGGSGGGSGGGS(서열 번호 16)의 서열이거나 이를 포함할 수 있다. 이는 단지 비-제한적인 예이며 링커는 다양한 수의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 링커는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 포함한다.

[0054] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 가요성(flexible), 강성(rigid) 또는 절단성(cleavable) 링커를 사용하여 Fc 영역에 연결된다. 링커는 본 명세서에 기술된 바와 같거나 하기 표에 예시된 바와 같을 수 있다.

유형	서열
가요성(flexible)	GGGGS (서열 번호 10)
가요성	(GGGGS) _n (서열 번호 16)
가요성	(GGGGS) _n (n=1,2,3,4) (서열 번호 10)
가요성	(Gly) _n (서열 번호 44)
가요성	(Gly) _n (서열 번호 45)
강성(rigid)	(EAAAK) _n (서열 번호 46)
강성	(EAAK) _n (n=1-3) (서열 번호 47)
강성	A(EAAAK) _n A(EAAK) _n A (서열 번호 48)
강성	ABAAAKKEAAAAEA (서열 번호 49)
강성	PAPAP (서열 번호 50)
강성	(Ala-Pro) _n (10-34aa)
절단성(cleavable)	이중화(disulfide)
절단성	VSQTSILTRTAETVFPDV (서열 번호 51)
절단성	PLGLWA (서열 번호 52)
절단성	RVLAEA (서열 번호 53)
절단성	EIVWCCSMSY (서열 번호 54)
절단성	GGIEGRGS (서열 번호 55)
절단성	TRHRQPRGWE (서열 번호 56)
절단성	AGNRVRRSVG (서열 번호 57)
절단성	BBBBBBBBBB (서열 번호 58)
절단성	GFLG (서열 번호 59)
디펩티드(Dipeptide)	DE

[0055]

[0056] 따라서, IL-2/Fc 융합은 $Z_{IL-2M}-L_{gs}-Z_{Fc}$ 의 식으로 나타낼 수 있으며, 여기서 Z_{IL-2M} 은 본 명세서에 기재된 IL-2 뮤테인이고, L_{gs} 는 본 명세서에 기재된 링커 서열(예를 들어 글리신/세린 링커)이고 Z_{Fc} 는 본 명세서에 기술되거나 당업자에게 공지된 Fc 영역이다. 일부 구체예에서, 화학식은 역 배향 $Z_{Fc}-L_{gs}-Z_{IL-2M}$ 일 수 있다.

[0057] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2/Fc 융합은 다음의 서열을 포함한다:

[0058]

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATEIKHLQCLEELKPLEALRLAPSKNFHRLP
RDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATI¹VEFLNRWITFSQSII¹STLTGGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLEPPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI¹SKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI¹AVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호 11)

[0059] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2/Fc 융합은 다음의 서열을 포함한다:

[0060]

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATEKLHICLQCLEELKPLEALRLAPSKNFHRLP
RDLISDINVIVLELGSETTFMCEYADETATI¹VEFLNRWITFSQSII¹STLTGGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLEPPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI¹SKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI¹AVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호 12)

[0061] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2/Fc 융합은 다음의 서열을 포함한다:

[0062]

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATEKLHICLQCLEELKPLEALRLAPSKNFHIRP

RDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI^{VEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAGAPSFLFPPPKDKTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPG(서열 번호 13)}

[0063] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2/Fc 융합은 다음의 서열을 포함한다:

MYRMQLLSCIALSLALVTNSAPTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGISNHKNPRLARMLTFKFYMPEKATELKHLQCLEELKPLEEVNLNAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI^{VEFLNRWITFSQSIISTLTGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAGAPSFLFPPPKDKTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPG(서열 번호 14)}

[0065] 본 발명의 일부 구체예에서, 서열 번호 8의 Fc 영역은 서열 번호 15로 대체된다.

[0066] 본 명세서에 기재된 단백질은 또한 다른 단백질, 예컨대 항체 또는 다른 유형의 치료 분자에 융합될 수 있다.

[0067] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인의 서열 또는 IL-2/Fc 융합은 하기 표에 나타낸 바와 같다.

서열 번호	간단한 설명	아미노산 서열
17	C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLNAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
18	C125S 및 T3A 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLNAQS KNFHLRPRDLISNINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
19	N88R 및 C125S를 갖는 인간 IL-2	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLNAQS KNFHLRPRDLISRINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
20	V69A, Q74P 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHLRPRDLISNINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
21	V69A, Q74P, N88D 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHLRPRDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
22	V69A, Q74P, N88R 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHLRPRDLISRINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
23	N88D 및 C125S를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATELKHLQCLEEELKPLEEVNLNAQS KNFHLRPRDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
24	L53I, V69A, Q74P, N88D 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATEIKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHLRPRDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
25	L56I, V69A, Q74P, N88D 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATEKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHLRPRDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
26	V69A, Q74P, L80I, N88D 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATEKHLQCLEEELKPLEEVNLAPS KNFHIRPRDLISDINVIVLEKGSETTFMCEYADETATI ^{VEFLNRWITFSQSIISTLT}
27	V69A, Q74P, N88D	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPPKATEKHLQCLE

[0068]

	L118I 및 C125S 돌연변이를 갖는 인간 IL-2	EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFIR WITFSQSIIISTLT
28	L234A, L235A 및 G237A 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 Fc(N- 말단 융합)	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSFLFPFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVD GVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESENQQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	N297G 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 Fc(절단)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDEVKFNWYVD GVEVHNAAKTKPREEQYGSTYRVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESENQQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	IL-2 C125S-G4Sx3-Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISDNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFIR WITFSQSIIISTLGGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSFLFPFPKPKDTL ISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEVKFNWYDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQ WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESENQQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
31	IL-2 T3A, C125S- G4Sx3-Fc	APASSSTKKTQLQLEHLLLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISDNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFIR WITFSQSIIISTLGGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSFLFPFPKPKDTL ISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEVKFNWYDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQ WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESENQQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
32	IL-2 N88R, C125S- G4Sx3-Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVNLNAQSKNFHLRPRDLISDNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFIR WITFSQSIIISTLGGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSFLFPFPKPKDTL ISRTPEVTCVVVDVSHEDEPEVKFNWYDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQ WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESENQQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
33	IL-2 V69A, Q74P, C125S, -G4Sx3-	APTSSTKKTQLQLEHLLLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDNINVIVLELGSETTFMCEYADETATIVEFIR

[0069]

	Fc	WITFSQSII STL TGGGSGGGGGSDKHTCPCPAPEAAGAPSVLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
34	IL-2 N88D V69A, Q74P, C125S-G4Sx3- Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPS KNFHLRPRDL ISDINVIVLELGSETTFMCYEADETATI VEFLNR WITFSQSII STL TGGGSGGGGGSDKHTCPCPAPEAAGAPSVLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
35	IL-2 N88R V69A, Q74P, C125S-G4Sx3- Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPS KNFHLRPRDL ISRINVIVLELGSETTFMCYEADETATI VEFLNR WITFSQSII STL TGGGSGGGGGSDKHTCPCPAPEAAGAPSVLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
36	IL-2 N88D, C125S- G4Sx3-Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEVLNL AQS KNFHLRPRDL ISDINVIVLELGSETTFMCYEADETATI VEFLNR WITFSQSII STL TGGGSGGGGGSDKHTCPCPAPEAAGAPSVLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
37	IL-2 L53I, N88D, V69A, Q74P, C125S- G4Sx4-Fc	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPS KNFHLRPRDL ISDINVIVLELGSETTFMCYEADETATI VEFLNR WITFSQSII STL TGGGSGGGGGSDKHTCPCPAPEAAGAPSVLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQD WLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFLYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEAL HNHYTQKSLSLSPG
38	IL-2 L56I N88D,	APTSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE

[0070]

	V69A, Q74P, C125S-G4Sx4-Fc	EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATIYEFLNR WITFSQSIISTLTGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFPYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
39	IL-2 L80I N88D V69A, Q74P, C125S-G4Sx4-Fc	APTS SSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATIYEFLNR WITFSQSII STLTGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFPYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
40	IL-2 L118I N88D V69A, Q74P, C125S-G4Sx4-Fc	APTS SSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATIYEFLNR WITFSQSII STLTGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFPYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
41	IL-2 N88D V69A, Q74P, C125S-G4Sx4-Fc	APTS SSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLE EELKPLEEALNLAPSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATIYEFLNR WITFSQSII STLTGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFPYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
42	Fc-G4S-IL-2 N88D V69A, Q74P	DKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDV GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVSVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLD DSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSAPTSSSTKK TQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEA LNLA PSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATIYEFLNRWITFAQSII STLT

[0071]

43	IL-2 N88D V69A, Q74P, C125S-G4Sx4-Fc, 상기 X ₁ , X ₂ , X ₃ 및 X ₄ 중 하나 이상은 I이고 나머지는 L 또는 I임.	APTS SSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATEX ₁ KHX ₂ QC LEELKPLEEALNLAPS KNFH ₃ RPRDLISDINVIVLELKSETTFMCYEADETATI F ₄ X ₁ NRWITFSQSII STLTGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV SVLTCLVKGFYPSDI AVEWE NGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
----	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[0072]

[0073] 각각의 단백질은 또한 본 명세서에 제공된 바와 같이 C125S 및 LALA 및/또는 G237A 돌연변이를 갖는 것으로 간주될 수 있다. C125 치환은 또한 본 명세서 전체에 기술된 바와 같이 C125A일 수 있다.

[0074]

본 발명의 일부 구체예에서, 표 또는 본 명세서 전체에 걸쳐 나타난 서열은 위치 L53, L56, L80 및 L118에 상응하는 하나 이상의 돌연변이를 포함하거나 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 표 또는 본 명세서 전체에 걸쳐 나타난 서열은 위치 L59I, L63I, I24L, L94I, L96I 또는 L132I에 상응하는 하나 이상의 돌연변이 또는 동일한 위치에서 다른 치환을 포함하거나 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 돌연변이는 이소류신에 대한 류신이다. 일부 구체예에서, 류테인은 본 명세서에 도시되거나 기재된 것과 다른 또 다른 돌연변이를 포함하지 않는다. 일

부 구체예에서, 웨티드는 서열 번호 17, 서열 번호 18, 서열 번호 19, 서열 번호 20, 서열 번호 21, 서열 번호 22, 서열 번호 23, 서열 번호 24, 서열 번호 25, 서열 번호 26, 서열 번호 27, 서열 번호 28, 서열 번호 29, 서열 번호 30, 서열 번호 31, 서열 번호 32, 서열 번호 33, 서열 번호 34, 서열 번호 35, 서열 번호 36, 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40, 서열 번호 41, 서열 번호 42, 또는 서열 번호 43의 서열을 포함한다.

[0075] 본 발명의 일부 구체예에서, 융합의 Fc 부분은 포함되지 않는다. 일부 구체예에서, 웨티드는 본 명세서에 제공된 IL-2 뮤테인으로 필수적으로 구성된다. 일부 구체예에서, 단백질은 Fc 부분이 없다.

[0076] 본 발명의 일부 구체예에서, 서열 번호 43을 포함하는 폴리웨티드가 제공되고, 여기서 X₁, X₂, X₃ 및 X₄ 중 하나 이상이 I이고 나머지가 L 또는 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₂ 및 X₃은 L이고 X₄는 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₂ 및 X₄는 L이고 X₃는 I이다. 일부 구체예에서, X₂, X₃ 및 X₄는 L이고 X₁은 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₃ 및 X₄는 L이고 X₂는 I이다. 일부 구체예에서, X₁ 및 X₂는 L이고 X₃ 및 X₄는 I이다. 일부 구체예에서, X₁ 및 X₃은 L이고 X₂ 및 X₄는 I이다. 일부 구체예에서, X₁ 및 X₄는 L이고 X₂ 및 X₃은 I이다. 일부 구체예에서, X₂ 및 X₃은 L이고 X₁ 및 X₄는 I이다. 일부 구체예에서, X₂ 및 X₄는 L이고 X₁ 및 X₃은 I이다. 일부 구체예에서, X₃ 및 X₄는 L이고 X₁ 및 X₂는 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₂ 및 X₃은 L이고 X₄는 I이다. 일부 구체예에서, X₂, X₃ 및 X₄는 L이고 X₁은 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₃ 및 X₄는 L이고 X₂는 I이다. 일부 구체예에서, X₁, X₂ 및 X₄는 L이고 X₃은 I이다.

[0077] 본 발명의 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 도 1에 예시된 바와 같은 형식일 수 있다. 그러나, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 일부 구체예에서, IL-2 뮤테인은 Fc 도메인 없이 사용될 수 있거나 Fc-도메인은 IL-2 뮤테인의 C-말단에 연결된 Fc 도메인과는 대조적으로 IL-2 뮤테인의 N-말단에 연결된다. 본 명세서에 기재된 폴리웨티드는 또한 기재된 웨티드의 변이체를 포함한다. 일부 구체예에서, IL-2 변이체는 본 명세서에 제공된 서열과 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 70% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 포함한다. 변이체는 본 명세서 및 상기 기술된 다양한 치환과 함께 본 명세서에 기재된 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 변이체는 1, 2, 3, 4 또는 5개의 추가 치환을 갖는다. 일부 구체예에서, 치환은 G에서 A로, L에서 I로, G에서 S로 R로, 또는 다른 유형의 보존적 치환이다. 일부 구체예에서, 보존적 치환은 다음 표에 기초하여 선택된다.

염기성(양전하를 띤 R-기):	아르기닌(arginine) 라이신(lysine) 히스티딘(histidine)
산성(음전하를 띤 R-기):	글루탐산(glutamic acid) 아스파르트산(aspartic acid)
극성(비전하 R-기):	글루타민(glutamine) 아스파라긴(asparagine) 세린(serine) 트레오닌(threonine) 시스테인(cysteine) 프롤린(proline)
비극성(지방족 R-기):	글리신(glycine) 알라닌(alanine) 발린(valine) 메티오닌(methionine) 류신(leucine) 이소류신(isoleucine)
비극성(방향족 R-기):	페닐알라닌(phenylalanine) 트립토판(tryptophan) 티로신(tyrosine)

원래의 잔기	치환기
Ala	Gly; Ser; Thr
Arg	Lys; Gln
Asn	Gln; His; Ser
Asp	Glu; Asn
Cys	Ser, Sec
Gln	Asn; Ser; Asp; Glu
Glu	Asp; Gln; Lys
Gly	Ala; Pro; Asn
His	Asn; Gln; Tyr; Phe
Ile	Leu; Val; Met; Phe
Leu	Ile; Val; Met; Phe
Lys	Arg; Gln;
Met	Leu; Tyr; Ile; 노르루신(norleucine); Val; Phe
Pro	베타 호모 프롤린(Beta homo proline); Ser; Thr; Ala; Gly; 알파 호모프롤린(alpha homoproline)
Phe	Met; Leu; Tyr; Trp
Ser	Thr; Gly; Asn; Asp
Thr	Ser; Asn
Trp	Tyr; Phe;
Tyr	Trp; Phe;
Val	Ile; Leu; Met; Phe

[0079]

[0080] 2개의 아미노산 또는 2개의 핵산 서열의 동일성 백분율은 육안 검사(visual inspection) 및 수학적 계산에 의해 결정될 수 있거나, 예를 들어 비교는 컴퓨터 프로그램을 사용하여 서열 정보를 비교함으로써 수행된다. 예시적인 컴퓨터 프로그램은 Genetics Computer Group (GCG; Madison, Wis.) Wisconsin 패키지 버전 10.0 프로그램, GAP (Devereux et al. (1984), Nucleic Acids Res. 12: 387-95)이다. GAP 프로그램에 대한 선호되는 기본 매개 변수는 다음을 포함한다: (1) Atlas of Polypeptide Sequence and Structure, Schwartz and Dayhoff, eds., National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)에 설명된 뉴클레오티드에 대한 1진법 비교 매트릭스(unary comparison matrix)(동일성에 대해 1, 비-동일성에 대해 0 값 포함) 및 Gribskov 및 Burgess의 가중 아미노산 비교 매트릭스(weighted amino acid comparison matrix), ((1986) Nucleic Acids Res. 14: 6745)의 GCG 임플리멘테이션(GCG implementation) 또는 다른 유사한 비교 매트릭스; (2) 아미노산 서열에 대해 각 갭(gap)에 대한 8의 폐널티(penalty) 및 각각의 갭에서 각각의 심볼에 대한 2의 추가 폐널티, 또는 뉴클레오티드 서열에 대해 각각의 갭에 대한 50의 폐널티 및 각각의 갭에서 각각의 심볼에 대한 3의 추가 폐널티; (3) 엔드 갭(end gaps)에 대한 폐널티 없음; 및 (4) 긴(long) 갭에 대한 최대 폐널티 없음. 서열 비교 분야의 당업자에 의해 사용된 다른 프로그램 또한 사용될 수 있다.

[0081]

본 발명의 일부 구체예에서, 본 명세서에 제공된 IL-2 뮤테인은 IL-2R을 통해 야생형 IL-2에 의해 활성화된 특정 경로를 통해 신호전달을 변경하는 단백질을 포함하고 T-reg의 우선적 증식/생존/활성화를 야기한다.

[0082]

본 명세서에 제공되는 IL-2 뮤테인은 IL-2 변이체를 제조하기 위해 미국 특허 제6,955,807호(이는 본 명세서에 참조로 포함됨)에 기술된 것들을 포함하여 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 방법은 IL-2 변이체를 암호화하는 DNA 서열을 구축하고, 이를 서열을 숙주 세포와 같은 적절히 형질전환된 숙주에서 발현시키는 것을 포함한다. 이를 방법을 이용하면 본 명세서에 제공된 재조합 단백질이 생성될 것이다. 단백질은 또한 합성적으로 또는 세포에서 합성 및 재조합적으로 생성하는 단편의 조합으로 생성된 후 단편을 조합하여 목적하는 전체 단백질을 제조할 수 있다.

[0083]

본 발명의 일부 구체예에서, 핵산 분자(예를 들어, DNA 또는 RNA)는 목적하는 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 단리 또는 합성함으로써 제조된다. 대안적으로, IL-2의 야생형 서열은 부위-특이적 돌연변이 유발과 같은 일반적인 기술을 사용하여 단리되고 돌연변이로 될 수 있다.

[0084]

IL-2 변이체를 암호화하는 DNA 서열을 구성하는 다른 방법은 화학적 합성이다. 이것은 예를 들어 본 명세서에

기재된 특성을 나타내는 IL-2 변이체를 암호화하는 단백질 서열의 화학적 수단에 의한 펩티드의 직접 합성을 포함한다. 이 방법은 다양한 위치에서 친연 및 비친연 아미노산을 모두 포함할 수 있다. 대안적으로, 원하는 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 올리고뉴클레오티드 합성기를 사용하는 화학적 수단에 의해 합성될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 원하는 단백질의 아미노산 서열에 기초하여 설계되며, 이는 또한 재조합 변이체가 생성될 세포에서 선호되는 코돈을 사용하여 선택될 수 있다. 유전자 코드가 축중한다는(degenerate) 것, 즉 아미노산이 하나 이상의 코돈에 의해 코딩될 수 있다는 것이 잘 알려져 있다. 따라서, 특정 IL-2 단백질을 암호화하는 주어진 DNA 서열에 대해, 그 IL-2 변이체를 코딩할 많은 DNA 축중 서열이 있을 것이라는 것이 이해될 것이다. 따라서, 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 핵산 분자는 DNA 또는 RNA일 수 있다.

[0085] 본 발명의 일부 구체예에서, 핵산 분자는 신호 서열을 암호화할 것이다. 신호 서열은 발현될 세포에 기초하여 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 숙주 세포가 원핵생물인 경우, 핵산 분자는 신호 서열을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 숙주 세포가 진핵 세포인 경우, 신호 서열이 사용될 수 있다. 일부 구체예에서, 신호 서열은 IL-2 신호 서열이다.

[0086] 핵산 분자 또는 이의 보체가 단백질을 암호화하는 코돈을 포함하는 경우, 핵산 분자는 본 명세서에서 의미하는 바와 같이 단백질을 "암호화(encodes)" 한다.

[0087] 폴리펩티드 또는 단백질에 적용되는 "재조합"은, 단백질의 생성이 단백질을 암호화하거나 하지 않을 수 있는 핵산이 자연적으로 발견되지 않는 세포 내로 도입되는 적어도 하나의 단계에 의존한다는 것을 의미한다.

[0088] 다양한 숙주(동물계 또는 세포계)를 사용하여 본 명세서에 기재된 단백질을 생성할 수 있다. 적합한 숙주 세포의 예는 박테리아, 진균(효모 포함), 식물, 곤충, 포유동물 또는 다른 적절한 동물 세포 또는 세포주 뿐만 아니라 형질전환 동물 또는 식물을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 구체예에서, 이를 숙주는 잘 알려진 진핵생물 및 원핵생물 숙주, 예컨대 이.콜라이, 슈도모나스(Pseudomonas), 바실러스(Bacillus), 스트렙토마이세스(Streptomyces), 진균, 효모, 스포도프테라 프루기페르다(Spodoptera frugiperda)(Sf9)와 같은 곤충 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 및 NS/0와 같은 쥐 세포, COS 1, COS 7, BSC 1, BSC 40 및 BNT 10과 같은 그리벳 원숭이(African green monkey) 세포와 같은 동물 세포, 및 인간 세포, 및 조직 배양에서 식물 세포를 포함할 수 있다. 동물 세포 발현을 위해, 배양물 중 CHO 세포 및 COS 7 세포, 특히 CHO 세포주 CHO(DHFR-) 또는 HKB 주가 사용될 수 있다.

[0089] 물론, 모든 벡터 및 발현 조절 서열이 본 명세서에 기재된 DNA 서열을 발현시키는데 동일하게 기능하는 것은 아님을 이해해야 한다. 모든 숙주가 동일한 발현 시스템으로 동일하게 작동하지는 않는다. 그러나, 당업자는 과도한 실험 없이 이를 벡터, 발현 조절 서열 및 숙주 중에서 선택할 수 있다. 예를 들어 벡터를 선택할 때, 벡터가 복제되어야 하므로 숙주를 고려해야 한다. 벡터 복제 수, 그 복제 수를 조절하는 능력, 및 벡터에 의해 암호화된 다른 단백질, 예를 들어 항생제 마커의 발현도 고려해야 한다. 예를 들어, 본 발명에 사용하기에 바람직한 벡터는 IL-2 변이체를 암호화하는 DNA가 복제 수로 중식되도록 하는 벡터를 포함한다. 이러한 중식가능한 벡터는 당업계에 잘 알려져 있다.

[0090] 벡터 및 숙주 세포

[0091] 따라서, 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 벡터뿐만 아니라 이러한 벡터로 형질전환된 숙주 세포가 제공된다. 본 명세서에 기재된 단백질을 암호화하는 임의의 핵산은 벡터에 함유될 수 있으며, 예를 들어 숙주에서 중식을 위해 선택가능한 마커 및 복제 기점을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 벡터는 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 작동가능하게 연결된 포유동물, 미생물, 바이러스 또는 곤충 유전자로부터 유래된 것과 같은, 적합한 전사 또는 번역 조절 서열을 추가로 포함한다. 이러한 조절 서열의 예는 전사 프로모터, 작동자 또는 인핸서, mRNA 리보솜 결합 부위, 및 전사 및 번역을 조절하는 적절한 서열을 포함한다. 뉴클레오티드 서열은 조절 서열이 표적 단백질을 암호화하는 DNA와 기능적으로 연관될 때 작동가능하게 연결된다. 따라서, 프로모터 뉴클레오티드 서열이 핵산 분자의 전사를 지시하는 경우, 프로모터 뉴클레오티드 서열은 핵산 분자에 작동가능하게 연결된다.

[0092] 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 바와 같이 사용될 수 있다.

[0093] 약학 조성물

[0094] 본 발명의 또 다른 측면에서, 구체예는 약학적으로 허용가능한 담체와 함께 제형화된, 본 명세서에 기술된 치료화합물(IL-2 뮤테인)을 포함하는 조성물, 예를 들어 약학적으로 허용가능한 조성물을 제공한다. 본 명세서에 사

용된 "약학적으로 허용가능한 담체"는 생리학적으로 용화성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 등장성 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 직장, 국부, 국소, 척추 또는 표피 투여(예를 들어, 주사 또는 주입)에 적합할 수 있다.

[0095] 본 발명의 조성물은 다양한 형태일 수 있다. 이들은 예를 들어 액체 용액(예를 들어, 주사용 및 불용성 용액), 분산액 또는 혼탁액, 리포좀 및 좌제(suppositories)와 같은 액체, 반고체 및 고체 투여 형태를 포함한다. 바람직한 형태는 의도된 투여 방식 및 치료 용도에 의존한다. 일반적인 조성물은 주사용 또는 불용성 용액 형태이다. 한 구체예에서, 투여 방식은 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 근육내)이다. 한 구체예에서, 치료 분자는 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다. 또 다른 구체예에서, 치료 분자는 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여된다. 또 다른 구체예에서, 치료 분자는 국소적으로, 예를 들어 주사 또는 국소 적용에 의해 표적 부위에 투여된다.

[0096] 본 명세서에 사용된 어구 "비경구 투여(parenteral administration)" 및 "비경구로 투여되는(administered parenterally)"은 장(enteral) 이외의 투여 및 일반적으로 주사에 의한 국소 투여의 방식을 의미하며, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 관절낭내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척추내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0097] 치료용 조성물은 일반적으로 제조 및 저장 조건 하에서 멸균되고 안정되어야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에 멸균, 분산액, 리포좀 또는 높은 치료 분자 농도에 적합한 다른 배열 구조로서 제형화될 수 있다. 멸균 주사용 용액은 필요에 따라 활성 화합물(즉, 치료 분자)을 필요한 양으로 상기 열거된 성분 중 하나 또는 이들의 조합과 함께 적절한 용매에 혼입한 후 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 상기 열거된 것으로부터 염기성 분산 매질 및 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클에 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사용 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우, 바람직한 제조 방법은 활성 성분의 분말 및 이전의 멸균-여과된 용액으로부터 임의의 추가의 원하는 성분을 생성하는 진공 건조 및 동결 건조이다. 용액의 적절한 유동성은 예를 들어 레시틴(lecithin)과 같은 코팅(coating)의 사용, 분산시 필요한 입자 크기의 유지 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 주사 가능한 조성물의 장기간 흡수는 조성물에 흡수 지연제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0098] 당업자에 의해 이해될 바와 같이, 경로 및/또는 투여 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다. 특정 구체예에서, 활성 화합물은 임플란트, 경피 패치 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하는 방출 조절형 제제와 같이 속방성(rapid release)으로부터 화합물을 보호할 담체로 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르(polyorthoesters) 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조를 위한 많은 방법은 특허를 받았거나 당업자에게 일반적으로 알려져 있다. 예를 들어, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978 참조.

[0099] 본 발명의 특정 구체예에서, 치료 화합물은 예를 들어 불활성 희석제 또는 동화가능한 식용(assimilable edible) 담체와 함께 경구 투여될 수 있다. 상기 화합물(및 바람직한 경우, 다른 성분)은 또한 경질 또는 연질 웰 젤라틴 캡슐에 봉입되거나, 정제로 압축되거나, 또는 대상(subject)의 식이에 직접 포함될 수 있다. 경구 치료 투여를 위해, 화합물은 부형제와 혼입되어 섭취가능한 정제, 구강정(buccal tablets), 트로키체(troches), 캡슐제, 엘리셔제, 혼탁액제, 시럽제, 웨이퍼제(wafers) 등의 형태로 사용될 수 있다. 비경구 투여 이외의 방법으로 본 발명의 화합물을 투여하기 위해서는, 이의 불활성화를 방지하기 위한 물질로 화합물을 코팅하거나 화합물과 함께 공-투여(co-administer)할 필요가 있을 수 있다. 치료 조성물은 또한 당업계에 공지된 의료 제품과 함께 투여될 수 있다.

[0100] 투약 요법은 최적의 바람직한 반응(예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조절된다. 예를 들어, 단일 볼루스(bolus)가 투여될 수 있거나, 여러 분할 투여량이 시간에 따라 투여될 수 있거나, 투여량이 치료 상황의 긴급성에 의해 비례하여 감소되거나 증가될 수 있다. 투여 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에 사용된 투여 단위 형태는 치료될 대상을 위한 단일 투여량으로 적합한 물리적으로 별개의 단위를 의미하고; 각각의 단위는 바람직한 약학적 담체와 관련하여 바람직한 치료 효과를 내도록 계산된 미리결정된 양의 활성 화합물을 함유한다. 명세서는 본 발명의 투여 단위 형태에 대해 (a) 활성 화합물의 고유한 특성 및 달성을 특정 치료 효과, 및 (b) 개인의 감수성 치료를 위해 이러한 활성 화합물을 혼합하는 기술에 내재된 한계에 의해 영향을 받고 이에 의해 직접적으로 결정된다.

[0101] 치료적 또는 예방적 유효량의 치료 화합물에 대한 예시적인 비-제한적 범위는 0.1-30mg/kg, 보다 바람직하게는

1-25mg/kg이다. 치료 화합물의 투여량 및 치료 요법은 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 내지 40mg/kg, 예를 들어, 1 내지 30mg/kg, 예를 들어, 약 5 내지 25mg/kg, 약 10 내지 20mg/kg, 약 1 내지 5mg/kg, 1 내지 10mg/kg, 5 내지 15mg/kg, 10 내지 20mg/kg, 15 내지 25mg/kg, 또는 약 3mg/kg의 용량으로 주사(예를 들어, 피하 또는 정맥내)로 투여된다. 투여 스케줄은 예를 들어, 일주일에 한 번에서 2, 3 또는 4주마다 한 번으로 변할 수 있거나, 일부 구체예에서, 투여 스케줄은 매월, 2개월마다, 3개월마다 또는 6개월마다 한 번일 수 있다. 일 구체예에서, 치료 화합물은 격주로 약 10 내지 20mg/kg의 용량으로 투여된다. 치료 화합물은 약 35 내지 440mg/m², 일반적으로 약 70 내지 310mg/m², 및 보다 일반적으로, 약 110 내지 130 mg/m²의 용량에 도달하기 위해 20mg/분 초과, 예를 들어 20-40mg/분, 및 일반적으로 40mg/분 이상의 속도로 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 구체예에서, 약 110 내지 130mg/m²의 주입 속도는 약 3mg/kg의 수준을 달성한다. 다른 구체예에서, 치료 화합물은 약 1 내지 100mg/m², 예를 들어, 약 5 내지 50mg/m², 약 7 내지 25mg/m², 또는 약 10mg/m²의 용량에 도달하기 위해 10mg/분 미만, 예를 들어 5mg/분 이하의 속도로 정맥 내 주입에 의해 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 치료 화합물은 약 30분의 기간에 걸쳐 주입된다. 투여량 값은 완화될 상태의 유형 및 중증도에 따라 달라질 수 있음에 유의해야 한다. 임의의 특정 대상에 대해, 특정 투여량 요법은 조성물의 투여를 관리 또는 감독하는 사람의 개인적 필요 및 전문적 판단에 따라 시간이 지남에 따라 조정되어야 하고, 본 명세서에 제시된 투여량 범위는 단지 예시적인 것이며 본 발명의 조성물의 범위 또는 실시를 제한하려는 것이 아니라는 것이 추가로 이해되어야 한다.

[0102]

본 발명의 약학 조성물은 "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"의 본 발명의 치료 분자를 포함할 수 있다. "치료적 유효량"은 바람직한 치료 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 시간 동안 효과적인 양을 의미한다. 치료적 유효량의 치료 분자는 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 치료 화합물이 개체에서 바람직한 반응을 이끌어내는 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 치료적 유효량은 또한 치료 분자(t)의 임의의 독성 또는 유해 효과가 치료적으로 유익한 효과에 의해 보다 더 큰 양이다. "치료적 유효량"은 치료되지 않은 대상에 대해 바람직하게 측정가능한 파라미터, 예를 들어 약 20% 이상, 보다 바람직하게는 약 40% 이상, 더욱 더 바람직하게는 약 60% 이상, 더욱 더 바람직하게는 약 80% 이상에 의한 면역 공격을 억제한다. 측정가능한 파라미터, 예를 들어 면역 공격을 억제하는 화합물의 능력은 이식 거부 또는 자가면역 장애에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 당업자에게 공지된 분석법에 의해 시험관내에서의 억제와 같이, 억제하는 화합물의 능력을 시험함으로써 평가될 수 있다.

[0103]

"예방적 유효량"은 바람직한 예방 결과를 달성하기 위해 필요한 투여량 및 시간 동안 효과적인 양을 의미한다. 일반적으로, 예방적 용량은 질병의 시작 전 또는 초기 단계의 대상에서 사용되기 때문에, 예방적 유효량은 치료적 유효량보다 적을 것이다.

[0104]

또한 본 발명의 범위 내에는 본 명세서에 기재된 치료 화합물을 포함하는 키트가 있다. 키트는 다음을 포함하는 하나 이상의 다른 요소를 포함할 수 있다: 사용 설명서; 다른 시약, 예를 들어, 라벨, 치료제, 또는 치료 분자를 라벨 또는 다른 치료제에 퀄레이트화 또는 커플링하는데 유용한 제제, 또는 방사선보호 조성물; 투여용 치료 분자를 제조하기 위한 제품 또는 다른 물질; 약학적으로 허용가능한 담체; 및 대상에게 투여하기 위한 제품 또는 다른 물질.

[0105]

조합

[0106]

본 명세서에 기재된 단백질은 또한 환자가 앓고 있는 질환을 치료하는데 유용한 다른 제제와 함께 투여될 수 있다. 이러한 제제의 예에는 단백질성 및 비-단백질성 약물이 모두 포함된다. 다수의 치료제가 공-투여될 때, 관련 기술분야에서 인식되는 바와 같이 투여량은 그에 따라 조정될 수 있다. "공-투여" 및 병용 요법은 동시 투여로 제한되지 않고, 환자에게 적어도 하나의 다른 치료제를 투여하는 것을 포함하는 치료 과정 동안 T-reg-선택적 IL-2 단백질이 적어도 한 번 투여되는 치료 요법을 포함한다.

[0107]

본 발명의 일부 구체예에서, T-reg-선택적 IL-2 단백질은 PI3-K/AKT/mTOR 경로의 억제제, 예를 들어 라파마이신(rapamycin)(라파뮨(rapamune), 시롤리무스(sirolimus))과 조합하여 투여된다. IL-2와 조합한 이 경로의 억제제는 T-reg 강화를 선호한다. 일부 구체예에서, IL-2 단백질은 IL-2 단백질에 직접 융합되거나 부착되지 않은 또 다른 치료제 없이 투여된다.

[0108]

치료 방법

[0109]

본 명세서에 언급된 임의의 질환의 "치료"는 질병의 적어도 하나의 증상의 완화, 질병의 중증도 감소, 또는 일부 경우에 질병 또는 적어도 하나의 다른 질병에 동반될 수 있는 보다 심각한 증상 진행의 자연 또는 예방을 포

함한다. 치료가 질병이 완전히 치료되었음을 의미할 필요는 없다. 유용한 치료제는 치료된 상태에 따라 어떤 빈도로 발생할 수 있는 질병의 중증도를 감소시키거나, 질병 또는 이의 치료와 관련된 증상(들)의 중증도를 감소시키거나, 또는 보다 심각한 증상 또는 보다 심각한 질병의 발병을 지연시키기만 하면 된다. 예를 들어, 질환이 염증성 장 질환인 경우, 치료제는 장에서 염증의 별개의 부위 수, 영향을 받는 장의 총 규모 감소, 통증 및/또는 부기 감소, 설사, 변비 또는 구토와 같은 증상 감소, 및/또는 장의 천공을 방지한다. 환자의 상태는 바륨 관장(barium enema) 또는 고위관장법(enteroclysis) 후 수행되는 x-선, 내시경 검사, 대장내시경 검사 및/또는 생검과 같은 표준 기술로 평가할 수 있다. 적절한 절차는 환자의 상태와 증상에 따라 다르다.

[0110]

본 발명의 일부 구체예에서, 단백질은 염증성 장애를 치료하는데 사용된다. 일부 구체예에서, 염증성 장애는 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환(paraneoplastic autoimmune diseases), 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염(예를 들어, 활성), 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병증 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군(Reiter's Syndrome), SEA 증후군(혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 소아 피부근염, 소아 전선성 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반성 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병증 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 피부근염, 전선성 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성골수염, 피부염(dermatomyolitis), 다발성동맥염(polyarteritis nodosa), 베게너 육아 종증(Wegener's granulomatosis), 동맥염, 류마티스성 다발근통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙성 경화증, 경화성 담관염, 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 전선, 판상형 전선, 물방울 전선, 간찰부 전선, 농포성 전선, 홍피성 전선, 피부염, 아토피성 피부염, 포진성 피부염, 피부에 미치는 영향을 포함하지만 이에 제한되지 않는 베체트 병(Behcet's disease), 탈모증, 원형 탈모증, 전두 탈모증, 동맥경화증, 루푸스, 스틸 병(Still's disease), 전신 홍반성 루푸스(SLE: Systemic Lupus Erythematosus)(예를 들어 활성), 중증 근무력증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 크론 병(Crohn's disease), 궤양성 대장염, 셀리악 병(celiac disease), 다발성 경화증(MS: multiple sclerosis), 천식, COPD, 부비동염, 폴립(polyps)이 있는 부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레 병(Guillain-Barre disease), I형 진성 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스 병(Graves' disease)), 애디슨 병(Addison's disease), 레이노 현상(Raynaud's phenomenon), 자가면역 간염, 이식편 대 속주 질환, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 속주 질환, 이식 거부(예를 들어, 신장, 폐, 심장, 피부 등), 신장 손상, C-형 간염 혈관염, 자발적 유산, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체경화증(FSGS: focal segmental glomerulosclerosis), 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 관련 사구체신병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 루푸스 신염 등이다. 일부 구체예에서, 단백질은 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 속주 질환을 치료하는데 사용된다. 일부 구체예에서, 단백질은 활성 전신성 홍반 루푸스를 치료하는데 사용된다. 일부 구체예에서, 단백질은 활성 류마티스 관절염을 치료하는데 사용된다.

[0111]

본 발명의 일부 구체예에서, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 단백질을 포함하는 약학 조성물을 대상에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, 대상은 이를 필요로 하는 대상이다. 임의의 상기-기술된 치료학적 단백질은 본 명세서에 기술된 조성물(예를 들어, 약학 조성물)의 형태로 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 본 명세서에 기재된 IL-2 단백질 및 완충제, 산화방지제, 예컨대 아스코르브산, 저 분자량 폴리펩티드(예를 들어 10개 미만의 아미노산을 갖는 것들), 단백질, 아미노산, 탄수화물 예컨대 글루코스, 수크로스 또는 텍스트린, 킬레이트제, 예컨대 EDTA, 글루타티온 및/또는 다른 안정화제, 부형제 및/또는 보존제를 포함할 수 있다. 조성물은 액체 또는 동결건조물로 제형화될 수 있다. 약학 제제에 사용될 수 있는 성분의 추가의 예는 Remington's Pharmaceutical Sciences, 16.sup.th Ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1980) 및 본 명세서에 기술된 다른 것들에 제시되어 있다.

[0112]

목적 질환을 치료하기 위해, 본 명세서에 기술된 치료 분자를 포함하는 조성물은 비경구, 국소, 경구, 코, 질, 직장 또는 폐(흡입에 의한) 투여를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 적절한 방법에 의해 투여될 수 있다. 주사의 경우, 조성물(들)은 볼루스(bolus) 주사 또는 연속 주입에 의해 관절내, 정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내 또는 폐 투여될 수 있다. 임플란트, 피부 폐치 또는 좌제로부터의 경피 전달 및 지속 방출과 같이 질병 부위에서의 국부 투여가 고려된다. 흡입에 의한 전달은 예를 들어 코 또는 구강 흡입, 분무기의 사용, 에어로졸 형태의 흡입 등을 포함한다. 체강 내로 삽입되는 좌제를 통한 투여는 예를 들어, 선택된 체강 내에 고체 형태의 조성물을 삽입하고 용해시킴으로써 달성될 수 있다. 다른 대안으로는 점안제, 알약, 로젠지(lozenges), 시럽 및 츄잉 껌과 같은 경구 제제, 로션, 젤, 스프레이 및 연고와 같은 국소 제제가 있다. 대부분의 경우, 폴리펩티드

인 치료 분자는 국소적으로 또는 주사 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다.

[0113] 치료 방법의 수행에서, 상기 기재된 치료 분자는 본 명세서 및 상기 기재된 바와 같이 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 치료되는 질환을 치료하는데 효과적인 임의의 투여량, 빈도 및 지속기간으로 투여될 수 있다. 투여량은 치료 분자의 분자 성질 및 치료되는 장애의 성질에 의존한다. 바람직한 결과를 달성하기 위해 필요한 한 치료를 계속할 수 있다. 본 발명의 치료 분자는 다른 가능한 투여 요법 중에서 하루에 여러 번, 매일, 격일로, 일주일에 두 번, 일주일에 세 번, 매주, 격주로, 매월 투여를 포함하여 주기적으로 주어진 단일 투여량 또는 일련의 투여량으로 투여될 수 있다. 치료 주기는 치료 기간 동안 일정하거나 일정하지 않을 수 있다. 예를 들어, 치료는 처음에 매주 간격으로 일어나고 나중에 격주로 일어날 수 있다. 일, 주, 월 또는 년의 지속기간을 갖는 치료가 본 발명에 포함된다. 치료가 중단된 다음 다시 시작될 수 있다. 유지량(Maintenance doses)은 초기 치료 후 투여되거나 투여되지 않을 수 있다.

[0114] 투여량은 체중 킬로그램 당 밀리그램(mg/kg) 또는 피부 표면의 제곱 미터 당 밀리그램(mg/m²) 또는 키 또는 체 중에 관계없이 고정 용량으로 측정될 수 있다. 이들 모두는 당업계의 표준 투여량 단위이다. 사람의 피부 표면 적은 표준 공식을 사용하여 키와 몸무게로부터 계산된다.

[0115] T 조절 세포에서 STAT5 인산화 자극을 촉진시키는 방법이 또한 본 명세서에 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 펩티드 또는 이를 포함하는 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함한다.

[0116] 본 명세서에 사용된 어구 "필요로 하는(in need thereof)"은 대상(동물 또는 포유동물)이 특정 방법 또는 치료를 필요로 하는 것으로 확인되었음을 의미한다. 일부 구체예에서, 확인은 임의의 진단 수단에 의한 것일 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법 및 치료에서, 동물 또는 포유동물이 이를 필요로 할 수 있다. 일부 구체예에서, 동물 또는 포유동물은 특정 질병, 장애 또는 질환이 유행하는 환경에 있거나 그러한 환경으로 이동할 것이다.

[0117] 달리 정의되지 않는 한, 모든 기술적 및 과학적 용어는 개시된 구체예가 속하는 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0118] 본 명세서에서 사용된 용어 "하나의(a)" 또는 "하나의(an)"는 문맥상 명백하게 달리 나타내지 않는 한 "적어도 하나" 또는 "하나 이상"을 의미한다.

[0119] 본 명세서에서 사용된 용어 "약(about)"은 수치가 근사치이며 작은 변화가 기술된 구체예들의 실시에 크게 영향을 미치지 않을 것이라는 것을 의미한다. 문맥상 달리 지시되지 않는 한, 수치 제한이 사용되는 경우, "약"은 수치가 ±10%만큼 변할 수 있고 개시된 구체예의 범위 내에 있는 것을 의미한다.

[0120] 본 명세서에서 사용된 용어 "개체(individual)" 또는 "대상(subject)" 또는 "환자(patient)"는 상호교환적으로 사용되며, 포유동물, 예컨대 쥐, 생쥐, 다른 설치류, 토끼, 개, 고양이, 돼지, 소, 양, 말 또는 인간과 같은 영장류를 포함하는 임의의 동물을 의미한다.

[0121] 본 명세서에서 사용된 용어 "포함하는(comprising)"(및 comprising의 임의의 형태의 "comprise", "comprises", 및 "comprised"), "갖는(having)"(및 having의 임의의 형태의 "have" 및 "has"), "포함하는(including)"(및 including의 임의의 형태의 "includes" 및 "include") 또는 "함유하는(containing)"(및 containing의 임의의 형태의 "contains" 및 "contain")은 포괄적이거나 개방형이며, 언급되지 않은 추가 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. "포함하다(comprise)" 또는 "포함하는(comprising)"의 구를 사용하는 임의의 단계 또는 구성은 또한 "구성되는(consisting of)" 또는 "구성된다(consists)"의 구와 동일하게 설명한다고 말할 수 있다.

[0122] 본 명세서에 사용된 용어 "접촉(contacting)"은 시험관내 시스템 또는 체내 시스템에서 2개의 요소를 함께 제공하는 것을 의미한다. 예를 들어, 본 명세서에 기술된 펩티드 또는 조성물을 T-reg 세포 또는 개인 또는 환자 또는 세포와 "접촉시키는 것"은 화합물을 개인 또는 환자, 예컨대 인간에게 투여하는 것, 및 예를 들어, T-reg 세포를 함유하는 세포 또는 정제된 제제를 함유하는 샘플 내에 화합물을 도입하는 것을 포함한다.

[0123] 본 명세서에 사용된 용어 "융합된(fused)" 또는 "연결된(linked)"은 상이한 도메인 또는 이종성 서열을 갖는 단백질과 관련하여 사용될 때 단백질 도메인이 펩티드 결합 또는 다른 공유 결합과 서로 연결된 동일한 펩티드 사슬의 일부임을 의미한다. 도메인 또는 부분(section)은 서로 직접 연결되거나 융합될 수 있거나 또 다른 도메인 또는 펩티드 서열은 두 도메인 또는 서열 사이에 있을 수 있으며, 이러한 서열은 여전히 서로 융합 또는 연결되

는 것으로 간주될 것이다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 제공된 다양한 도메인 또는 단백질은 서로에 직접적으로 연결되거나 융합되거나, 또는 본 명세서에 기재된 글리신/세린 서열과 같은 링커 서열이 2개의 도메인을 함께 연결시킨다.

- [0124] 본 발명의 일부 구체예에서, 본 명세서에 제공된 구체예는 또한 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다:
- [0125] 1. 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 웨티드로서, 상기 웨티드는 위치 73, 76, 100 또는 138에서 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0126] 2. 구체예 1에 있어서, 상기 돌연변이가 위치 73, 76, 100 또는 138에서 L 대 I 돌연변이인 웨티드.
- [0127] 3. 구체예 1에 있어서, 상기 웨티드는 위치 49, 51, 55, 57, 68, 89, 91, 94, 108 및 145 중 하나 이상에서 돌연변이를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0128] 4. 구체예 1에 있어서, 하나 이상의 위치 E35, H36, Q42, D104, E115 또는 Q146에서의 돌연변이를 추가로 포함하거나 1, 2, 3, 4, 5 또는 각각의 E35, H36, Q42, D104, E115 또는 Q146은 야생형인 웨티드.
- [0129] 5. 구체예 4에 있어서, 상기 돌연변이가 E35Q, H36N, Q42E, D104N, E115Q 또는 Q146E 중 하나 이상인 웨티드.
- [0130] 6. 구체예 1-5 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N49S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0131] 7. 구체예 1-6 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Y51S 또는 Y51H 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0132] 8. 구체예 1-7 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 K55R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0133] 9. 구체예 1-8 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 T57A 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0134] 10. 구체예 1-9 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 K68E 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0135] 11. 구체예 1-10 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 V89A 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0136] 12. 구체예 1-11 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N91R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0137] 13. 구체예 1-12 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Q94P 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0138] 14. 구체예 1-13 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N108D 또는 N108R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0139] 15. 구체예 1-14 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 C145A 또는 C145S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0140] 15.1. 구체예 1-15 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 V89A, Q94P, N108R 또는 N108D, 및 하나 이상의 L73I, L76I, L100I, L118I 돌연변이, 및 선택적으로 C145A 또는 C145S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0141] 16. 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 웨티드로서. 상기 웨티드는 위치 53, 56, 80 또는 118에서의 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0142] 17. 구체예 16에 있어서, 상기 돌연변이가 위치 53, 56, 80 또는 118에서 L 대 I 돌연변이인 웨티드.
- [0143] 18. 구체예 16 또는 17에 있어서, 상기 웨티드는 위치 29, 31, 35, 37, 48, 69, 71, 74, 88 및 125 중 하나 이상에서 돌연변이를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0144] 19. 구체예 16에 있어서, 하나 이상의 위치 E15, H16, Q22, D84, E95 또는 Q126에서의 돌연변이를 포함하거나 1, 2, 3, 4, 5 또는 각각의 위치 E15, H16, Q22, D84, E95 또는 Q126은 야생형인 웨티드.
- [0145] 20. 구체예 19에 있어서, 상기 돌연변이가 E15Q, H16N, Q22E, D84N, E95Q 또는 Q126E 중 하나 이상인 웨티드.
- [0146] 21. 구체예 16-20 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N29S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0147] 22. 구체예 16-21 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Y31S 또는 Y51H 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0148] 23. 구체예 16-22 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 K35R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0149] 24. 구체예 16-23 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 T37A 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0150] 25. 구체예 16-24 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 K48E 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0151] 26. 구체예 16-25 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 V69A 돌연변이를 포함하는 웨티드.

- [0152] 27. 구체예 16-26 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N71R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0153] 28. 구체예 16-27 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Q74P 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0154] 29. 구체예 16-28 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 N88D 또는 N88R 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0155] 30. 구체예 16-29 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 C125A 또는 C125S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0156] 31. 구체예 16-30 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 V69A, Q74P, N88R 또는 N88D, 및 하나 이상의 L53I, L56I, L80I, L118I 돌연변이, 및 선택적으로 C125A 또는 C125S 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0157] 32. 전술한 구체예들 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 위치 30, 31 및/또는 35에 상응하는 돌연변이를 포함하지 않는 웨티드.
- [0158] 33. 전술한 구체예들 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Fc 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0159] 33A. 구체예 33에 있어서, 상기 Fc 웨티드가 카바트(Kabat) 넘버링 L247, L248 및 G250을 사용하거나 위치 L234, L235 및 G237에서 EU 넘버링을 사용하는 위치에서 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0160] 33B. 구체예 33에 있어서, 상기 Fc 웨티드가 L247A, L248A 및 G250A(카바트 넘버링) 또는 L234A L235A 및 G237A(EU 넘버링)와 같은 돌연변이를 포함하는 웨티드.
- [0161] 34. 구체예 33에 있어서, 상기 Fc 웨티드가 서열 번호 8 또는 서열 번호 15의 서열을 포함하는 웨티드.
- [0162] 35. 전술한 구체예 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 서열 번호 1 또는 서열 번호 2의 웨티드 및 Fc 웨티드를 연결하는 링커 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0163] 36. 구체예 35에 있어서, 상기 링커가 GGGGSGGGSGGGGSGGGS(서열 번호 9) 또는 GGGGSGGGSGGGGS(서열 번호 16)의 서열을 포함하는 웨티드.
- [0164] 37. 전술한 구체예 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 서열 번호 17-43의 서열을 포함하는 웨티드.
- [0165] 38. 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하는 웨티드.
- [0166] 39. 구체예 38에 있어서, 상기 웨티드는 서열 번호 7의 서열을 갖는 N-말단 선도 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0167] 40. 구체예 1에 있어서, 상기 웨티드는 C-말단에서 링커 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0168] 41. 구체예 40에 있어서, 상기 링커 웨티드가 (GGGGS)_n(서열 번호 10)의 서열을 포함하고, 상기 n은 1, 2, 3 또는 4인 웨티드.
- [0169] 42. 구체예 41에 있어서, 상기 n이 1인 웨티드.
- [0170] 43. 구체예 41에 있어서, 상기 n이 2인 웨티드.
- [0171] 44. 구체예 41에 있어서, 상기 n이 3인 웨티드.
- [0172] 45. 구체예 41에 있어서, 상기 n이 4인 웨티드.
- [0173] 46. 구체예 48-45 중 어느 하나에 있어서, 상기 웨티드는 Fc 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0174] 47. 구체예 46에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 8 또는 서열 번호 15의 서열을 포함하는 웨티드.
- [0175] 48. 구체예 47에 있어서, 상기 웨티드는 N-말단에서 서열 번호 7의 서열을 갖는 선도 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0176] 49. 구체예 46에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 27을 포함하는 웨티드의 C-말단에 있는 웨티드.
- [0177] 50. 구체예 46에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 27을 포함하는 웨티드의 N- 말단에 있는 웨티드.
- [0178] 51. 구체예 1에 있어서, 상기 웨티드는 서열 번호 27의 웨티드와 Fc 웨티드를 연결하는 링커 웨티드를 추가로 포함하는 웨티드.
- [0179] 52. 구체예 51에 있어서, 상기 링커 웨티드는 (GGGGS)_n(서열 번호 10)이고, 상기 n은 1, 2, 3 또는 4인 웨티드.

- [0180] 53. 구체예 52에 있어서, 상기 n은 4인 웨티드.
- [0181] 54. 구체예 51-53에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 8 또는 서열 번호 15의 서열을 포함하는 웨티드.
- [0182] 55. 구체예 51-54에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 27을 포함하는 웨티드의 C-말단에 있는 웨티드.
- [0183] 56. 구체예 51-54에 있어서, 상기 Fc 웨티드는 서열 번호 27을 포함하는 웨티드의 N-말단에 있는 웨티드.
- [0184] 57. 구체예 14에 있어서, 상기 웨티드는 서열 번호 37, 38, 39 또는 40의 서열을 포함하는 웨티드를 포함하는 웨티드.
- [0185] 58. 전술한 구체예 중 어느 하나의 웨티드를 포함하는 약학 조성물.
- [0186] 59. T 조절 세포를 활성화시키는 방법으로서, 상기 방법은 T 조절 세포를 구체예 1-57 중 어느 하나의 웨티드 또는 구체예 58의 약학 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는 방법.
- [0187] 60. 대상에서 염증성 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 치료적 유효량의 구체예 1-57 중 어느 하나의 웨티드 또는 구체예 58의 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [0188] 61. 구체예 60에 있어서, 상기 염증성 장애가 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환 (paraneoplastic autoimmune diseases), 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병증 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군(Reiter's Syndrome), SEA 증후군 (혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선성 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반성 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병증 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 피부근염, 건선성 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성골수염, 피부염(dermatomyolitis), 다발성동맥염(polyarteritis nodosa), 베게너 육아종증(Wegener's granulomatosis), 동맥염, 류마티스성 다발근통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙성 경화증, 경화성 담관염, 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 건선, 판상형 건선, 물방울 건선, 간찰부 건선, 농포성 건선, 홍파성 건선, 피부염, 아토피성 피부염, 동맥경화증, 루푸스, 스틸 병(Still's disease), 전신 홍반성 루푸스(SLE: Systemic Lupus Erythematosus), 중증 근무력증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 크론 병(Crohn's disease), 궤양성 대장염, 셀리악 병(celiac disease), 다발성 경화증(MS: multiple sclerosis), 천식, COPD, 부비동염, 폴립(polyps)이 있는 부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레 병(Guillain-Barre disease), 1형 진성 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스 병(Graves' disease)), 애디슨 병(Addison's disease), 레이노 현상(Raynaud's phenomenon), 자가면역 간염, 이식편 대 숙주 질환, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부(예를 들어, 신장, 폐, 심장, 피부 등), 신장 손상, C-형 간염 혈관염, 자발적 유산, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체경화증(FSGS: focal segmental glomerulosclerosis), 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 관련 사구체신병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 루푸스 신염 등인 방법.
- [0189] 62. T 조절 세포에서 STAT5 인산화를 촉진 또는 자극하는 방법으로서, 상기 방법은 치료적 유효량의 구체예 1-57 중 어느 하나의 웨티드 또는 구체예 58의 약학 조성물을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 방법.
- [0190] 63. 염증성 장애의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 구체예 1-57 중 어느 하나의 웨티드 또는 구체예 58의 약학 조성물의 용도.
- [0191] 64. 구체예 63에 있어서, 상기 염증성 장애는 염증, 자가면역 질환, 아토피 질환, 부신생물 자가면역 질환 (paraneoplastic autoimmune diseases), 연골 염증, 관절염, 류마티스 관절염, 소아 관절염, 소아 류마티스 관절염, 소수관절 소아 류마티스 관절염, 다관절 소아 류마티스 관절염, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 강직성 척추염, 소아 장병증 관절염, 소아 반응성 관절염, 소아 라이터 증후군(Reiter's Syndrome), SEA 증후군 (혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 소아 피부근염, 소아 건선성 관절염, 소아 경피증, 소아 전신 홍반성 루푸스, 소아 혈관염, 소수관절 류마티스 관절염, 다관절 류마티스 관절염, 전신 발병 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 장병증 관절염, 반응성 관절염, 라이터 증후군, SEA 증후군(혈청반응음성(Seronegativity), 부착부병(Enthesopathy), 관절증(Arthropathy) 증후군), 피부근염, 건선성 관절염, 경피증, 혈관염, 골수염, 다발성골수염, 피부염(dermatomyolitis), 다발성동맥염(polyarteritis nodosa), 베게너 육아종증(Wegener's granulomatosis), 동맥염, 류마티스성 다발근통, 유육종증, 경화증, 원발 담즙성 경화증, 경화성 담관염, 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 건선, 판상형 건선, 물방울 건선, 간찰부 건선, 농포성 건선, 홍파성 건선, 피부염, 아토피성 피부염, 동맥경화증, 루푸스, 스틸 병(Still's disease), 전신 홍반성 루푸스(SLE: Systemic Lupus Erythematosus), 중증 근무력증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 크론 병(Crohn's disease), 궤양성 대장염, 셀리악 병(celiac disease), 다발성 경화증(MS: multiple sclerosis), 천식, COPD, 부비동염, 폴립(polyps)이 있는 부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레 병(Guillain-Barre disease), 1형 진성 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스 병(Graves' disease)), 애디슨 병(Addison's disease), 레이노 현상(Raynaud's phenomenon), 자가면역 간염, 이식편 대 숙주 질환, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부(예를 들어, 신장, 폐, 심장, 피부 등), 신장 손상, C-형 간염 혈관염, 자발적 유산, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체경화증(FSGS: focal segmental glomerulosclerosis), 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 관련 사구체신병증, 막증식 사구체신염, IgA 신장병증, 루푸스 신염 등인 방법.

발 담즙성 경화증, 경화성 담관염, 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 건선, 판상형 건선, 물방울 건선, 간찰부 건선, 농포성 건선, 홍피성 건선, 피부염, 아토피성 피부염, 동맥경화증, 루푸스, 스틸 병(Still's disease), 전신 홍반성 루푸스(SLE: Systemic Lupus Erythematosus), 중증 근무력증, 염증성 장 질환(IBD: inflammatory bowel disease), 크론 병(Crohn's disease), 궤양성 대장염, 셀리악 병(celiac disease), 다발성 경화증(MS: multiple sclerosis), 천식, COPD, 부비동염, 폴립(polyps)이 있는 부비동염, 호산구 식도염, 호산구 기관지염, 길랭-바레 병(Guillain-Barre disease), 1형 진성 당뇨병, 갑상선염(예를 들어, 그레이브스 병(Graves' disease)), 애디슨 병(Addison's disease), 레이노 현상(Raynaud's phenomenon), 자가면역 간염, 이식편 대 숙주 질환, 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환, 이식 거부(예를 들어, 신장, 폐, 심장, 피부 등), 신장 손상, C-형 간염 혈관염, 자발적 유산, 탈모증, 백반증, 국소 분절 사구체경화증(FSGS: focal segmental glomerulosclerosis), 미세 변화 질환, 막성 신장병증, ANCA 관련 사구체신병증, 막중식 사구체신염, IgA 신장병증, 루푸스 신염 등인 용도.

[0192] 65. 구체예 1-57 중 어느 하나의 웹티드를 암호화하는 핵산 분자.

[0193] 66. 구체예 65의 핵산 분자를 포함하는 벡터.

[0194] 67. 구체예 65의 핵산 분자를 포함하는 플라스미드.

[0195] 68. 구체예 65의 핵산 분자를 포함하는 세포.

[0196] 69. 구체예 67의 플라스미드를 포함하는 세포.

[0197] 70. 구체예 66의 벡터를 포함하는 세포.

[0198] 71. 구체예 1-57 중 어느 하나의 웹티드 또는 본 명세서에 기술된 웹티드를 포함하거나 발현하는 세포.

[0199] 하기 실시예는 본 명세서에 기술된 화합물, 조성물 및 방법의 예시적인 것이지만 제한적인 것은 아니다. 당업자에게 공지된 다른 적절한 수정 및 변형은 다음의 구체예의 범위 내에 있다.

[0200] 실시예

[0201] 실시예 1:

[0202] 서열 번호 11, 12, 13 또는 14의 단백질을 포함하는 치료학적 조성물이 IBD를 앓고 있는 대상에게 투여된다. 대상의 면역계가 하향-조절되고 IBD의 증상이 완화된다.

[0203] 실시예 2:

[0204] 선도 서열과 함께 또는 선도 서열 없이 서열 번호 3, 4, 5 또는 6의 단백질을 포함하는 치료학적 조성물이 IBD를 앓고 있는 대상에게 투여된다. 대상의 면역계가 하향-조절되고 IBD의 증상이 완화된다.

[0205] 실시예 3: IL-2M의 생성

[0206] 인간 IgG1 Fc 도메인에 대해 N-말단(서열 번호 40) 또는 C-말단(서열 번호 41)에 융합된 인간 IL-2M 폴리웹티드를 암호화하는 단일 유전자를 함유하는 pTT5 벡터를 HEK293 Expi 세포에 형질감염시켰다. 5-7일 후, IL-2M을 발현하는 세포 배양 상청액을 획득하고, 원심분리로 정화하고 0.22um 여과 장치를 통해 여과하였다. IL-2M을 proA 수지상에 담아내었다. 수지를 PBS pH 7.4로 세척하고 담아낸 단백질을 10% 부피의 1M Tris pH 8.0을 사용하여 중화시키면서, 0.25% 아세트산 pH 3.5를 사용하여 용리시켰다. 단백질을 30mM HEPES 150mM NaCl pH 7 내로 완충제 교환하고, Superdex 200 3.2/300 컬럼에서 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. Bis-Tris 4-12% 젤에서 SDS-PAGE를 환원 및 비-환원시켜 5ug의 정제된 물질을 분석하였다. IL-2M은 10mg/L 초과에서 발현되었고, 크기 배제 크로마토그래피 및 환원/비-환원 SDS-PAGE에 의해 나타난 바와 같이 정제 후 95% 초과 단분산되었다.

[0207] 실시예 4: IL-2M 분자는 CD25에 결합할 수 있다

[0208] 면역흡착 플레이트를 PBS pH 7.4, 75uL/웰에서 0.5 μ g/mL의 농도로 CD25로 코팅하고, 4°C에서 밤새 배양하였다. 웰을 0.05% 트윈-20(세척 완충제(wash buffer))을 함유하는 PBS pH 7.4로 3회 세척한 다음, 실온에서 2시간 동안 PBS pH 7.4 중 200uL/웰 1% BSA(블록 완충제(block buffer))로 블록하였다(blocked). 세척 완충제로 3회 세척한 후, IL-2M 분자를 가장 높은 농도인 2nM로 1% BSA 및 0.05% 트윈-20(검정 완충제)을 함유하는 PBS에서 11내지 2배 연속 희석으로 희석하였다. 희석된 물질을 실온에서 1시간 동안 75uL/웰에서 CD25 코팅된 플레이트에 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척한 후, 분석 완충제 중 0.05 μ g/mL로 희석된 염소 비오티닐화된 항-IL-2 다클론 항체를 플레이트에 75uL/웰에서 1시간 동안 실온에서 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척한 후, 1:5000의

분석 완충제에서 희석된 스트렙타비딘 HRP를 15분 동안 실온에서 75uL/웰로 플레이트에 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척하고 세척 완충제로 1회 세척(트윈-20 없음)한 후, TMB로 분석을 진행하고, 1N HCL로 중지시켰다. OD 450nm가 측정되었다. 실험은 CD25의 부재하에서 플레이트/블록에 IL-2M 분자의 비-특이적 결합에 대한 적절한 대조군 및 CD25에 결합할 수 없는 음성 대조군 분자를 포함하였다.

[0209] 결과는 2nM-1.9pM의 농도에서, IL-2M 분자가 나노몰 이하의 EC50으로 CD25에 결합할 수 있음을 나타낸다. 또한, CD25가 플레이트 표면상에 존재하지 않을 때, 테스트된 임의의 농도에서 어떤 화합물의 검출이 없었으며, 이는 테스트 화합물 중 어느 것도 플레이트 표면과 비-특이적으로 상호작용하지 않았음을 나타낸다(데이터는 나타내지 않음).

[0210] 실시예 5: IL-2M 분자의 효능 및 선택성을 측정하기 위한 시험관내 P-STAT5 분석. 말초 혈액 단핵 세포(PBMC: Peripheral blood mononuclear cells)는 새롭게 분리된 혜파린첨가 인간 전혈로부터 FICOLL-PAQUE Premium 및 Sepmate 퓨브를 사용하여 제조되었다. PBMC를 야생형 IL-2 또는 실시예 12의 IL-2M의 존재 하에 10% 소 태아 혈청 RPMI 배지에서 20분 동안 배양한 후 BD Cytofix로 10분 동안 고정시켰다.

[0211] 고정 세포를 BD Perm III 및 이어서 BioLegend FOXP3 투과 완충제로 순차적으로 투과화시켰다. 인간 혈청으로 10분 동안 블로킹(blocking)한 후, 세포를 포스포-STAT5 FITC, CD25 PE, FOXP3 AF647 및 CD4 PerCP Cy5.5에 대한 항체로 30분 동안 염색한 후, 플레이트 판독기를 사용하여 Attune NXT에서 얻었다. 서열 번호 23의 IL-2M은 Treg에서 STAT5 인산화를 강력하게 그리고 선택적으로 유도하지만 Teff에서는 그렇지 않다.

[0212] 실시예 6: IL-2 뮤테인의 면역원성

[0213] IL-2 뮤테인 돌연변이체 서열은 NetMHCIIPan 3.2 소프트웨어를 사용하여 분석하였으며, 이는 www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCIIPan/에서 찾을 수 있다. 인공 신경망을 사용하여 MHC 클래스 II 대립유전자에 대한 웹티드 친화도를 측정하였다. 이 분석에서, MHC 클래스 II 분자와 잠재적으로 직접적인 상호작용을 갖는 9-잔기 웹티드는 결합 코어로 인식되었다. 결합에 간접적으로 영향을 미칠 가능성이 있는, 결합 코어에 인접한 잔기는 또한, 마스킹(masking) 잔기로 확인되었다. 결합 코어 및 마스킹 잔기 돌 다를 포함하는 웹티드는 MHC 클래스 II 분자에 대해 그들의 예상 K_d 가 50nM 미만일 때 강한 결합제로 나타났다. 강한 결합제는 T 세포 면역원성을 이끌 가능성이 더 높다.

[0214] 북미 및 유럽에서 대표되는 총 9개의 MHCII 대립유전자가 인실리코(*in silico*) 분석에 포함되었다. 시험된 IL-2M(IL-2 뮤테인) 분자의 패널에는 L53I, L56I, L80I 또는 L118I 돌연변이를 갖는 IL-2 뮤테인이 포함되었다. MHCII 대립유전자 DRB1_1101, DRB1_1501, DRB1_0701 및 DRB1_0101만이 임의의 검토된 분자로 웹티드 히트(hit)를 생성하였다. DRB_1501에 대한 웹티드 히트(hit)는 C125S 돌연변이를 갖는 야생형 IL-2를 포함하여 시험된 모든 구축물 사이에서 동일하였다. L80I의 첨가는 DRB1-0101 [ALNLAPSKNFHLRPR(서열 번호 60)]에 대한 1 T 세포 에피토프를 제거하고 2개의 다른 T 세포 에피토프 [EEALNLAPSKNFHLR(서열 번호 61) 및 EALNLAPSKNFHLRP(서열 번호 62)]의 친화도를 적당히 감소시킨다. MHCII 대립유전자 DRB1-0701의 경우, L80I는 1 T 세포 에피토프 [EEALNLAPSKNFHLR(서열 번호 63)]를 제거한다. 따라서, 데이터는 L80I 돌연변이를 포함하는 IL-2 뮤테인이 면역 원성이 적어야 한다는 것을 입증하며, 이는 인실리코 분석에서 놀랍고 예상치 못한 결과이다.

[0215] 실시예 7: 추가의 IL-2 뮤테인의 생성

[0216] 인간 IgG1 Fc 도메인의 N-말단에 융합된 인간 IL-2M 또는 IL-2M을 갖는 단일 IL-2M(IL-2 뮤테인) 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40(및 IL-2M 대조군; 서열 번호 34) 폴리웹티드를 암호화하는 단일 유전자를 함유하는 pTT5 벡터를 HEK293 Expi 세포에 형질감염시켰다. 5-7일 후, 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40(및 IL-2M 대조군; 서열 번호 34)을 발현하는 세포 배양 상청액을 얻고, 원심분리 및 0.22μm 여과 장치를 통한 여과에 의해 정화되었다. 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40(및 IL-2M 대조군; 서열 번호 34)을 proA 수지상에 획득하였다. 수지를 PBS pH 7.4로 세척하고 획득한 단백질을 10% 부피의 1M Tris pH 8.0을 사용하여 중화시키면서, 0.25% 아세트산 pH 3.5를 사용하여 용리시켰다. 단백질을 30mM HEPES 150mM NaCl pH 7 내로 완충제 교환하고 Superdex 200 3.2/300 컬럼에서 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. Bis-Tris 4-12% 겔에서 SDS-PAGE를 환원 및 비-환원시켜 5ug의 정제된 물질을 분석하였다.

[0217] IL-2M 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40(및 IL-2M 대조군; 서열 번호 34)은 45mg/L 초과에서 발현되었고, 크기 배제 크로마토그래피 및 환원/비-환원 SDS-PAGE에 의해 나타난 바와 같이 정제 후 95% 초과 단분산되었다.

- [0218] 실시예 8: IL-2M은 CD25에 결합할 수 있다
- [0219] 면역흡착 플레이트를 PBS pH 7.4, 75uL/웰로 0.5 μ g/mL의 농도에서 CD25로 코팅하고, 4°C에서 밤새 배양하였다. 웰을 0.05% 트윈-20을 함유하는 PBS pH 7.4(세척 완충제)로 3회 세척한 다음, 실온에서 2시간 동안 PBS pH 7.4(블록 완충제) 중 200uL/웰 1% BSA로 블록하였다. 세척 완충제로 3회 세척한 후 IL-2M 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39, 서열 번호 40을 최고 농도인 2nM로 1% BSA 및 0.05% 트윈-20을 함유하는 PBS(검정 완충제)에서 11 내지 2배 연속 희석으로 희석하였다. 희석된 물질을 실온에서 1시간 동안 75uL/웰로 CD25 코팅된 플레이트에 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척한 후, 분석 완충제 중 0.05 μ g/mL로 희석된 염소 비오티닐화된 항-IL-2 다클론 항체를 플레이트에 75uL/웰로 1시간 동안 실온에서 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척한 후, 1:5000의 분석 완충제에서 희석된 고감도 스트렙타비딘 HRP를 75uL/웰로 15분 동안 실온에서 플레이트에 첨가하였다. 세척 완충제로 3회 세척하고 세척 완충제(트윈-20 없음)로 1회 세척한 후, TMB로 분석을 진행하고, 1N HCl로 중지시켰다. OD 450nm가 측정되었다. 실험은 CD25의 부재 하에서 플레이트/블록에 대한 분자의 비-특이적 결합에 대해 적절한 대조군을 포함하였다. 결과는 2nM-1.9pM의 농도에서 실시예 7의 뮤테인이 나노몰 이하의 EC50으로 CD25에 결합할 수 있음을 나타낸다. 또한, CD25가 플레이트 표면에 존재하지 않을 때, 시험된 임의의 농도에서 어떤 화합물의 검출이 없었으며, 이는 시험 화합물 중 어느 것도 플레이트 표면과 비-특이적으로 상호 작용하지 않았음을 나타낸다. 따라서, 실시예 7의 뮤테인은 CD25에 결합할 수 있다.
- [0220] 실시예 9: 실시예 7의 IL-2 뮤테인은 강력하고 선택적이다
- [0221] 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)는 새롭게 분리된 혜파린첨가 인간 전혈로부터 FICOLL-PAQUE Premium 및 Sepmate 튜브를 사용하여 제조되었다. PBMC를 야생형 IL-2 또는 실시예 7의 뮤테인의 존재 하에 10% 소 태아 혈청 RPMI 배지에서 20분 동안 배양한 후 BD Cytofix로 10분 동안 고정시켰다. 고정 세포를 BD Perm III 및 이어서 BioLegend FOXP3 투과 완충제로 순차적으로 투과화시켰다. 인간 혈청으로 10분 동안 블로킹(blocking)한 후, 세포를 포스포-STAT5 FITC(CST), CD25 PE, FOXP3 AF647 및 CD4 PerCP Cy5.5(모든 BD)에 대한 항체로 30분 동안 염색한 후, 플레이트 판독기를 사용하여 Attune NXT에서 획득하였다. 실시예 7의 IL-2 뮤테인은 강력하고 Treg 대 Teff에 대해 선택성을 갖는 것으로 밝혀졌다. L118I 돌연변이를 포함하는 뮤테인은 다른 뮤테인과 비교하여 증가된 활성 및 선택성을 갖는 것으로 밝혀졌다.
- [0222] 실시예 10: IL-2 뮤테인은 인간화된 쥐에서 Treg를 증식시킨다
- [0223] 인간 CD34+ 조혈 줄기 세포로 인간화된 NSG 쥐는 Jackson Labs로부터 구입하였다. 0일 및 7일에, 쥐에게 1ug IL-2 뮤테인 서열 번호 34 또는 다른 IL-2 뮤테인 서열 번호 37, 서열 번호 38, 서열 번호 39 또는 서열 번호 40을 피하 투여하였다. 7일에, 쥐를 안락사시키고 전혈 및 비장을 수집하였다. 전혈을 96 웰 짚이 웰 플레이트에 분취하고 BD Fix Lyse를 사용하여 10분 동안 고정시켰다. 비장세포를 70um 필터(BD)를 사용하여 단리하고 적혈구를 BioLegend의 RBC 용해 완충제를 사용하여 용해시켰다. 2% 소 태아 혈청 PBS로 세척한 후, 비장세포를 근적외선 생사 염색(Invitrogen)으로 20분 동안 표지한 다음, BioLegend 고정 완충제를 사용하여 20분 동안 고정시켰다. 이어서, 전혈 세포 및 비장세포 둘 다를 BioLegend FOXP3 투과 완충제를 사용하여 투과화시키고, 인간 혈청으로 블록하고 인간 CD8a FITC(BL), 인간 CD25 PE(BD), 인간 FOXP3 AF647(BD) CD4 PerCP Cy5.5(BD), 인간 Siglec-8 PE Cy7(BL), 인간 CD3 BV421(BL), 인간 CD45 BV605(L), 인간 CD56 BV785(BL) 및 쥐 CD45(BV711)에 대한 항체로 30분 동안 염색하고 플레이트 로더(plate loader)를 사용하여 Attune NXT에서 획득하였다.
- [0224] 비히를 대조군과 비교하여, IL-2M 서열 번호 37 및 서열 번호 38 및 서열 번호 39 및 서열 번호 40은 인간화된 쥐의 쥐 비장 및 전혈에서 인간 Treg를 선택적으로 유도하였다. 인간 CD56pos NK 세포, CD3pos T 세포, CD8pos 세포독성 T 럼프구, CD4pos 헬퍼 T 세포 또는 CD25lo/FOXP3neg T 이팩터의 빈도에는 유의미한 변화가 없었다. 이러한 결과는 IL-2 뮤테인이 조절 T 세포의 빈도를 증가시킨다는 것을 입증한다.
- [0225] 실시예 11: IL-2 뮤테인에 의해 유도된 신호전달의 내구성
- [0226] 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)는 새롭게 분리된 혜파린첨가 인간 전혈로부터 FICOLL-PAQUE Premium 및 Sepmate 튜브를 사용하여 제조되었다. PBMC를 IL-2M의 존재 하에 10% 소 태아 혈청 RPMI 배지에서 60분 동안 배양하였다. 이어서 세포를 3회 세척하고 추가 3시간 동안 배양하였다. 이어서 세포를 BD Cytofix로 10분 동안 고정시켰다. 고정된 세포를 BD Perm III 및 이어서 BioLegend FOXP3 투과 완충제로 순차적으로 투과화시켰다. 인간 혈청으로 10분 동안 블로킹(blocking)한 후, 세포를 포스포-STAT5 FITC, CD25 PE, FOXP3 AF647 및 CD4 PerCP Cy5.5에 대한 항체로 30분 동안 염색한 후, 플레이트 판독기를 사용하여 Attune NXT에서 획득하였다. 실시예 19의 모든 4 개의 IL-2 뮤테인은 대조군과 비교하여 Treg에서는 오래가는(durable) 신호전달을 유발하지만 Teff에서는 그렇

지 않았다. 서열 번호 40은 서열 번호 39, 서열 번호 38 또는 서열 번호 37보다 우수하다. 이들 결과는 IL-2가 체내 Treg 증식을 더 크게 해야 하고 Treg 증식을 달성하기 위해 덜 빈번한 투여를 해야 하는 Treg에서 오래가는(durable) 선택적 신호전달을 유도할 수 있다는 것을 입증한다.

[0227] 본 명세서에 제공된 실시예는 IL-2 뮤테인이 Teff에 비해 Treg를 선택적으로 그리고 강력하게 활성화시키는 기능을 할 수 있는 놀랍고 예상치 못한 결과를 나타내며, 이는 상기 문자가 본 명세서에 기재된 질환을 치료 또는 개선하는데 사용될 수 있음을 입증한다. 본 명세서에 제공된 IL-2 뮤테인은 또한 본 명세서에 제공된 바와 같이 Fc 도메인 또는 링커와 융합되거나 융합되지 않은 상태로 생성 및 사용될 수 있다.

[0228] 본 발명의 구체예는 특정 실시예를 참조하여 기재되었다. 이들 실시예는 어떠한 방식으로도 구체예를 제한하려는 것이 아니다. 본 명세서의 목적을 위해, 본 명세서의 범위 내에 있는 다양한 변경 및 수정이 이루어질 수 있음이 이해된다. 당업자에게 용이하게 제시하고 본 명세서에 개시되고 첨부된 청구범위에 정의된 본 발명의 사상에 포함되는 다수의 다른 변형이 이루어질 수 있다.

[0229] 실시예 12: 뮤테인은 전체 POI 및 더 적은 응집을 나타낸다.

[0230] V69A, Q74P, N88D 및 C125S의 돌연변이 및 본 명세서에 제공된 L234A, L235A 및 G237A 돌연변이를 포함하는 Fc 영역에 연결된 하기 돌연변이 L53I, L56I, L80I 또는 L118I 중 하나를 갖는 IL-2 뮤테인이 HEK293 Expi 세포내로 형질감염시킴으로써 pTT5 백터에서 발현되었다. IL-2 뮤테인은 4 GGGGS(서열 번호 10) 반복으로 Fc 영역의 N-말단에 연결되었다. 5-7일 후, 상이한 IL-2 뮤테인을 발현하는 세포 배양 상청액을 수거하고, 원심분리 및 0.22μm 여과 장치를 통한 여과에 의해 정화시켰다. IL-2 뮤테인을 proA 수지상에 포획하였다. 상기 수지를 PBS pH 7.4로 세척하고 포획된 단백질을 10% 부피의 1M Tris pH 8.0을 사용하여 중화시키면서, 0.25% 아세트산 pH 3.5를 사용하여 용리시켰다. 상기 단백질을 30mM HEPES 150mM NaCl pH 7대로 완충제 교환하고, 목적 피크 퍼센트(POI)를 위해 AdvanceBio SEC 컬럼에서 크기 배제 크로마토그래피로 분석하였다. 결과는 별개의 뮤테인들이 60mg/L 초과에서 발현되었음을 입증하였다. 그러나, 놀랍게도 크기 배제 크로마토그래피에 의하여 L80I 또는 L118I 돌연변이를 갖는 뮤테인은 90% 초과 단분산된 반면, L53I 또는 L56I 돌연변이를 갖는 뮤테인은 그렇게 나타나지 않은 것으로 밝혀졌다. 따라서, L80I 또는 L118I 치환을 갖는 뮤테인은 응집이 적었다. 4개의 문자(L80I, L118I, L53I 및 L56I를 포함하는 IL-2 뮤테인) 사이의 응집의 차이는 만들어지는 돌연변이의 유형으로 인해 놀랍게 나타났다. 따라서, L80I 또는 L118I 돌연변이를 갖는 뮤테인은 다른 뮤테인만큼 응집되지 않는다는 점에서 다른 뮤테인에 비해 놀라운 이점을 갖는다.

[0231] 실시예 13: IL-2 뮤테인의 예상치 못한 효능 증가

[0232] 실시예 12에 기재된 뮤테인을 시험관내 분석에서 효능에 대해 분석하였다. 간단히, PBMC를 혜파린첨가 인간 전혈로부터 단리하고 37°C에서 30분 동안의 농도로 상이한 뮤테인으로 자극하였다. 자극은 고정(fixation)에 의해 중단되었다. 투과화 후, PBMC를 세포내 FoxP3 및 포스포-STAT5 수준 및 표면 CD4 및 CD25 발현을 위해 염색하고 유세포 분석에 의해 분석하였다. 조절 T 세포(Treg) 및 이팩터 T 세포(Teff)는 각각 CD4+CD25hiFoxP3+ 또는 CD4+CD25loFoxP3-로 게이팅되었다(gated). 포스포-STAT5를 위해 양성으로 염색된 세포의 백분율이 제시된다. 이 분석은 뮤테인이 Teff를 자극하지 않고 Treg를 특이적으로 자극하는 능력을 측정한다. EC₅₀ 값을 계산하기 위해 각각의 시험 순간에 가장 적합한 투여량-반응 곡선을 사용하였다.

[0233] 놀랍게도, L118I, L80I, L56I 또는 L53I의 돌연변이를 갖는 뮤테인은 이들 돌연변이가 없는 IL-2 뮤테인과 비교하여 증가된 효능(Treg를 자극함)을 가졌다. L118I, L80I, L56I 또는 L53I의 돌연변이는 없지만 V69A, Q74P 및 N88D 돌연변이를 갖는 IL-2 뮤테인은 대략 51pM이었다. L118I, L80I, L56I 또는 L53I 중 하나를 포함하는 뮤테인에 대한 EC₅₀ 각각은 각각 대략 30, 40, 41 및 45의 EC₅₀을 가졌다. Treg 자극(Teff 자극에는 변화 없음)에 대한 EC₅₀의 이러한 차이는 놀랍고, 본 실시예에 기재된 돌연변이 중 하나를 갖는 뮤테인에 대한 이러한 차이는 예측되지 않았을 것이다. 또한 L118I, L80I, L56I 또는 L53I 돌연변이 중 하나를 포함하는 뮤테인에 대한 모(parent) IL-2 뮤테인(V69A, Q74P, N88D 및 C125S를 포함)의 비를 비교함으로써 데이터를 평가할 수 있다. 이 비율을 사용하면, 다른 실험에 사용되는 다른 세포 집단에 대해 정규화된다. 이 비율을 사용하면, L118I는 모 대조군과 비교하여 대략 25% 더 많은 효능의 평균 증가(평균 0.16의 표준 오차)를 갖는 반면, 다른 돌연변이는 이 비율을 사용한 모 대조군과 비교하여 활성이 감소하였다.

[0234] 시험관내 데이터가 L118I, L80I, L56I 또는 L53I 돌연변이 중 하나를 갖는 뮤테인에 대해 체내에서 확인되었다. L118I는 체내에서 L118I 돌연변이가 없는 뮤테인보다 더 강력한 것으로 밝혀졌다. 간단히, 인간 CD34+ 조혈 줄기 세포로 재구성된 NSG(Nod-Scid-IL-2Rgamma-deficient) 쥐에 0 및 7일에 지시된 시험 물품 또는 비허를 1 마

이크로그램을 피하 주사하였다. 11일째, 쥐를 죽이고 혈액을 심장 천자(cardiac puncturepuncture)에 의해 혈관을 함유하는 튜브내로 수집하였다. 말초 혈액 백혈구(PBL)를 적혈구의 용해에 의해 단리하고 인간 마커(marker) CD45, CD3, CD8, CD4, FoxP3, CD25 및 CD56에 반응성인 항체로 염색하였다. 인간 조절 T 세포(Tregs, CD45+CD3+CD4+CD25+FoxP3+), 활성화된 이펙터 T 세포(act Teff, CD45+CD3+CD4+CD25+FoxP3-) 및 NK 세포(CD45+CD56+)의 백분율을 유세포 분석에 의해 측정하였다. 총 CD45+, 총 CD4+ 및 총 CD8+ 세포의 빈도는 변하지 않았다. 쥐의 비장에서 유사한 결과가 관찰되었다. L80I 돌연변이가 없는 뮤테인과 비교하여 L80I 돌연변이를 갖는 IL-2 뮤테인의 이러한 분석에서 측정된 체내 효능이 약간 증가하였고, L56I 또는 L53I 돌연변이를 갖는 뮤테인의 이러한 분석에서 측정된 체내 효능은 돌연변이가 없는 뮤테인과 거의 동일하였다. 상기 뮤테인은 20 아미노산(GGGGS)₄(서열 번호 9) 링커와 함께 본 명세서에 기재된 바와 같이 Fc 영역에 연결된 N-말단이었다. 즉, 링커는 IL-2 뮤테인의 C-말단을 Fc 영역의 N-말단에 연결하였다.

[0235] 실시예 14: 20개의 아미노산 링커를 갖는 N-말단 Fc 배향은 Treg 자극에 가장 효과적이다. V69A, Q74P 및 N88D를 갖는 IL-2 뮤테인을 상이한 길이의 GGGGS(서열 번호 10) 반복으로 L234A, L235A 및 G237A 돌연변이의 돌연변이를 포함하는 Fc 영역에 융합시켰다. 3 및 4개의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 포함하는 링커와 함께 뮤테인의 c-말단을 통해 인간 IgG1 Fc의 n-말단에 융합된 IL2-뮤테인 분자를 시험하여 링커의 길이가 IL-2 뮤테인의 효능에 영향을 미치는지 여부를 측정하였다. n-말단을 통해 단일 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 갖는 인간 IgG1 Fc의 c-말단에 융합된 뮤테인도 시험하였다. 간략하게, 인간 CD34+ 조혈 줄기 세포로 재구성된 NSG(Nod-Scid-IL-2Rgamma-deficient) 쥐에 0일에 다른 링커 길이 또는 비히클을 갖는 상이한 IL-2 뮤테인 1 마이크로그램을 피하 주사하였다. 7일 째에, 쥐를 희생시키고 혈액을 혈관을 함유하는 튜브 내로 심장 천자에 의해 수집하였다. 말초 혈액 백혈구(PBL)를 적혈구의 용해에 의해 단리하고 인간 마커 CD45, CD3, CD8, CD4, FoxP3, CD25 및 CD56에 반응성인 항체로 염색하였다. 인간 조절 T 세포(Tregs, CD45+CD3+CD4+CD25+FoxP3+), 활성화된 이펙터 T 세포(act Teff, CD45+CD3+CD4+CD25+FoxP3-) 및 NK 세포(CD45+CD56+)의 백분율을 유세포 분석에 의해 측정하였다. 총 CD45+, 총 CD4+ 및 총 CD8+ 세포의 빈도는 변하지 않았다. 쥐의 비장에서 유사한 결과가 관찰되었다.

[0236] 4개의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 포함하는 링커와 함께 인간 IgG1 Fc의 N-말단에 융합된 뮤테인은 단지 3개의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 갖는 링커를 갖는 뮤테인 또는 단일 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 갖는 인간 IgG1 Fc의 c-말단에 융합된 뮤테인과 비교하여 가장 강력한 것으로 밝혀졌다. 또한, 4개의 GGGGS(서열 번호 10) 반복을 갖는 단백질은 Treg를 증식시키는데 더 효과적이었지만, 상기 구성은 CD56+ NK 세포의 어떠한 차별적인 증식도 유발하지 않았다. 더 긴 링커를 갖는 N-말단 Fc 융합된 뮤테인을 갖는 단백질이 가장 강력할 것이며 CD56+ NK 세포의 차별적인 증식을 유발하지 않을 것이라는 것은 예측할 수 없었다.

[0237] 실시예 15: 활성 류마티스 관절염 환자 치료.

[0238] 서열 번호 37, 38, 39 또는 40의 서열을 포함하는 IL-2 뮤테인 단백질을 포함하는 약학 조성물은 활성 류마티스 관절염 환자에게 투여된다. IL-2 뮤테인은 환자의 활성 류마티스 관절염 치료에 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0239] 실시예 16: 활성 전신 홍반성 루푸스 환자의 치료.

[0240] 서열 번호 37, 38, 39 또는 40의 서열을 포함하는 IL-2 뮤테인 단백질을 포함하는 약학 조성물은 활성 전신 홍반성 루푸스 환자에게 투여된다. IL-2 뮤테인은 활성 전신 홍반성 루푸스를 치료하는데 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0241] 실시예 17: 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환 환자의 치료.

[0242] 서열 번호 37, 38, 39 또는 40의 서열을 포함하는 IL-2 뮤테인 단백질을 포함하는 약학 조성물은 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환 환자에게 투여된다. IL-2 뮤테인은 스테로이드 불응성 만성 이식편 대 숙주 질환의 치료에 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0243] 실시예 18: IL-2 뮤테인은 인간 Treg에서 pSTAT5를 유도한다. 6명의 건강한 공여자로부터의 혈관 천자(pSTAT5 및 FOXP3)를 모두 검출하는 항체로 염색되었다. Attaune NxT 세포측정기에서 데이터를 수집하였다. Treg는 단핵, 싱글릿(singlet), CD3pos, CD4pos, CD25hi, FoxP3pos로 게이팅되었다. 인산화된 STAT5를 발현하는 게이팅된 Treg의 %를 측정하였다. 최적 곡선을 pSTAT5의 용량-반응에 맞추고 EC50 값을 측정하였다. 6명의 모든 공여자의 평균 EC50 값을 서열 번호 39의 IL-2(37.26 ± 7.30; n=16) 및 서열 번호 40의 IL-2(23.11 ± 5.35; n=15)에 대해 측정하였다. 데이터는 IL-2 뮤테인이 인간 Treg에서 pSTAT5를 유도할 수 있음을 입증한다. 서열 번호 40의

서열을 포함하는 IL-2는 서열 번호 39를 포함하는 IL-2 서열보다 더 강력하지만, 둘 다 다수의 세포 집단에 걸쳐 활성이다.

[0244] 실시예 19: IL-2 뮤테인은 시험관내 원숭이 PBMC에서 pSTAT5를 유도한다. 3마리의 건강한 원숭이로부터의 혈관첨가 전혈로부터 정제된 PBMC를 연속 희석으로 37°C에서 60분 동안 서열 번호 39 또는 40의 서열을 포함하는 IL-2 뮤테인 단백질로 처리하였다. 형광색소 결합된 항-CD25 및 항-CD4를 최종 30분의 IL-2 뮤테인 처리 동안 첨가하였다. 세포를 고정, 세척, 투과화 및 세척하였다. 표면 마커 및 세포내/핵 마커(pSTAT5 및 FOXP3)를 모두 검출하는 잔류 항체로 세포를 염색하였다. Attune NxT 세포측정기에서 데이터를 수집하였다. Treg는 단핵, 싱글릿, CD4pos, CD25hi, FoxP3pos로 게이팅되었다. 인산화된 STAT5를 발현하는 게이팅된 Treg의 %를 측정하였다. IL-2 뮤테인은 원숭이에서 pSTAT5를 유도하는 것으로 밝혀졌다.

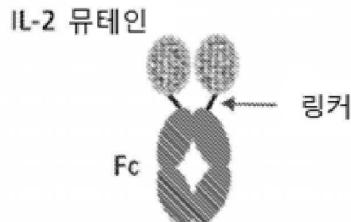
[0245] 실시예 20: IL-2 뮤테인은 체내에서 증식 Treg 세포를 유도하고 Treg 증식을 유도한다. 정맥 전혈을 서열 번호 39 또는 40(2시점/시노(timepoints/cyno), 5시노)의 IL-2 뮤테인으로 투여하기 전 및 서열 번호 39(5시점/시노, 2시노) 또는 서열 번호 40(5시점/시노, 3시노)으로 투여한 후 원숭이(시노몰구스(cynomolgus))로부터의 K2EDTA 튜브에 수집하였다. 샘플을 2개로 나누고 2개의 FACS 패널에 대해 각각 염색하였다. 하나는 "Treg 패널"이고 다른 하나는 일반적인 면역표현형 패널이었다. 고정 및 투과화 후에 RBC를 용해시키고 세포를 표면 및 세포내 마커에 대해 염색하였다. FAC 분석을 위해, 총 세포/uL의 수가 ADVIA에 의해 결정되었다. 이어서 주어진 소집단의 세포 수/uL가 총 수/uL 및 총 %로 계산되었다. 각각의 원숭이에 대해, 투여-후 블리드를 정규화하기 위해 2개의 투여-전 블리드(bleeds)의 주어진 세포유형의 평균 수/uL를 평균화하고 사용하여, "투여-전으로부터의 배수-변화"가 측정되었다. 혈청 사이토카인 및 케모카인을 분석하기 위해, 연구가 끝날 때까지 K2EDTA 전혈의 혈장을 동결시켰다. 케모카인 및 사이토카인 양을 표준 대조군의 연속 희석을 사용하여 멀티플렉스 MSD 검정에 의해 정량화하였다. MCP-1 및 IP-10의 평균 및 범위는 투여-전 블리드에서 결정되었다. 두 뮤테인 모두 원숭이에서 Treg를 증식시키고 Treg 증식을 유도하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 결과는 IL-2 뮤테인이 인간과 유사한 체내 동물 모델에서 기능한다는 것을 입증한다. 또한, 어느 분자도 원숭이(비인간 영장류)에서 Tconv 세포, CD4 세포(Tnaive) 또는 CD8 세포(Cytotoxic T), NK 세포를 상당하게 증식시키지 않았다는 것도 밝혀졌다. 또한 어느 분자도 혈청 케모카인을 상당하게 유도하지 않는 것으로 밝혀졌다. 이 데이터는 IL-2 뮤테인이 다른 경로의 원치 않는 증식 또는 활성화 없이 Treg 세포를 증식시키고 Treg 세포 증식을 유도할 수 있음을 입증한다. 따라서, IL-2 뮤테인은 Treg 증식 및 확산에 대해 놀랍게도 강력하고 효과적이며 선택적이다.

[0246] 요약하면, 본 명세서에 제공된 구체예 및 실시예는 IL-2 뮤테인이 의도된 대로 기능할 수 있고 본 명세서에 기재된 질병 및 질환을 치료하는데 사용될 수 있음을 입증한다.

[0247] 본 명세서는 특히, 특히 출원 및 공개에 대한 수많은 인용을 포함한다. 각각은 모든 목적을 위해 본 명세서에서 참조로 포함된다.

도면

도면1



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Pandion Therapeutics, Inc.

Higginson-Scott, Nathan

Viney, Joanne L

Visweswaraiah, Jyothsna

Sampson, Erik R

Otipoby, Kevin L

<120> IL-2 MUTEINS AND USES THEREOF

<130> 145256.00403

<150> US 62/675,972

<151> 2018-05-24

<150> US 62/721,644

<151> 2018-08-23

<150> US 16/109,875

<151> 2018-08-23

<150> US 16/109,897

<151> 2018-08-23

<150> US 62/595,357

<151> 2017-12-06

<160> 63

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 153

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 1

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

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

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

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

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

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

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50	55	60
Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu		
65	70	75
Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys		
85	90	95
Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile		
100	105	110
Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala		
115	120	125
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe		
130	135	140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
145	150	
<210> 2		
<211> 133		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 2		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys		
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu		
65	70	75
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 3

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 3

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Ile Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 4

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 4

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Ile Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 5

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 5

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Ile Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 6

<211> 153

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 6

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys
 85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile
 100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Ile Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

145 150

<210> 7

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 7

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser

20

<210> 8

<211> 226

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 8

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

1 5 10 15

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Pro Gly

225

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 9

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 10

<

211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> n=1-4

<400> 10

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 11

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 11

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Ile Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

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

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395

<210> 12

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 12

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Ile Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130	135	140
Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
145	150	155
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr		
165	170	175
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser		
180	185	190
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
195	200	205
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
210	215	220
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
225	230	235
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
245	250	255
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
260	265	270
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
275	280	285
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
290	295	300
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
305	310	315
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
325	330	335
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
340	345	350
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
355	360	365
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
370	375	380

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390 395
 <210> 13
 <211> 399
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence
 <400> 13

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

Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile
 35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe
 50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu
 65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys
 85 90 95

Asn Phe His Ile Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile
 100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala
 115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe
 130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr

165 170 175

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser
 180 185 190

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

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

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

 355 360 365
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 370 375 380
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390 395
 <210> 14
 <211> 399
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic sequence
 <400> 14

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Ser Asn His Lys Asn Pro Arg Leu Ala Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Glu Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ala Pro Ser Lys

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115 120 125

Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Ile Asn Arg Trp Ile Thr Phe

130 135 140

Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr

165 170 175

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245	250	255
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
260	265	270
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
275	280	285
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
290	295	300
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
305	310	315
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
325	330	335
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
340	345	350
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
355	360	365
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
370	375	380
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
385	390	395
<210> 15		
<211> 226		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> synthetic sequence		
<400> 15		
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
1	5	10
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
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
85	90	95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
100	105	110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
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		
225		
<210> 16		
<211> 15		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> synthetic sequence		
<400> 16		
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser		

1	5	10	15
<210> 17			
<211> 133			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic sequence			
<400> 17			
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys			
20	25	30	
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys			
35	40	45	
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys			
50	55	60	
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile			
115	120	125	
Ile Ser Thr Leu Thr			
130			
<210> 18			
<211> 133			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic sequence			
<400> 18			
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 19

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 19

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Arg Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 20

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> synthetic sequence

<400> 20

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 21

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 21

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 22

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 22

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1	5	10	15												
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
							20							30	

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

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

<210> 23
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic sequence
<400> 23

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His			
														1	5	10	15

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

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 24

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> synthetic sequence

<400> 24

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Ile Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 25

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 25

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

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

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Ile Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 26

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 26

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1	5	10	15												
Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
							20							30	

Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
															35
															40
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
															50
Pro	Leu	Glu	Glu	Ala	Leu	Asn	Leu	Ala	Pro	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Ile
															65
Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asp	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu
															85
															90
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala
															100
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ser	Gln	Ser	Ile
															115
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr											
															130

<210> 27

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 27

Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His
1														15

Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys
															20
Asn	Pro	Lys	Leu	Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Phe	Lys	Phe	Tyr	Met	Pro	Lys
															35
Lys	Ala	Thr	Glu	Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys
															50
Pro	Leu	Glu	Glu	Ala	Leu	Asn	Leu	Ala	Pro	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Ile Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr

130

<210> 28

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> synthetic sequence

<400> 28

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

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

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly

225

<210> 29

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 29

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 Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

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

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

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly

225

<210> 30

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 30

Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

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

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

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

 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 290 295 300
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

305	310	315	320
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser			
325	330	335	
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser			
340	345	350	
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser			
355	360	365	
Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
370			
<210> 31			
<211> 374			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> synthetic sequence			
<400> 31			
Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His			
1	5	10	15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys			
20	25	30	
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys			
35	40	45	
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys			
50	55	60	
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu			
65	70	75	80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu			
85	90	95	
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala			
100	105	110	
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile			
115	120	125	
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly			

130	135	140
Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		
145	150	155
Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
165	170	175
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
180	185	190
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
195	200	205
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr		
210	215	220
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
225	230	235
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu		
245	250	255
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
260	265	270
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys		
275	280	285
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
290	295	300
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
305	310	315
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
325	330	335
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
340	345	350
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
355	360	365
Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
370		

<210> 32

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 32

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Arg Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370

<210> 33

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 33

Ala Pro Thr Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

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

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

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

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

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

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

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

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

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

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370

<210> 34

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 34

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

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

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

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

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

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

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

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

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

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

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315	320
-----	-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340 345 350

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

355 360 365

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370

<210> 35

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 35

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Arg Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

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

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

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

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

180	185	190
-----	-----	-----

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

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235
-----	-----	-----

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

245	250	255
-----	-----	-----

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

260	265	270
-----	-----	-----

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

275	280	285
-----	-----	-----

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

290	295	300
-----	-----	-----

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

305	310	315
-----	-----	-----

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

325	330	335
-----	-----	-----

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

340	345	350
-----	-----	-----

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

355	360
-----	-----

365

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370

<210> 36

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 36

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210	215	220
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
225	230	235
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu		
245	250	255
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
260	265	270
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys		
275	280	285
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
290	295	300
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
305	310	315
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
325	330	335
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser		
340	345	350
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
355	360	365
Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
370		
<210> 37		
<211> 379		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> synthetic sequence		
<400> 37		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30

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

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

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

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

275

280

285

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

290

295

300

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

305 310 315 320

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

325

330

335

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

340

345

350

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

355

360

365

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370

375

<210> 38

<211> 379

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 38

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20

25

30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35

40

45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Ile Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50

55

60

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85

90

95

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

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

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

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

340	345	350
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
355	360	365
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
370	375	
<210> 39		
<211> 379		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> synthetic sequence		
<400> 39		
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His		
1	5	10
15		
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys		
20	25	30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys		
35	40	45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys		
50	55	60
Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Ile		
65	70	75
80		
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu		
85	90	95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala		
100	105	110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile		
115	120	125
Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
130	135	140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
145	150	155
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe		

165	170	175
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
180	185	190
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
195	200	205
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
210	215	220
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
225	230	235
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
245	250	255
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
260	265	270
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
275	280	285
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
290	295	300
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
305	310	315
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
325	330	335
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
340	345	350
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
355	360	365
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
370	375	
<210> 40		
<211> 379		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220><223> synthetic sequence		

<400> 40

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Ile Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

340 345 350

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

355 360 365

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370 375

<210> 41

<211> 379

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 41

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

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

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 305 310 315 320

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 325 330 335

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 340 345 350

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 355 360 365

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375

<210> 42

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<400> 42

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 Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

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

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

115	120	125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
130	135	140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
145	150	155
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 Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys		
225	230	235
Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu		
245	250	255
Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr		
260	265	270
Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln		
275	280	285
Cys Leu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala		
290	295	300
Pro Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile		
305	310	315
Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys		
325	330	335
Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp		
340	345	350
Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr		
355	360	

<210> 43

<211> 379

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic sequence

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (53)..(53)

<223> L or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (56)..(56)

<223> L or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (80)..(80)

<223> L or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (118)..(118)

<223> L or I

<400> 43

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45

Lys Ala Thr Glu Xaa Lys His Xaa Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys

50 55 60

Pro Leu Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Xaa

65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asp Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala

100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Xaa Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370 375

<210> 44

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 44

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 45

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 46

Glu Ala Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10 15

<210> 47

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(4)

<223> n=1-3

<400> 47

Glu Ala Ala Lys

1

<210> 48

<211>

> 46

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 48

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

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

Glu Ala Ala Ala Lys Ala Leu Glu Ala Glu Ala Ala Lys Glu Ala

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

Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

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

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 49

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

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

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 50

Pro Ala Pro Ala Pro

1	5
---	---

<210> 51

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 51

Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Val Phe Pro Asp

1 5 10 15

Val

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 52

Pro Leu Gly Leu Trp Ala

1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 53

Arg Val Leu Ala Glu Ala

1 5

<210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 54

Glu Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr

1 5 10

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 55

Gly Gly Ile Glu Gly Arg Gly Ser

1 5

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 56

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu

1 5 10

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 57

Ala Gly Asn Arg Val Arg Arg Ser Val Gly

1 5 10

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 58

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

1 5

<210> 59

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 59

Gly Phe Leu Gly

1

<210> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 60

Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg

1 5 10 15

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 61

Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

1 5 10 15

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 62

Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro

1 5 10 15

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 63

Glu Glu Ala Leu Asn Leu Ala Pro Ser Lys Asn Phe His Leu Arg

1

5

10

15