



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년06월02일
(11) 등록번호 10-1626703
(24) 등록일자 2016년05월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 38/47 (2006.01) A61K 31/337 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) A61K 9/107 (2006.01) (21) 출원번호 10-2014-7030904 (22) 출원일자(국제) 2013년03월15일 심사청구일자 2015년06월11일 (85) 번역문제출일자 2014년11월03일 (65) 공개번호 10-2015-0002752 (43) 공개일자 2015년01월07일 (86) 국제출원번호 PCT/US2013/032684 (87) 국제공개번호 WO 2013/151774 국제공개일자 2013년10월10일 (30) 우선권주장 61/686,429 2012년04월04일 미국(US) 61/714,719 2012년10월16일 미국(US) (56) 선행기술조사문헌 W02009128917 A2* Anticancer Drugs, Vol. 19, No. 9, pp.899-909, abstract.* W02011057034 A2 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌	(73) 특허권자 할로자임, 아이엔씨 미국 캘리포니아 92121 샌디에고, 소렌토 밸리 로드 11388 (72) 발명자 마네발, 다니엘, 씨. 미국 캘리포니아 92130 샌디에고 베이윈드 포인트 12892 세퍼드, 에이치., 마이클 미국 캘리포니아 92122 샌디에고 파블로브 애비뉴 4637 툼슨, 커티스, 비. 미국 캘리포니아 92124 샌디에고 베라크루즈 코트 10355 (74) 대리인 안소영

전체 청구항 수 : 총 36 항

심사관 : 김윤경

(54) 발명의 명칭 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 탁산을 이용한 병용 치료

(57) 요약

본원 발명은 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 및 종양-표적 탁산, 및 선택적으로 추가적인 화학 치료 제제, 예컨대 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 병용 치료를 제공한다. 병용 치료는 암 및 특히 고형 종양 암을 치료하는 방법에 사용될 수 있다.

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 폴리머에 컨쥬게이션된 가용성 히알루로니다아제를 포함하는 제1 조성물; 및

(ii) 탁산을 기질 고휘종양에 표적화하는 모이어티(moiety)에 화학적 또는 물리적 상호작용을 통해 직접 또는 간접적으로 연결된 탁산을 포함하는 종양-표적 탁산을 포함하는 제2 조성물을 포함하는, 암 치료용 조합물로서, 상기 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 메톡시폴리에틸렌 글리콜(mPEG)이고;

상기 종양-표적 탁산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이고;

상기 모이어티는 알부민이고; 및

상기 암은 같은 조직 타입의 비-암성 조직과 비교하거나 같은 종양 타입의 비-전이성 종양과 비교하여 히알루로난의 증가된 세포성 및/또는 기질 발현을 나타내는 기질 고휘종양인, 조합물.

청구항 2

제1항에 있어서, 종양-표적 탁산이 파클리탁셀인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

조성물이 직접 투여용으로 제형화되고;

히알루로니다아제의 농도가 종양-관련 히알루로난을 분해하기에 충분하며; 및

종양-표적 탁산의 농도가 종양 내 전달을 달성하기에 충분한 것임을 특징으로 하는 조합물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 종양-표적 탁산의 농도가, 종양 내 탁산의 부재시 뉴클레오시드 탈아미노 효소(deaminase) 단백질의 수준 또는 활성과 대비하여 종양 내 뉴클레오시드 탈아미노 효소 단백질의 수준 또는 활성을 감소시키기에 충분한 것임을 특징으로 하는 조합물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 히알루로니다아제 및 종양-표적 탁산이 단일 조성물로 공-제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 및 제2 조성물이 별개로 제공되는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 화학치료제인 뉴클레오시드 유사체 또는 이의 프로드럭을 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 8

제7항에 있어서,

조성물(들)이 직접 투여용으로 제형화되고; 및

뉴클레오시드 유사체의 농도가 종양 내 전달을 달성하기에 충분한 것임을 특징으로 하는 조합물.

청구항 9

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 히알루로니다아제 및 종양-표적 타산과는 별개로 제공되는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 10

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 히알루로니다아제와 공-제형화되거나 또는 종양-표적 타산과 공-제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 11

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 히알루로니다아제 및 종양-표적 타산과 공-제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 조성물이 다중 용량 투여(multiple dosage administration)용으로 제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 13

제1항 또는 제2항에 있어서, 조성물이 단일 용량 투여(single dosage administration)용으로 제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 14

제1항 또는 제2항에 있어서, 히알루로니다아제 조성물이 50 유닛 히알루로니다아제 활성 (U)/ml 내지 15,000 U/mL, 10 U/mL 내지 500 U/mL, 1000 U/mL 내지 15,000 U/mL, 100 U/mL 내지 5,000 U/mL, 500 U/mL 내지 5,000 U/mL, 또는 100 U/mL 내지 400 U/mL을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 15

제1항 또는 제2항에 있어서, 가용성 히알루로니다아제가 가용성 PH20이거나, 또는 C-말단 글리코실포스파티딜이 노시톨(GPI) 부착 부위 또는 GPI 부착 부위의 일부분이 결여된 PH20의 절단 형태인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서,

히알루로니다아제가 절단된 PH20이고;

히알루로니다아제가 중성 활성 및 가용성이고; 및

절단된 PH20이 서열번호 1의 아미노산 36 내지 464를 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 적어도 서열번호 1의 아미노산 36 내지 464를 포함하는 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 보유하는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 17

제16항에 있어서, PH20이 서열번호 4 내지 9, 47, 48, 150 내지 170 및 183 내지 189 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열을 포함하거나, 서열번호 4 내지 9, 47, 48, 150 내지 170 및 183-189 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 보이며 히알루로니다아제 활성을 보유하는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 18

제1항 또는 제2항에 있어서, 종양-표적 타산이 마이셀, 나노파티클, 마이크로스피어, 리포솜 또는 하이드로젤 중에서 선택되는 전달 비히클로 제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

제1항 또는 제2항에 있어서, 종양 표적 타산 조성물이 0.01 mg 타산/mL 내지 100 mg/mL, 예컨대 1 mg/mL 내지 50 mg/mL, 2.5 mg/mL 내지 25 mg/mL, 5 mg/mL 내지 15 mg/mL, 또는 10 mg/mL 내지 100 mg/mL인 종양-표적 타산의 농도를 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 24

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 퓨린 또는 피리미딘 유사체, 또는 이의 유도체인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 25

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 플루오로피리미딘 5-플루오로우라실, 5-플루오로-2'-데옥시시티딘, 시타라빈, 젬시타빈, 트로사시타빈, 데시타빈, 아자시티딘, 슈도이소시티딘(pseudoisocytidine), 제불라빈, 안시타빈, 파자라빈, 6-아자시티딘, 카페시타빈, N⁴-옥타데실-시타라빈, 엘라이드산 시타라빈, 플루다라빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 넬라라빈, 포로테신 및 펜토스타틴, 또는 이들의 유도체 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 26

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 뉴클레오시드 탈아미노 효소에 대한 기질인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 27

제26항에 있어서, 뉴클레오시드 탈아미노 효소가 아데노신 탈아미노 효소 또는 시티딘 탈아미노 효소인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 28

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체가 플루다라빈, 시타라빈, 젬시타빈, 데시타빈 및 아자시티딘 또는 이들의 유도체 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 29

제7항에 있어서, 뉴클레오시드 유사체 조성물이 1 mg 뉴클레오시드 유사체/mL 내지 500 mg/mL, 5 mg/mL 내지 100 mg/mL, 10 mg/mL 내지 50 mg/mL, 25 mg/mL 내지 200 mg/mL, 또는 20 mg/mL 내지 100 mg/mL인 뉴클레오시드 유사체의 농도를 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 30

제1항 또는 제2항에 있어서, 글루코코르티코이드를 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 31

제1항 또는 제2항에 있어서, 조성물(들)이 경구, 정맥(IV), 피하, 근육내, 종양내, 피내, 국소, 경피, 직장, 경막내 또는 표피하 투여용으로 제형화된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리머가 30 또는 약 30 킬로달톤(kilodalton)의 분자량을 가지는 PEG인 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 35

제1항 또는 제2항에 있어서, 사용을 위한 지침서를 선택적으로 포함하고 키트(kit)로 포장된 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 36

종양-표적 타산과 조합하여 가용성 히알루로니다아제를 포함하는 암 치료용 조성물로서,

여기서, 상기 암은 같은 조직 타입의 비-암성 조직과 비교하거나 같은 종양 타입의 비-전이성 종양과 비교하여, 히알루로난의 증가된 세포성 및/또는 기질 발현을 나타내는 기질 고형 종양이고;

상기 히알루로니다아제는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 메톡시폴리에틸렌 글리콜(mPEG)에 컨쥬게이션되고;

상기 종양-표적 타산은 타산을 기질 고형 종양에 표적화하는 모이어티에 화학적 또는 물리적 상호작용을 통해 직접 또는 간접적으로 연결된 타산을 포함하고;

상기 종양-표적 타산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀이고;

상기 모이어티는 알부민이고; 및

상기 히알루로니다아제는 상기 종양-표적 타산과 동시에, 거의 동시에, 별개로 또는 순차적인 처치를 위해 제형화되는, 조성물.

청구항 37

제36항에 있어서, 암이 췌장암, 난소암, 폐암, 대장암, 전립선암, 비소 세포 폐암(NSCLC), 상피 내암(ISC), 편평상피암(SCC), 자궁 경부암, 두경부암 및 유방암 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, 암이 췌장암인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 39

제3항에 있어서, 화학치료제인 뉴클레오시드 유사체 또는 이의 프로드럭을 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 40

제4항에 있어서, 화학치료제인 뉴클레오시드 유사체 또는 이의 프로드럭을 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 41

제5항에 있어서, 화학치료제인 뉴클레오시드 유사체 또는 이의 프로드럭을 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 42

제6항에 있어서, 화학치료제인 뉴클레오시드 유사체 또는 이의 프로드럭을 포함하는 조성물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조합물.

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원 발명은 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난 분해 효소, 및 종양-표적 타산, 및 선택적으로 추가적인 화학 치료 제제, 예컨대 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 병용 치료를 제공한다. 상기 병용 치료는 암 및 특히 고형 종양암을 치료하는 방법에 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PH20은 암 및 특히 히알루로난-연관된 암 또는 종양을 포함하는 히알루로난-연관된 질환 또는 상태를 치료하는 방법에 사용된다. 히알루로난(히알루론 산; HA)은 포유류 내 결합 조직(connective tissue), 피부, 연골 및 윤활액(synovial fluid)에서 주로 존재하는 글리코사미노글리칸이다. 결합 조직에서, 히알루로난과 연관된 수화수(water of hydration)는 조직 사이에 수화된 기질들(matrices)을 만든다. HA는 많은 세포의 세포외 기질, 특히 연결합 조직(soft connective tissue)에서 발견된다. 특정 질환은 고형 종양을 포함하여 히알루로난의 발현 및/또는 생산과 연관되어 있다. 항-히알루로난 제제는 HA 합성 또는 분해를 조절하는 제제로써, 조직 또는 세포 내 HA 수준을 변경한다. 특히, 히알루로니다아제는 히알루로난을 분해하는 효소이다. HA의 분해를 촉진함으로써, 히알루로니다아제는 암 및 종양을 포함하여, HA 또는 다른 글리코사미노글리칸의 축적과 연관된 질환 또는 장애를 치료하는데 사용될 수 있다. 암, 특히 고형 종양 암의 치료를 위해, 증진 또는 변경된 치료법에 대한 요구가 있다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0003] **관련된 출원**
- [0004] 본 출원은 2012년 4월 4일 출원된, 발명의 명칭이 "폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 및 치료학적 제제를 이용한 병용 치료"인 미국 가출원번호 제61/686,429호 및 2012년 10월 16일 출원된, 발명의 명칭이 "항-히알루로난 제제 및 치료학적 제제를 이용한 병용 치료"인 미국 가출원번호 제61/714,719호의 우선권의 이익을 주장한다.
- [0005] 본 출원은 미국 가출원번호 제61/686,429호 및 미국 가출원번호 제61/714,719호의 우선권의 이익을 주장하는 발명의 명칭이 "항-히알루로난 제제 및 치료학적 제제를 이용한 병용 치료"이고 상기와 동일자에 출원된 미국 특허 출원 번호(번호사 도켓 번호 제33320.03108.US02호)와 관련되어 있다.
- [0006] 본 출원은 미국 공개공보 제 US20100003238호로 공개되고 미국 가출원 번호 제61/124,278호, 제61/130,357호 및 제61/195,624호의 우선권을 주장하는 2009년 4월 14일자로 출원된 발명의 명칭이 "변형된 히알루로니다아제 및 히알루로난-관련 질환 및 상태를 치료하는 용도"인 미국 특허 출원번호 제12/386,222호와 관련되어 있다. 본 출원은 W02009/128917로 공개되고 또한 미국 가출원 번호 제61/124,278호, 제61/130,357호 및 제61/195,624호의 우선권을 주장하는 2009년 4월 14일에 출원된 국제 PCT 출원번호 PCT/US2009/002352호와 또한 관련되어 있다.
- [0007] 본 출원은 미국 공개공보 제 US20120020951호로 공개되고 미국 가출원 번호 제61/399,993호 및 제61/455,260호의 우선권을 주장하는 2011년 7월 15일자로 출원된 발명의 명칭이 "항-히알루로난제의 투여와 관련된 유해 부작용 및 부작용을 개선 또는 예방하는 방법"인 미국 특허 출원번호 제13/135,817호와 관련되어 있다. 본 출원은 W02012/012300로 공개되고 또한 미국 가출원 번호 제61/399,993호 및 제61/455,260호의 우선권을 주장하는 2011년 7월 15일에 출원된 국제 PCT 출원번호 PCT/US2011/044281호와 또한 관련되어 있다.
- [0008] 상기 표시된 관련된 출원 각각의 주제는 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.
- [0009] **전자적으로 제공되는 서열 목록의 참조에 의한 통합**
- [0010] 서열 목록의 전자적 버전이 본원에서 함께 제출되며, 그 내용이 전체로서 본원에 참조로서 통합된다. 전자적 파일은 2013. 3.15. 자로 891 킬로바이트 크기, 3108seqPC1.txt의 제목으로 생성되었다.
- [0011] **요약**
- [0012] 본원 발명은 항-히알루로난 제제를 포함하는 조성물 및 종양-표적 타산을 포함하는 조성물을 포함하는 조합물을 제공한다. 또한, 본원 발명은 항-히알루로난 제제를 포함하는 조성물, 종양-표적 타산을 포함하는 조성물 및 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물을 포함하는 조합물을 제공한다. 본원 발명은 코르티코스테로이드를 포함하는 조성물을 더 포함할 수 있는 상기 임의의 조합물을 제공한다. 본원 발명은 항-히알루로난 제제를 포함하는 조성물 및 종양-표적 타산 제형을 포함하는 조성물이 투여되는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물의 투여를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 코르티코스테로이드의 투여를 더 포함한다. 또다른 실시예에서, 상기 방법은 암 치료의 수행(투여)을 더 포함한다. 이러한 조합물 및 방법에서, 상기 제제는 본원에서 기술된 치료학적 유효량으로 제공된다.
- [0013] 또한, 본원 발명은 병용 치료의 의약적 용도를 제공한다. 예를 들어, 본원 발명은 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산이 각각 또는 함께 제형화된 암을 치료하기 위한 항-히알루로난-제제 및 종양-표적 타산의 용도를 제공한다. 또한 본원 발명은 암을 치료하기 위한 항-히알루로난 제제의 용도를 제공하며, 여기서 상기 치료는 종양-표적 타산을 대상체에 대하여 동시에, 분리하여 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 또한 본원 발명은 암의 치료에 사용하기 위한 항-히알루로난 제제를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서 상기 치료는 종양-표적 타산을 대상체에 대하여 동시에, 분리하여 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 본원의 의약 용도의 실시예에서, 상기 치료는 또한 항-히알루로난 제제 또는 종양-표적 타산과 동시에, 분리하여 또는 순차적으로 뉴클레오시드 유사체를 대상체에 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 또는 추가적인 실시예에서, 상기 치료는 항-히알루로난 제제와 동시에, 분리하여 또는 순차적으로 코르티코스테로이드를 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0014] 상기 본원에서 제공되는 조합물, 조성물, 방법 및 용도에서, 상기 항-히알루로난 제제는 히알루로난 분해 효소 또는 히알루로난 합성을 억제하는 제제이다. 일부 실시예에서, 상기 항-히알루로난 제제는 히알루로니다아제인 히알루로난 분해 효소이다. 다른 실시예에서, 상기 항-히알루로난 제제는 폴리머에 대해 컨주게이션된 히알루로

난-분해 효소이다. 일부 실시예에서, 상기 항-히알루로난 제제는 HA 생성 효소(synthase)에 대한 센스 또는 안티센스 핵산 분자로부터 선택되거나 저분자 약물이다. 일부 실시예에서, 상기 항-히알루로난 제제는 4-메틸움벨리페론(MU) 또는 이의 유도체, 또는 레플루노마이드 또는 이의 유도체로부터 선택된 저분자 약물이다. 다른 실시예에서, 상기 항-히알루로난 제제는 6,7-디하이드록시-4-메틸 쿠마린 또는 5,7-디하이드록시-4-메틸 쿠마린으로부터 선택된 4-메틸움벨리페론(MU)의 유도체인 저분자 약물이다.

[0015] 본원 발명은 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물 및 종양-표적 타산을 포함하는 조성물을 포함하는 조합물을 제공한다. 또한 본원 발명은 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물, 종양-표적 타산을 포함하는 조성물 및 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물을 포함하는 조합물을 제공한다. 본원 발명은 코르티코스테로이드를 포함하는 조성물을 더 포함할 수 있는 상기 임의의 조합물을 제공한다. 본원 발명은 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물 및 종양-표적 타산 제형을 포함하는 조성물이 투여되는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물의 투여를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 코르티코스테로이드의 투여를 더 포함한다. 또다른 실시예에서, 상기 방법은 암 치료의 수행(투여)를 더 포함한다.

[0016] 본원 발명은 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물, 여기서 상기 히알루로난-분해 효소는 폴리머에 컨주게이션되며; 및 종양-표적 타산을 포함하는 조성물을 포함하는 조합물, 방법 및 용도를 제공한다. 상기 조합물의 일부 실시예에서, 상기 조성물은 직접 투여를 위해 제형화되고, 상기 히알루로난 분해 효소의 농도는 종양-연관된 히알루로난을 분해하기 충분하며, 및 상기 종양-표적 타산의 농도는 종양 내 전달을 성취하기 충분하다. 일부 실시예에서, 상기 종양-표적 타산 제형의 농도는 종양 내 타산 제형의 부재에서 뉴클레오시드 탈아미노산 효소의 수준 또는 활성과 대비하여 종양 내 뉴클레오시드 탈아미노 효소(deaminase) 단백질 수준 또는 단백질 활성을 감소시키기 충분하다. 상기 조합물의 일부 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산은 공-제형화된다. 상기 조합물의 다른 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산은 분리되어 제공된다.

[0017] 상기 임의의 실시예에서, 상기 제공되는 조합물은 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물을 더 포함한다. 특정 실시예에서, 상기 조성물은 직접 투여를 위하여 제형화되고 상기 뉴클레오시드 유사체의 농도는 종양 내 전달을 성취하기 충분하다. 상기 조합물의 일부 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산으로부터 분리되어 제공된다. 상기 조합물의 다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 상기 히알루로난 분해 효소와 함께 공제형화되거나 또는 상기 종양 표적 타산과 함께 공제형화된다. 상기 조합물의 또다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 상기 히알루로난 분해 효소 및 종양-표적 타산으로 공제형화된다.

[0018] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물, 종양-표적 타산을 포함하는 조성물 및/또는 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물은 다중 용량 투여(multiple dosage administration)를 위해 제형화된다. 본원에서 제공되는 상기 조합물의 다른 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물, 종양-표적 타산을 포함하는 조성물 및/또는 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물은 단일 용량 투여(single dosage administration)를 위해 제형화된다.

[0019] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 조성물은 약 0.5 µg 내지 50 mg, 100 µg 내지 1 mg, 1 mg 내지 20 mg, 100 µg 내지 5 mg, 0.5 µg 내지 1450 µg, 1 µg 내지 1000 µg, 5 µg 내지 1250 µg, 10 µg 내지 750 µg, 50 µg 내지 500 µg, 0.5 µg 내지 500 µg, 500 µg 내지 1450 µg의 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하거나 포함하도록 제형화된다. 본원에서 제공되는 상기 조합물의 다른 실시예에서, 상기 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소는 적어도 약 20,000 U/mg, 25,000 U/mg, 30,000 U/mg, 31,000 U/mg, 32,000 U/mg, 33,000 U/mg, 34,000 U/mg, 35,000 U/mg, 36,000 U/mg, 37,000 U/mg, 38,000 U/mg, 39,000 U/mg, 40,000 U/mg, 45,000 U/mg, 50,000 U/mg, 55,000 U/mg, 60,000 U/mg 또는 그 이상의 비활성(specific activity)을 가진다. 본원에서 제공되는 상기 조합물의 추가적인 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 조성물은 약 150 유닛(U) 내지 60,000U, 300 U 내지 30,000 U, 500 U 내지 25,000 U, 500 U 내지 10,000 U, 150 U 내지 15,000 U, 150 U 내지 5000 U, 500 U 내지 1000 U, 5000 U 내지 45,000 U 10,000 U 내지 50,000 U or 20,000 U 내지 60,000 U의 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함한다. 상기 히알루로난 분해 효소를 포함하는 상기 조성물의 부피는 약 0.5 mL 내지 100 mL, 0.5 mL 내지 50 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 40 mL, 1 mL 내지 20 mL, 1 mL 내지 10 mL, 또는 3 mL 내지 10 mL일 수 있다. 본원에서 제공되는 상기 조합물의 일부 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물은 히스티딘 및/또는 염화나트륨을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소

를 포함하는 조성물은 약 6.0 내지 7.4인 pH를 가진다.

[0020] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 히알루로니다아제이다. 예를 들어, 상기 히알루로니다아제는 PH20 또는 C-말단 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 부착 부위 또는 GPI 부착 부위의 부분이 결여된 이의 절단 형태일 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 히알루로니다아제는 인간 또는 비-인간 PH20인 PH20이다. 특정 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 절단된 PH20이고 상기 절단된 PH20은 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 적어도 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 히알루로니다아제는 적어도 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열에 대해 적어도 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함하는 PH20이다.

[0021] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 PH20은 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하거나; 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 85 %이상의 서열동일성을 보이며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 이의 변이체이다. 예를 들어, 상기 PH20은 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500 번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0022] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 파크리탁셀 또는 도세탁셀이거나 또는 이의 유사체, 유도체 또는 프로드러그이다. 상기 종양-표적 타산은 종양 표적 모이어티(moiety)에 대하여 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 마이셀, 나노파티클, 마이크로스피어, 리포솜 또는 하이드로젤 중 선택된 전달 비히클로 제형화된다. 상기 전달 비히클은 종양 표적 모이어티에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 고분자(macromolecule), 단백질, 펩티드, 단일클론 항체 또는 지방산 지질 중 선택된다. 다른 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 세톡시맵 또는 트라스투주맵 중 선택되는 단일 클론 항체이다. 또다른 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 알부민이다. 일부 실시예에서, 상기 종양 표적 타산은 알부민-결합 파크리탁셀 또는 알부민-결합 도세탁셀이다.

[0023] 본원 발명에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 종양-표적 타산 조성물은 약 10 mg 내지 1000 mg, 예컨대 20 mg 내지 500 mg, 10 mg 내지 250 mg, 75 mg 내지 400 mg, 100 mg 내지 200 mg, 150 mg 내지 400 mg, 200 mg 내지 800 mg, 50 mg 내지 200 mg 또는 50 mg 내지 150 mg의 종양-표적 타산을 포함하거나 포함하도록 제형화된다. 다른 실시예에서, 상기 종양 표적 타산을 포함하는 조성물의 부피는 약 0.5 mL 내지 100 mL, 1 mL 내지 500 mL, 0.5 mL 내지 50 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 40 mL, 1 mL 내지 20 mL, 1 mL 내지 10 mL 또는 3 mL 내지 10 mL이다.

[0024] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 퓨린 또는 피리미딘 유사체 또는 이들의 유도체이다. 일부 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 플루오로피리미딘 5-플루오로우라실(fluoropyrimidine 5-fluorouracil), 5-플루오로-2'-데옥시시티딘(5-fluoro-2'-deoxycytidine), 시타라빈(cytarabine), 겐시타빈(gemcitabine), 트로사시타빈(troxacitabine), 데시타빈(decitabine), 아자시티딘(Azacitidine), 슈도이소시티딘(pseudoisocytidine), 제부라린(Zebularine), 안시타빈(Ancitabine), 파자라빈(Fazarabine), 6-아자시티딘(6-azacytidine), 카페시타빈(capecitabine), N⁴-옥타데실-시타라빈(N⁴-octadecyl cytarabine), 엘라이드산 시타라빈(elaidic acid cytarabine), 플루다라빈(fludarabine), 클라드리빈(cladribine), 클로파라빈(clofarabine), 넬라라빈(nelarabine), 포로데신(forodesine), 및 펜토스타틴(pentostatin) 또는 이들의 유도체 중 선택된다. 일 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 아데노신 탈아미노 효소 또는 시티딘 탈아미노 효소인 뉴클레오시드 탈아미노 효소에 대한 기질이다. 일부 실시예에서, 상기 뉴클

레오시드 유사체는 플루다라빈, 시타라빈, 젬시타빈, 데시타빈 및 아자시티딘 또는 이들의 유도체 중에서 선택된다.

[0025] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체 조성물은 100 mg 내지 5000 mg, 500 mg 내지 5000 mg, 500 mg 내지 2500 mg, 1000 mg 내지 2500 mg, 1500 mg 내지 2500 mg 또는 2000 mg 내지 5000 mg의 뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 포함하도록 제형화된다. 다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물의 부피는 약 0.5 mL 내지 1000 mL, 예컨대 0.5 mL 내지 100 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 500 mL, 1 mL 내지 10 mL이다.

[0026] 본원에서 제공되는 임의의 상기 조합물, 방법 및 용도는 코르티코스테로이드를 포함하는 조성물을 더 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 코르티손(cortisones), 텍사메타손(dexamethasones), 하이드로코르티손(hydrocortisones), 메틸프레드니솔론(methylprednisolones), 프레드니솔론(prednisolones) 및 프레드니손(prednisones)으로부터 선택된 글루코코르티코이드이다. 일부 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드 조성물은 약 0.1 내지 20 mgs, 0.1 내지 15 mgs, 0.1 내지 10 mgs, 0.1 내지 5 mgs, 0.2 내지 20 mgs, 0.2 내지 15 mgs, 0.2 내지 10 mgs, 0.2 내지 5 mgs, 0.4 내지 20 mgs, 0.4 내지 15 mgs, 0.4 내지 10 mgs, 0.4 내지 5 mgs, 0.4 내지 4 mgs, 1 내지 20 mgs, 1 내지 15 mgs 또는 1 내지 10 mgs의 코르티코스테로이드를 포함하거나 포함하도록 제형화된다.

[0027] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 조성물(들)은 경구, 정맥(IV), 피하, 근육 내, 종양 내, 피내, 국소, 경피, 직장, 경막내 또는 표피 하로 투여하기 위해 제형화된다. 예를 들어, 상기 조성물(들)은 정맥 투여 또는 피하 투여를 위해 제형화된다.

[0028] 본원에서 제공되는 상기 조합물, 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 폴리머는 폴리알킬렌 글리콜, 텍스트란, 폴루란 또는 셀룰로오스이다. 일 실시예에서, 상기 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 메톡시폴리에틸렌 글리콜(mPEG)로부터 선택되는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 실시예에서, 상기 폴리머는 PEG이고, 상기 PEG는 분쇄 또는 직쇄 PEG이다. 일부 실시예에서, 상기 폴리머는 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트(mPEG-SBA) (5 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트 (mPEG-SBA) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트 (mPEG-SBA) (30 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 α-메틸부타노에이트 (mPEG-SMB) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 α-메틸부타노에이트 (mPEG-SMB) (30 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-부티르알데히드 (mPEG-부티르알데히드) (30 kDa), 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 프로피오네이트 (mPEG-SPA) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 프로피오네이트 (mPEG-SPA) (30 kDa); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (10 kDa 분쇄); (메톡시 폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (20 kDa 분쇄); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (40 kDa 분쇄); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (60 kDa 분쇄); 비오틴-폴리(에틸렌 글리콜)-N-하이드록시숙신이미드 에스테르(비오틴-PEG-NHS) (5 kDa 비오틴화); 폴리(에틸렌 글리콜)-p-니트로페닐 카르보네이트 (PEG-p-니트로페닐-카르보네이트) (30 kDa); 또는 폴리(에틸렌 글리콜)-프로피온알데히드 (PEG-프로피온알데히드) (30 kDa)로 반응에 의해 생산된다. 특정 실시예에서, 상기 폴리머는 약 30 킬로달톤(kilodalton)의 분자량을 가지는 PEG이다.

[0029] 본원에서 제공되는 임의의 상기 조합물은 키트로 패키징(package)되고 선택적으로 사용을 위한 지침서를 포함할 수 있다.

[0030] 또한, 본원 발명은 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물이 투여되며, 여기서 상기 히알루로난-분해 효소는 폴리머에 컨주게이션되며, 및 종양-표적 타산 제형을 포함하는 조성물이 투여되는, 암을 치료하는 방법 및 용도가 제공된다. 상기 방법의 임의의 실시예에서, 뉴클레오시드 유사체를 포함하는 조성물은 또한 투여된다.

[0031] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 암은 종양이다. 일 실시예에서, 상기 종양은 고형 종양이다. 본원의 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 종양은 같은 조직 타입의 비-암화 조직과 대비하거나 같은 종양 타입의 비-전이 종양과 대비하여, 히알루로난의 증가된 세포 및/또는 기질 발현을 가진다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 암은 췌장암, 난소암, 폐암, 대장암, 전립선암, 자궁 경부암, 두경부암 및 유방암으로부터 선택된다. 특정 실시예에서, 상기 암은 췌장암이다.

[0032] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 히알루로니다아제

이다. 예를 들어, 상기 히알루로니다아제는 PH20 또는 C-말단 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 부착 부위 또는 GPI 부착 부위의 부분이 결여된 이의 절단 형태이다. 특정 실시예에서, 상기 히알루로니다아제는 인간 또는 비-인간 PH20인 PH20이다. 특정 실시예에서, 상기 히알루로니다아제는 절단된 PH20이고 상기 절단된 PH20은 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 적어도 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 PH20은 적어도 서열번호 1의 아미노산 36-464를 포함하는 아미노산 서열에 대해 적어도 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 PH20은 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하거나; 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 85 %이상의 서열동일성을 보이며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 이의 변이체이다. 또다른 실시예에서, 상기 PH20은 서열번호 1로 기재되는 아미노산 서열의 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 또는 500 번째 아미노산 위치 뒤에 C-말단 절단을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열동일성을 가지며 히알루로니다아제 활성을 유지하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0033] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 폴리머는 폴리알킬렌 글리콜, 텍스트란, 폴루란 또는 셀룰로오스이다. 일실시예에서, 상기 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 또는 메톡시폴리에틸렌 글리콜(mPEG)로부터 선택되는 폴리알킬렌 글리콜이다. 특정 실시예에서, 상기 폴리머는 PEG이고, 상기 PEG는 분쇄 또는 직쇄 PEG이다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 폴리머는 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트 (mPEG-SBA) (5 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트 (mPEG-SBA) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 부타노에이트 (mPEG-SBA) (30 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 α-메틸부타노에이트 (mPEG-SMB) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 α-메틸부타노에이트 (mPEG-SMB) (30 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-부티르알데히드 (mPEG-부티르알데히드) (30 kDa), 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 프로피오네이트 (mPEG-SPA) (20 kDa); 메톡시-폴리(에틸렌 글리콜)-숙신이미딜 프로피오네이트 (mPEG-SPA) (30 kDa); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (10 kDa 분쇄); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (20 kDa 분쇄); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (40 kDa 분쇄); (메톡시-폴리(에틸렌 글리콜))₂-N-하이드록시숙신이미드 에스테르 (mPEG₂-NHS) (60 kDa 분쇄); 비오틴-폴리(에틸렌 글리콜)-N-하이드록시숙신이미드 에스테르(비오틴-PEG-NHS) (5 kDa 비오틴화); 폴리(에틸렌 글리콜)-p-니트로페닐 카르보네이트 (PEG-p-니트로페닐-카르보네이트) (30 kDa); 또는 폴리(에틸렌 글리콜)-프로피온알데히드 (PEG-프로피온알데히드) (30 kDa)로 반응에 의해 생산된다. 특정 실시예에서, 상기 폴리머는 약 30 킬로달톤(kilodalton)의 분자량을 가지는 PEG이다.

[0034] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로니다아제 효소는 약 (대상체의) 0.01 μg/kg 내지 25 mg/kg, 0.5 μg/kg 내지 25 mg/kg, 0.5 μg/kg 내지 10 mg/kg, 0.02 mg/kg 내지 1.5 mg/kg, 0.01 μg/kg 내지 15 μg/kg, 0.05 μg/kg 내지 10 μg/kg, 0.75 μg/kg 내지 7.5 μg/kg 또는 (대상체의) 1.0 μg/kg 내지 3.0 μg/kg의 투여량 범위로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로니다아제 효소는 (대상체의) 1 Unit/kg 내지 800,000 Units/kg, 예컨대 10 내지 800,000 Units/kg, 10 내지 750,000 Units/kg, 10 내지 700,000 Units/kg, 10 내지 650,000 Units/kg, 10 내지 600,000 Units/kg, 10 내지 550,000 Units/kg, 10 내지 500,000 Units/kg, 10 내지 450,000 Units/kg, 10 내지 400,000 Units/kg, 10 내지 350,000 Units/kg, 10 내지 320,000 Units/kg, 10 내지 300,000 Units/kg, 10 내지 280,000 Units/kg, 10 내지 260,000 Units/kg, 10 내지 240,000 Units/kg, 10 내지 220,000 Units/kg, 10 내지 200,000 Units/kg, 10 내지 180,000 Units/kg, 10 내지 160,000 Units/kg, 10 내지 140,000 Units/kg, 10 내지 120,000 Units/kg, 10 내지 100,000 Units/kg, 10 내지 80,000 Units/kg, 10 내지 70,000 Units/kg, 10 내지 60,000 Units/kg, 10 내지 50,000 Units/kg, 10 내지 40,000 Units/kg, 10 내지 30,000 Units/kg, 10 내지 20,000 Units/kg, 10 내지 15,000 Units/kg, 10 내지 12,800

Units/kg, 10 내지 10,000 Units/kg, 10 내지 9,000 Units/kg, 10 내지 8,000 Units/kg, 10 내지 7,000 Units/kg, 10 내지 6,000 Units/kg, 10 내지 5,000 Units/kg, 10 내지 4,000 Units/kg, 10 내지 3,000 Units/kg, 10 내지 2,000 Units/kg, 10 내지 1,000 Units/kg, 10 내지 900 Units/kg, 10 내지 800 Units/kg, 10 내지 700 Units/kg, 10 내지 500 Units/kg, 10 내지 400 Units/kg, 10 내지 300 Units/kg, 10 내지 200 Units/kg, 10 내지 100 Units/kg, 16 내지 600,000 Units/kg, 16 내지 500,000 Units/kg, 16 내지 400,000 Units/kg, 16 내지 350,000 Units/kg, 16 내지 320,000 Units/kg, 16 내지 160,000 Units/kg, 16 내지 80,000 Units/kg, 16 내지 40,000 Units/kg, 16 내지 20,000 Units/kg, 16 내지 16,000 Units/kg, 16 내지 12,800 Units/kg, 16 내지 10,000 Units/kg, 16 내지 5,000 Units/kg, 16 내지 4,000 Units/kg, 16 내지 3,000 Units/kg, 16 내지 2,000 Units/kg, 16 내지 1,000 Units/kg, 16 내지 900 Units/kg, 16 내지 800 Units/kg, 16 내지 700 Units/kg, 16 내지 500 Units/kg, 16 내지 400 Units/kg, 16 내지 300 Units/kg, 16 내지 200 Units/kg, 16 내지 100 Units/kg, 160 내지 12,800 Units/kg, 160 내지 8,000 Units/kg, 160 내지 6,000 Units/kg, 160 내지 4,000 Units/kg, 160 내지 2,000 Units/kg, 160 내지 1,000 Units/kg, 160 내지 500 Units/kg, 500 내지 5000 Units/kg, 1000 내지 100,000 Units/kg 또는 (대상체의) 1000 내지 10,000 Units/kg의 투여량 범위로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다.

[0035] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 파크리탁셀 또는 도세탁셀이거나, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 프로드러그이다. 상기 종양-표적 타산은 종양 표적 모이어티(moiety)에 대하여 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 마이셀, 나노파티클, 마이크로스피어, 리포솜 또는 하이드로겔 중 선택된 전달 비히클로 제형화된다. 상기 전달 비히클은 종양 표적 모이어티에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 고분자(macromolecule), 단백질, 펩티드, 단일클론 항체 또는 지방산 지질 중 선택된다. 다른 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 세톡시맵 또는 트라스투주맵 중 선택되는 단일 클론 항체이다. 또다른 실시예에서, 상기 종양 표적 모이어티는 알부민이다. 특정 실시예에서, 상기 종양 표적 타산은 알부민-결합 파크리탁셀 또는 알부민-결합 도세탁셀이다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 약 1 mg/m^2 내지 1000 mg/m^2 (대상체의 체표면적), 10 mg/m^2 내지 500 mg/m^2 , 50 mg/m^2 내지 400 mg/m^2 , 또는 25 mg/m^2 내지 300 mg/m^2 의 투여량 범위로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다.

[0036] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 퓨린 또는 피리미딘 유사체 또는 이들의 유도체이다. 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 플루오로피리미딘 5-플루오로우라실, 5-플루오로-2'-데옥시시티딘, 시타라빈, 켄시타빈, 트로사시타빈, 데시타빈, 아자시티딘, 슈도이소시티딘(pseudoisocytidine), 제부라린, 안시타빈, 파자라빈, 6-아자시티딘, 카페시타빈, N^4 -옥타데실-시타라빈, 엘라이드산 시타라빈, 플루다라빈, 클라드리빈, 클로파라빈, 벨아라빈, 포로데신 및 펜토스타틴, 또는 이들의 유도체 중 선택된다. 특정 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 뉴클레오시드 탈아미노 효소에 대한 기질이며 상기 뉴클레오시드 탈아미노 효소는 아데노신 탈아미노 효소 또는 시티딘 탈아미노 효소이다. 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 플루다라빈, 시타라빈, 켄시타빈, 데시타빈 및 아자시티딘 또는 이들의 유도체 중에서 선택된다. 또다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 켄시타빈 또는 이의 유도체이다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 약 100 mg/m^2 내지 2500 mg/m^2 , 500 mg/m^2 내지 2000 mg/m^2 , 750 mg/m^2 내지 1500 mg/m^2 , 1000 mg/m^2 내지 1500 mg/m^2 또는 500 mg/m^2 내지 1500 mg/m^2 인 투여량으로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 적어도 약 200 mg/m^2 또는 500 mg/m^2 이지만 1000 mg/m^2 또는 1250 mg/m^2 이하인 양으로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다.

[0037] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 조성물(들)은 경구, 정맥(IV), 피하, 근육내, 종양 내, 피내, 국소, 경피, 직장, 경막내 또는 표피 하로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다. 특정 실시예에서, 상기 조성물(들)은 정맥 또는 피하로 투여된다. 본원의 임의의 상기 방법 또는 용도에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 상기 종양-표적 타산보다 전에, 동시 또는 거의 동시에, 순차적으로 또는 간헐적으로 투여되거나 사용된다.

[0038] 본원에서 제공되는 상기 방법의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 종양-표적 타산의 투여 전에 투여된다. 일실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 적어도 약 종양-표적 타산의 투여 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30

시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 전에 투여된다. 본원에서 제공되는 상기 방법의 또다른 실시예에서, 상기-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산은 동시 또는 거의 동시에 투여된다.

[0039] 본원에서 제공되는 방법의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난 분해 효소의 투여 빈도는 매주2회, 매주1회, 매 14일에 1회, 매21일에 1회 또는 매달 1회이다. 다른 실시예에서, 상기 종양-표적 타산의 투여 빈도는 매주2회, 매주1회, 매14일에 1회, 매21일에 1회 또는 매달 1회이다. 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 및/또는 종양-표적 타산은 뉴클레오시드 유사체보다 전에, 동시 또는 거의 동시에, 순차적으로 또는 간헐적으로 투여되거나 투여를 위해 제형화된다.

[0040] 본원에서 제공되는 상기 방법 또는 용도의 임의의 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산은 투여 주기 내 미리 결정된 수주 동안 투여된다. 일실시예에서, 상기 미리 결정된 수주는 적어도 2주, 적어도 3주 또는 적어도 4주일 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소는 적어도 약 뉴클레오시드 유사체의 투여 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 전에 투여된다. 일부 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 적어도 약 뉴클레오시드 유사체의 투여 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간 또는 24 시간 전에 투여된다. 특정 실시예에서, 상기 종양-표적 타산은 뉴클레오시드 유사체와 동시 또는 거의 동시에 투여된다. 상기 제공되는 방법에서, 상기 뉴클레오시드 유사체의 투여 빈도는 매주 2회, 매주 1회, 매14일에 1회, 매21일에 1회 또는 매달 1회일 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 투여 주기 내 미리 결정된 수주 동안 투여된다. 예를 들어, 상기 미리 결정된 수주는 적어도 2주, 적어도 3주 또는 적어도 4주일 수 있다. 본원에서 제공되는 상기 방법의 또다른 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체의 미리 결정된 수주 투여 후에, 투여는 첫 번째 미리 결정된 기간에 대해 중단되며, 그리고 나서 적어도 일주일동안 재개된다.

[0041] 본원에서 제공되는 방법 또는 용도의 특정 실시예에서, 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산은 뉴클레오시드 유사체의 투여 전에 투여되고; 동시 또는 거의 동시에 투여되고; 및 미리 결정된 수주 동안 매주2회 또는 매주1회의 투여 빈도로 투여된다. 일부 실시예에서, 상기 미리 결정된 수주는 4주이다. 이러한 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 적어도 약 상기 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 타산의 투여 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 후에 투여된다.

[0042] 본원에서 제공되는 상기 방법 및 용도의 임의의 실시예에서, 상기 뉴클레오시드 유사체는 미리 결정된 수주 동안 매주1회 투여된다. 일실시예에서, 상기 미리 결정된 수주는 3주이다. 이러한 실시예에서, 상기 투여는 적어도 일주일 동안 중단될 수 있다.

[0043] 본원에서 제공되는 임의의 상기 방법 또는 용도에서, 상기 투여의 주기 및/또는 투여의 중단은 복수 회 반복될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 투여의 첫번째 주기 내 투여 빈도는 투여의 차후 주기 내 투여와 같거나 다르다. 예를 들어, 투여 빈도는 첫 번째 투여 주기 내 매주 2회 및 차후 투여 주기 내 매주 1회이다.

[0044] 본원에서 제공되는 임의의 상기 방법 또는 용도는 코르티코스테로이드의 투여하는 단계를 더 포함할 수 있거나 코르티코스테로이드를 투여하는 것을 포함하는 치료를 더 포함할 수 있다. 이러한 임의의 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 코르티손, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론 및 프레드니손으로부터 선택될 수 있는 글루코코르티코이드이다. 상기 방법의 일부 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소의 투여 전에, 동시에, 간헐적으로 또는 이후에 투여된다. 일실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소와 함께 공-투여된다. 또다른 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 적어도 약 히알루로난-분해 효소의 투여 1시간 전에 투여된다. 상기 제공되는 방법의 또다른 실시예에서, 상기 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소의 투여 후 적어도 8 시간 내지 12 시간에 투여된다. 일부 실시예에서, 투여되거나 투여를 위해 제형화되는 코르티코스테로이드의 양은 0.1 내지 20 mgs, 0.1 내지 15 mgs, 0.1 내지 10 mgs, 0.1 내지 5 mgs, 0.2 내지 20 mgs, 0.2 내지 15 mgs, 0.2 내지 10 mgs, 0.2 내지 5 mgs, 0.4 내지 20 mgs, 0.4 내지 15 mgs, 0.4 내지 10 mgs, 0.4 내지 5 mgs, 0.4 내지 4 mgs, 1 내지 20 mgs, 1 내지 15 mgs 또는 1 내지 10 mgs이다. 상기 코르티코스테로이드는 경구로 투여될 수 있다.

[0045] 본원에서 제공되는 임의의 상기 방법 또는 용도는 암 치료의 수행(투여)을 더 포함할 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 암 치료는 수술, 방사선, 화학 치료 제제, 생물학 제제, 폴리펩티드, 항체, 펩티드, 저분자, 유전자 치료 벡터, 바이러스 및 DNA 중으로부터 선택된다. 본원에서 제공되는 임의의 상기 방법은 인간인 대상체를 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0046] 또한 본원 발명은 암을 치료하기 위해 사용될 수 있는 본원에서 제공되는 상기 조성물의 조합물의 용도를 제공한다. 본원에서 제공되는 임의의 상기 조성물의 조합물은 암을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시예에서, 상기 암은 종양이다. 예를 들어, 상기 암은 고형 종양이다. 일부 실시예에서, 상기 종양은 같은 조직 타입의 비-암화 조직과 대비하거나 같은 종양 타입의 비-전이 종양과 대비하여, 히알루로난의 증가된 세포 및/또는 기질 발현을 가진다. 일부 실시예에서, 상기 암은 췌장암, 난소암, 폐암, 대장암, 전립선암, 자궁 경부암, 두경부암 및 유방암으로부터 선택된다. 특정 실시예에서, 상기 암은 췌장암이다. 또한 본원 발명은 폴리머에 컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 및 뉴클레오시드 유사체의 종양 내 활성을 증가시키기 위한 종양-표적 단백질을 포함하는 조성물을 포함하는 조합물의 용도를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 마우스 BxPC-3 PDA 종양 이종이식 모델에서 종양 성장에 대한 PEGPH20 (P) 및/또는 납-파크리타셀 (NAB, N)의 효과를 보여준다.

도 2는 마우스 BxPC-3 PDA 종양 이종이식 모델에서 종양 성장에 대한 다양한 농도의 젬시타빈(GEM)을 투여한 효과를 보여준다.

도 3은 마우스 BxPC-3 PDA 종양 이종이식 모델에서 종양 성장에 대한 PEGPH20 (P), 젬시타빈(GEM, G) 및/또는 납-파크리타셀 (NAB, N)의 효과를 보여준다.

도 4는 마우스 BxPC-3 PDA 종양 이종이식 모델에서 PEGPH20 (P), 젬시타빈(GEM, G) 및/또는 납-파크리타셀 (NAB, N)로 처리된 마우스의 평균 생존 기간을 보여준다.

도 5는 마우스 BxPC-3 PDA 종양 이종이식 모델에서 PEGPH20 (P), 젬시타빈(GEM, G) 및/또는 납-파크리타셀 (NAB, N)로 처리된 마우스의 혈청으로부터 CA19-9 (도 5A) 및 CEA 마커 (도 5B)의 수준을 보여준다.

도 6은 이종 이식 모델에서 PEGPH20 및 알부민-컨주게이션된 파크리타셀 (Ab-pac)의 종양 성장 억제를 보여준다. 도 6A는 MDA-MB-468/HAS3 종양 모델에서 비히클, 알부민에 컨주게이션된 파크리타셀(Ab-pac), PEGPH20, 또는 Ab-pac 및 PEGPH20으로 처리된 마우스에서 종양 성장 억제를 보여준다. 도 6B는 MDA-MB-468/HAS3 종양 모델에서 비히클, 알부민에 컨주게이션된 파크리타셀(Ab-pac) 1 mg/kg, Ab-pac 3 mg/kg, Ab-pac 1 mg/kg 및 PEGPH20, 또는 Ab-pac 10 mg/kg로 처리된 마우스에서 종양 성장 억제를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 개요

[0049] A. 정의

[0050] B. 항-히알루로난 제제 병용 치료

[0051] 1. 고형 종양 및 종양 표적 치료

[0052] a. 종양-표적 타산 (Taxane)

[0053] b. 항-히알루로난 제제

[0054] 2. 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산 병용 치료

[0055] C. 병용 치료 제제

[0056] 1. 항-히알루로난 제제

[0057] a. 히알루로난 합성을 억제하는 제제

[0058] b. 히알루로난-분해 효소 및 폴리머-컨주게이션된(polymer-conjugated) 히알루로난-분해 효소

[0059] i. 히알루로니다아제

[0060] (a) 포유류 타입 히알루로니다아제

[0061] PH20

[0062] (b) 박테리아 히알루로니다아제

- [0063] (c) 거머리류, 기타 기생충 및 갑각류 유래 히알루로니다아제
- [0064] ii. 기타 히알루로난 분해 효소
- [0065] iii. 가용성 히알루로난 분해 효소
- [0066] (a) 가용성 인간 PH20
- [0067] (b) rHuPH20
- [0068] iv. 히알루로난 분해 효소의 글리코실화
- [0069] v. 변형된 (폴리머-컨주게이션된) 히알루로난 분해 효소
- [0070] PGE화 가용성 히알루로난 분해 효소
- [0071] 2. 타산 및 이의 제형
- [0072] a. 타산
- [0073] b. 종양- 또는 기질- 표적 타산
- [0074] 알부민-결합 타산 (Albumin-Bound Taxane)
- [0075] 3. 추가 화학 치료 제제(Chemotherapeutic agent) {예: 뉴클레오시드 유사체(Nucleoside analog)}
- [0076] 뉴클레오시드 유사체의 예시
- [0077] i. 겐시타빈 (Gemcitabine)
- [0078] ii. 시타라빈 (Cytarabine)
- [0079] iii. 데시타빈 (Decitabine)
- [0080] iv. 아자시티딘(Azacitidine)
- [0081] D. 히알루로난 분해 효소의 핵산 및 암호화 폴리펩티드를 생산하는 방법
- [0082] 1. 벡터 및 세포
- [0083] 2. 발현
- [0084] a. 원핵세포
- [0085] b. 효모 세포
- [0086] c. 곤충 세포
- [0087] d. 포유류 세포
- [0088] e. 식물
- [0089] 3. 정제 기술
- [0090] 4. 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드의 PEG화
- [0091] E. 약제학적 조성물 및 제형
- [0092] 1. 제형
- [0093] a. 주사제, 용액 및 에멀전
- [0094] b. 동결 건조된 분말 (Lyophilized powder)
- [0095] c. 국소 투여 (Topical administration)
- [0096] d. 투여의 기타 경로를 위한 조성물
- [0097] 2. 배합량 (Formulation amounts)
- [0098] 3. 포장 (Packaging) 및 제조품 (Articles of Manufacture)

[0099] F. 활성, 생체 이용률(bioavailability) 및 약동학(pharmacokinetics)의 평가 방법

[0100] 1. 시험관 내 (In vitro) 검정

[0101] a. 히알루로난 분해 효소의 히알루로니다아제 활성

[0102] b. 탁산 활성

[0103] c. 항암 활성

[0104] 2. 생체 내 (In vivo) 동물 모델

[0105] 3. 약동학 및 내약성(Tolerability)

[0106] G. 병용 치료의 방법 및 용도

[0107] 1. 암

[0108] 치료를 위한 대상체의 선택

[0109] 2. 투여량 및 투여

[0110] 3. 투여 용법: 투여의 빈도 및 주기

[0111] 4. 추가 병용 치료

[0112] a. 코르티코스테로이드 (Corticosteroid)

[0113] b. 항암 제제 및 기타 치료

[0114] H. 실시예

[0115] A. 정의

[0116] 달리 정의되지 않으면, 본원에 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명(들)이 속하는 당해 기술분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원의 전체 개시를 통해 언급되는 모든 특허, 특허출원, 공개된 출원 및 공보, 젠뱅크(Genbank) 서열, 데이터베이스, 웹사이트 및 다른 출판물은, 달리 알려진 바 없다면, 그 전체가 참조로써 삽입된다. 본원에서 용어들에 대한 복수의 정의가 존재하는 경우, 본 섹션의 것들이 우선한다. URL 또는 다른 이러한 식별자 또는 주소로 참조된 경우, 이러한 식별자는 바뀔 수 있으며, 인터넷 상의 특정 정보는 변화될 수 있으나, 동등한 정보가 인터넷을 검색하여 발견될 수 있다는 것이 이해된다. 여기의 참조는 상기 정보의 공중의 보급성 및 이용가능성을 증명한다.

[0117] 본원에서 사용된 바와 같이, "병용 치료"는 둘 또는 그 이상의 치료제, 예컨대 적어도 둘 또는 적어도 셋의 치료제가 단일 질환의 치료를 위해 주어질 때 대상체에서 치료를 지칭한다. 본원의 목적을 위해, 병용 치료는 폴리머-컨주게이션된 히알루로난 분해 효소 및 종양-표적 탁산으로의 치료 및 선택적으로 추가의 항암제 또는 화학치료제, 예컨대 뉴클레오사이드 유사체를 포함한다.

[0118] 본원에서 사용된 바와 같이, 탁산(taxane)은 미세소관(microtubule) 중합을 방해함으로 인해 세포 분열 및 유사 분열(mitosis)을 중지하여 세포 성장을 억제하는 세포분열저지성(antimitotic) 제제 또는 항미세소관(antimicrotubule) 제제의 패밀리를 지칭한다. 탁산은 주목(Taxus)속 (주목나무(yews))의 식물로부터 생산되는 자연적으로 생산되는 디테르펜(diterpene)을 포함한다. 탁산은 또한 세포분열저지성 또는 항미세소관 활성을 나타내는 합성적으로 생산된 탁산을 포함한다. 전형적으로, 탁산은 네 개의 고리(ring)(6원(member)의 A 고리 및 C 고리, 8원의 B 고리 및 4원의 D 고리)를 포함하는 공통적인 핵심(core) 구조를 공유한다. 탁산의 예는 파클리탁셀(paclitaxel), 탁산 또는 이의 유도체 또는 유사체이다.

[0119] 본원에서 사용된 바와 같이, 세포분열저지성 활성(antimitotic activity)은 유사분열을 억제하거나, 감소시키거나 방지함을 지칭한다. 상기 활성 때문에, 세포 성장이 억제되고, 감소되거나 방지된다. 예를 들어, 그 체제가 없을 때 세포 성장과 비교하여 세포 성장이 적어도 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 억제된다면 제제는 세포분열저지성 활성을 나타낸다.

[0120] 본원에서 사용된 바와 같이, 항미세소관 활성(antimicrotubule activity)은 예컨대 미세소관 중합을 낮추거나,

감소시키거나 또는 방지하는 미세소관을 방해하는 임의의 제제의 활성을 지칭한다. 따라서, 항미세소관 활성은 자연적으로 불안정하고 역동적인 탈중합(depolymerization) (단축) 및 중합(연장) 과정을 거치는 미세소관을 안정화하는 임의의 활성을 지칭할 수 있다. 예를 들어, 항미세소관 활성은 미세소관의 말단과 상호작용하여, 이에 따라 분해 또는 조립을 동결하거나 방지하는 제제, 예컨대 탁산에 의해 달성된다. 미세소관 중합을 평가하는 검정(assays)이 당해 기술분야에 공지되어 있고, 예시적인 검정이 본원에 기술된다. 그 제제가 없을 때 중합과 비교하여 미세소관 중합이 적어도 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 억제된다면 제제는 항미세소관 활성을 나타낸다.

[0121] 본원에서 사용된 바와 같이, "종양-표적 탁산"은 모이어티(moiety)에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되고, 종양 모이어티에 연결되지 않은 탁산과 비교하여 종양 표면상 하나 또는 그 이상의 분자와 증가된 특이성(specificity)을 나타내는 탁산을 지칭한다. 예를 들어, 상기 모이어티는 종양 표면상에 존재하는 분자, 예컨대 종양 표면상에 존재하는 당, 지질, 글리코사미노글리칸 또는 단백질과 상호작용하거나 결합하는 (예를 들어, 특이적 결합) 거대분자, 펩티드, 단백질, 항체 (예를 들어, 단일클론 항체) 또는 지질일 수 있다. 일반적으로, 종양 표면상에 존재하는 상기 분자는 비종양 조직 또는 정상 조직 또는 세포로부터 구별되거나 비정상적인 수준 또는 정도로 존재한다.

[0122] 본원에서 사용된 바와 같이, "종양내 전달을 달성하기 충분한"의 문구는 그 탁산이 비종양 세포보다 종양 세포에 증가된 또는 더 큰 표적화를 나타내고, 따라서 그 안에 증가된 또는 더 큰 세포내의 국소화를 나타냄을 의미한다. 종양내 전달을 평가하는 검정은 시험관 내(*in vitro*) 또는 생체 내(*in vivo*) 검정, 예컨대 결합 또는 세포내 국제성 검정을 포함할 수 있고, 이에 의해 약물, 예컨대 탁산의 결합된 또는 세포내 수준 또는 양이 정상 세포와 종양 세포 사이에서 비교된다. 상기 검정은, 방사면역측정법(radioimmunoassay) 또는 ELISA(예를 들어, 용해물(lysate)-기반 ELISA 및 적외선 ELISA; 또한 Svojanovsky 외 (1999) *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 20:549-555 참조)를 포함하는 면역학적 검정(immunoassay); 튜블린-기반 생물학적 검정(bioassay)(예를 들어, Suye 외 (1997) *Anal. Chem.*, 69:3633-3635 참조); 조직화학 또는 면역조직화학(Hong 외 (2007) *Mol. Cancer. Ther.*, 6: 3239); HPLC; 유동세포계수법(flow cytometry) 및 기타 방법을 포함하는 형광-기반 검정(fluorescent-based assay)(예를 들어, Sheikh 외 (2001) *Biosensors & Bio electronics*, 16:647-652 참조) 및 당해 기술분야의 당업자에게 공지된 기타 유사함 검정을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 상기 방법에 사용하기 위한 탁산에 대한 항체가 이용가능하다(예를 들어, Grothaus 외 (1995) *J Nat. Prod.*, 58:1003-14; Leu 외 (1993) *Cancer Res.*, 53:1388-1391; 카탈로그 번호 ab26953, Abcam 참조). 바이오센서 기술이 또한 사용될 수 있다(예를 들어, Braunhut 외 (2005) *Assay and Drug Dev. Tech.*, 3:77-88 참조). 검정은 또한 종양 크기 및 부피를 포함하는, 종양 성장 및 종양 세포 아포토시스(apoptosis)에 대한 효과를 포함하는, 세포 조직(cellular machinery)상에서 탁산의 활성이 평가되는 간접적 검정을 포함한다.

[0123] 본원에서 사용된 바와 같이, 항-히알루로난 제제는 히알루로난 (HA) 합성 또는 분해를 조절함으로써, 이에 따라 조직 또는 세포에서 히알루로난 수준을 변경시키는 임의의 제제를 지칭한다. 본원의 목적을 위해, 항-히알루로난제는 그 제제가 없을 때와 비교하여 조직 또는 세포에서 히알루로난 수준을 감소시킨다. 상기 제제는 HA 생성 효소(HA synthase, HAS) 및 히알루로난 대사에 관여하는 기타 효소 또는 수용체를 암호화하는 유전 물질의 발현을 조절하는 화합물, 또는 HAS 작용 또는 활성을 포함하는 히알루로난을 합성 또는 분해하는 단백질을 조절하는 화합물을 포함한다. 상기 제제는 소분자, 핵산, 펩티드, 단백질 또는 기타 화합물을 포함한다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제는, 안티센스 또는 센스 분자, 항체, 효소, 소분자 억제제 및 HAS 기질 유사체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0124] 본원에서 사용된 바와 같이, "컨주게이트(conjugate)"는 하나 또는 그 이상의 기타 폴리펩티드 또는 화학적 모이어티에 직접적 또는 간접적으로 연결된 폴리펩티드를 지칭한다. 상기 컨주게이트는 융합 단백질, 화학적 컨주게이트에 의해 생산되는 것 및 임의의 기타 방법에 의해 생산되는 것을 포함한다. 예를 들어, 컨주게이트는 하나 또는 그 이상의 기타 폴리펩티드 또는 화학적 모이어티에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 히알루로난-분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제 또는 가용성 PH20 폴리펩티드를 지칭하고, 이에 의해 적어도 하나의 가용성 PH20 폴리펩티드는 상기 컨주게이트가 히알루로니다아제 활성을 유지하는 한은 다른 하나의 폴리펩티드 또는 화학적 모이어티에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다.

[0125] 본원에서 사용된 바와 같이, "폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소"는 폴리머에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 히알루로난-분해 효소를 지칭한다. 상기 연결(linkage)은 이온 및 공유 결합, 및 임의의 다른 충분히 안정한 관련된 상호작용을 포함하나, 이에 제한되지 않는 임의의 타입일 수 있다. 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소에 대한 언급은 그 컨주게이트가 히알루로니다아제 활성을 나타냄을 의미한다. 전형적으로, 상

기 폴리머-컨주게이트는 폴리머에 컨주게이션 되지 않은 히알루로난-분해 효소와 비교하여 히알루로니다아제 활성의 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상을 나타낸다.

[0126] 본원에서 사용된 바와 같이, 히알루로난 분해 효소(hyaluronan degrading enzyme)는 히알루로난 폴리머(또한 히알루론산 또는 HA로 지칭됨)를 더 작은 분자량의 단편으로 절단하는 것을 촉매작용하는 효소를 지칭한다. 히알루로난 분해 효소의 예는 히알루로니다아제 및, 히알루로난을 탈중합(depolymerize)하는 능력을 가진 특정 콘드로이티나아제(chondroitinase) 및 리아제(lyase)이다. 히알루로난 분해효소인 예시적인 콘드로이티나아제는 콘드로이틴 ABC 리아제(또한 콘드로이티나아제 ABC로 공지됨), 콘드로이틴 AC 리아제(또한 콘드로이틴 술페이트 리아제 또는 콘드로이틴 술페이트 엘리미나아제(eliminase)로 공지됨) 및 콘드로이틴 C 리아제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 콘드로이틴 ABC 리아제는 두 개의 효소, 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제(endolyase) (EC 4.2.2.20) 및 콘드로이틴-술페이트-ABC 엑소리아제(exolyase) (EC 4.2.2.21)를 포함한다. 예시적인 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제 및 콘드로이틴-술페이트-ABC 엑소리아제는 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*) 및 플라보박테리움 헤파리넘(*Flavobacterium heparinum*) (프로테우스 불가리스 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제는 서열번호 98에 기재되어 있다; Sato 외 (1994) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41(1):39-46)에서 유래된 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 박테리아 유래 콘드로이티나아제 AC 효소는 서열번호 99에 기재된 플라보박테리움 헤파리넘(*Flavobacterium heparinum*), 서열번호 100에 기재된 빅티발리스 바덴시스(*Victivallis vadensis*), 및 아르쓰로박터 아우레스켄스(*Arthrobacter aureescens*) (Tkalec 외 (2000) *Applied and Environmental Microbiology* 66(1):29-35; Ernst 외 (1995) *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 30(5):387-444)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예시적인 박테리아 유래 콘드로이티나아제 C 효소는 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 및 플라보박테리움(*Flavobacterium*) (Hibi 외 (1989) *FEMS-Microbiol-Lett.* 48(2):121-4; Michelacci 외 (1976) *J. Biol. Chem.* 251:1154-8; Tsuda 외 (1999) *Eur. J. Biochem.* 262:127-133)에서 유래된 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0127] 본원에서 사용된 바와 같이, 히알루로니다아제는 히알루로난 분해 효소의 한 분류이다. 히알루로니다아제는 박테리아 히알루로니다아제(EC 4.2.2.1 또는 EC 4.2.99.1), 거머리, 기타 기생동물, 및 갑각류 유래 히알루로니다아제(EC 3.2.1.36), 및 포유류-형 히알루로니다아제(EC 3.2.1.35)를 포함한다. 히알루로니다아제는 쥐과(murine), 개, 고양이과, 토끼, 조류, 소, 양, 돼지, 말, 어류, 개구리(ranine), 박테리아, 및 거머리, 기타 기생동물 및 갑각류 유래의 임의의 것을 포함하나 이에 제한되지 않는, 비-인간 기원의 임의의 것을 포함한다. 예시적인 비인간 히알루로니다아제는 젓소 (서열번호 10, 11, 64 및 BH55(미국특허 제5,747,027호, 및 제5,827,721호), 말벌(서열번호 12 및 13), 꿀벌(서열번호 14), 흰얼굴 호박벌(서열번호 15), 폐이퍼 말벌(서열번호 16), 마우스(서열번호 17 내지 19, 32), 돼지(서열번호 20 내지 21), 랫트(서열번호 22 내지 24, 31), 토끼(서열번호 25), 양(서열번호 26, 27, 63 및 65), 침팬지(서열번호 101), 붉은털 원숭이(서열번호 102), 오랑우탄(서열번호 28), 사이노몰구스 원숭이(서열번호 29), 기니피그(서열번호 30), 아르쓰로박터속(*Arthrobacter sp.*) (균주 FB24)(서열번호 67), 브렐로비브리오 박테리오보러스(*Bdellovibrio bacteriovorus*)(서열번호 68), 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)(서열번호 69), 스트렙토코커스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*)(서열번호 70); 18RS21(서열번호 71); 혈청형 Ia(서열번호 72); 및 혈청형 III(서열번호 73), 스타피로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(균주 COL(서열번호 74); 균주 MRSA252(서열번호 75 및 76); 균주 MSSA476(서열번호 77); 균주 NCTC 8325(서열번호 78); 균주 소 RF122(서열번호 79 및 80); 및 균주 USA300(서열번호 81), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Staphylococcus pneumoniae*)(서열번호 82); 균주 ATCC BAA-255/R6(서열번호 83); 및 혈청형 2, 균주 D39/NCTC7466(서열번호 84), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)(혈청형 M1(서열번호 85); 혈청형 M2, 균주 MGAS10270(서열번호 86); 혈청형 M4, 균주 MGAS10750(서열번호 87); 혈청형 M6(서열번호 88); 혈청형 M12, 균주 MGAS2096(서열번호 89 및 90); 혈청형 M12, 균주 MGAS9429(서열번호 91); 및 혈청형 M28(서열번호 92), 스트렙토코커스 수이스(*Streptococcus suis*)(서열번호 93 내지 95); 비브리오 피셔리(*Vibrio fischeri*) (균주 ATCC 700601/ES114(서열번호 96))로부터 히알루로니다아제 및 히알루론산에 특이적이고 콘드로이틴 또는 콘드로이틴 술페이트를 절단하지 않는 스트렙토마이세스 히알루로니티쿠스(*Streptomyces hyaluronolyticus*) 히알루로니다아제 효소 (Ohya, T. 및 Kaneko, Y.(1970) *Biochim. Biophys. Acta* 198:607)를 포함한다. 히알루로니다아제는 또한 인간 기원의 것을 포함한다. 예시적인 인간 히알루로니다아제는 HYAL1 (서열번호 36), HYAL2 (서열번호 37), HYAL3 (서열번호 38), HYAL4 (서열번호 39), 및 PH20 (서열번호 1)을 포함한다. 또한, 히알루로니다아제 중에서 양 및 소 PH20, 가용성 인간 PH20 및 가용성 rHuPH20을 포함하는 가용성 히알루로니다아제가 있다. 시판되는 소 또는 양 가용성 히알루로니다아제로서는 비트라제®(Vitraser)(양 히알루로니다아제) 및 암파다제®(Amphadase)(소 히알루로니다아제) 및 히다제™(Hydase™)(소 히알루로니다아제)가 있다.

- [0128] 본원에서 사용되는 바와 같이 "정제된 소 고환 히알루로니다아제"는 소 고환 추출물로부터 정제된 소 히알루로니다아제를 지칭한다(미국 특허번호 제2,488,564호, 제2,488,565호, 제2,806,815호, 제2,808,362호, 제2,676,139호, 제2,795,529호, 제5,747,027호 및 제5,827,721호 참조). 시판되는 정제된 소 고환 히알루로니다아제의 예는 암파다제® 및 히다제™를 포함하고, Sigma Aldrich, Abnova, EMD Chemicals, GenWay Biotech, Inc., Raybiotech, Inc., 및 Calzyme 사에서 구입할 수 있는 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는 소 히알루로니다아제를 포함한다. 또한 제조합적으로 생산된 소 히알루로니다아제, 예컨대 서열번호 190 내지 192 중 어느 하나에 기재된 것이 포함되나 이에 제한되지 않는다.
- [0129] 본원에서 사용되는 바와 같이 "정제된 양 고환 히알루로니다아제"는 양 고환 추출물로부터 정제된 양 히알루로니다아제를 지칭한다(미국 특허번호 제2,488,564호, 제2,488,565호 및 제2,806,815호 및 국제 PCT 공개번호 W02005/118799호 참조). 시판되는 정제된 양 고환 추출물의 예는 비트라제® 및 Sigma Aldrich, Cell Sciences, EMD Chemicals, GenWay Biotech, Inc., Mybiosource.com 및 Raybiotech, Inc.로부터 이용가능한 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는 양 히알루로니다아제를 포함한다. 또한 제조합적으로 생산된 양 히알루로니다아제 예컨대 서열번호 66 및 193 내지 194 중 임의의 서열로 기재되는 핵산 분자의 발현으로 제조되는 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0130] 본원에서 사용된 바와 같이, "PH20"은 정자에서 발생하고 중성-활성을 가진 히알루로니다아제 타입을 지칭한다. PH20은 정자 표면 상, 및 리소좀에서 유래된 침체 내에 발생하는데, 여기서 이것은 침체 내막에 결합되어 있다. PH20은 인간, 침팬지, 사이노몰구스 원숭이, 붉은털 원숭이, 쥐, 소, 양, 기니피그, 토끼 및 랫트 기원을 포함하나, 이에 제한되지 않는 어느 하나의 기원의 것을 포함한다. 예시적인 PH20 폴리펩티드는 인간(서열번호 1), 침팬지(서열번호 101), 붉은털 원숭이(서열번호 102), 사이노몰구스 원숭이(서열번호 29), 젓소(예를 들어, 서열번호 11 및 64), 마우스(서열번호 32), 랫트(서열번호 31), 토끼(서열번호 25), 양(서열번호 27, 63, 및 65) 및 기니피그(서열번호 30)로부터 유래된 것을 포함한다.
- [0131] 히알루로난 분해효소에 대한 언급은 전구체 히알루로난 분해효소 폴리펩티드 및 성숙형 히알루로난 분해효소 폴리펩티드(예컨대 신호 서열이 제거된 것들), 활성을 가지는 이들의 말단절단된 형태를 포함하며, 서열번호 1 및 10 내지 48, 63 내지 65, 67 내지 102에 기재된 전구체 폴리펩티드 또는 이의 성숙형 형태에 대해 적어도 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 가지는 폴리펩티드를 포함하는, 대립형질 변이체 및 중 변이체, 스플라이스 변이체에 의해 암호화되는 변이체, 및 기타 변이체를 포함한다. 예를 들어, 히알루로난 분해효소에 대한 언급은 또한 서열번호 50 내지 51에 기재된 인간 PH20 전구체 폴리펩티드 변이체를 포함한다. 히알루로난 분해 효소는 또한 화학적 또는 번역후 변형을 포함하는 것들 및 화학적 또는 번역후 변형을 포함하지 않는 것들을 포함한다. 상기 변형은 PEG화(pegylation), 알부민화(albumination), 글리코실화(glycosylation), 파르네실화(farnesylation), 카복실화(carboxylation), 하이드록실화(hydroxylation), 인산화(phosphorylation) 및 기타 당해 기술분야에 공지된 폴리펩티드 변형을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 말단절단된 PH20 히알루로니다아제는 이의 임의의 C-말단 짧아진 형태, 특히 N-글리코실화되었을 때 말단절단되거나 중성 활성인 형태이다.
- [0132] 본원에서 사용되는 바와 같이, "가용성 PH20"은 생리적 상태하에서 가용성인 PH20의 임의의 형태를 지칭한다. 예를 들어, 가용성 PH20은 37℃에서 트리톤(Triton)® X-114 용액의 수상으로 분할(partition)됨으로써 확인될 수 있다(Bordier 외, (1981) *J. Biol. Chem.*, 256:1604-7). 막-앵커 고정된 PH20, 예컨대 GPI 앵커 고정된(anchored) PH20을 포함하는 지질-앵커 고정된 PH20은 계면활성제-풍부상으로 분할될 것이나, 포스포리파제-C 처리 이후에 계면활성제 부족상 또는 수상으로 분할될 것이다. 가용성 PH20 중에는 막에 PH20의 앵커링(anchoring)과 관련되는 하나 또는 그 이상의 영역이 제거되거나 변형된 막-앵커 고정되는 PH20이 포함되고, 여기서 가용성 형태는 히알루로니다아제 활성을 유지한다. 가용성 PH20은 또한 제조합 가용성 PH20 및 천연적 출처 예컨대 예를 들어, 양 또는 소의 고환 추출물로부터 포함되어 있는 또는 정제된 것을 포함한다. 상기 가용성 PH20의 예는 가용성 인간 PH20이다.
- [0133] 본원에서 사용되는 바와 같이, 가용성 인간 PH20 또는 sHuPH20은 발현시 C-말단에 글리코실포스파티딜이노시톨(GPI) 앵커 서열의 전부 또는 일부를 결여한 PH20 폴리펩티드를 포함하고, 상기 폴리펩티드는 생리적 상태하에서 가용성이다. 가용성(solubility)은 생리적 상태하에서 가용성을 나타내는지 보여줄 수 있는 임의의 적절한 방법에 의해 평가될 수 있다. 상기 방법의 예는 트리톤® X-114 검정인데, 이는 수상에서 분할 정도를 평가하는 것이며 상기 및 실시예에서 기술하고 있다. 또한, 가용성 인간 PH20 폴리펩티드는, CHO 세포 예컨대 CHO-S 세포로부터 생산된 것이라면, 발현되어 세포 배양 배지로 분비되는 폴리펩티드이다. 그러나 가용성 인간 PH20 폴리펩티드는 CHO 세포로부터 생산된 것에 제한되지 않으며, 제조합 발현 및 폴리펩티드 합성을 포함하는 임의의 방

법에 의해서 또는 임의의 세포에서 생산될 수 있다. CHO 세포로부터 분비에 대한 언급은 정의적인 (definitional) 것이다. 따라서, 폴리펩티드가 CHO 세포로부터 발현되고 분비될 수 있고 가용성이라면, 즉 트리톤® X-114에 의해 추출되었을 때 수상으로 분할되는 경우, 그것이 그렇게 생산되었든 아니든 가용성 PH20 폴리펩티드이다. sHuPH20 폴리펩티드에 대한 전구체 폴리펩티드는 신호 서열 예컨대, 이중성의 또는 비-이중성의(즉, 본래 상태) 신호 서열을 포함할 수 있다. 예시적인 전구체는 신호 서열 예컨대, 아미노산 위치 1 내지 35에 천연의 35 아미노산 신호 서열(예를 들어, 서열번호 1의 아미노산 1 내지 35 참조)을 포함하는 것이다.

[0134] 본원에서 사용되는 바와 같이, "연장된 가용성 PH20" 또는 "esPH20"은 GPI 앵커(anchor)-부착 신호 서열까지의 잔기 및 GPI-앵커 부착 신호 서열로부터 인접한 하나 또는 그 이상의 잔기를 포함하는 가용성 PH20 폴리펩티드를 포함하며, 상기 esPH20은 생리적 상태에서 가용성이다. 생리적 상태하에서의 가용성은 당해 기술분야의 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, 상기 및 실시예에서 기술된 트리톤(Triton)® X-114 검정에 의해 평가될 수 있다. 또한, 상기 논의한 바와 같이, 가용성 PH20은, CHO-S 세포와 같은 CHO 세포로부터 생산된다면, 발현되어 세포 배양 배지로 분비되는 폴리펩티드이다. 그러나, 가용성 인간 PH20 폴리펩티드는 CHO 세포로부터 생산되는 것에 제한되지 않으며, 임의의 세포에서 또는 재조합 발현 및 폴리펩티드 합성을 포함하는 임의의 방법에 의해서 생산될 수 있다. CHO 세포로부터 분비에 대한 언급은 정의적인 것이다. 따라서, CHO 세포로부터 발현되고 분비될 수 있는 폴리펩티드가 가용성이라면, 즉 트리톤® X-114에 의해 추출되었을 때 수상으로 분할된다면, 그것은 그렇게 생산되었든 아니든 가용성 PH20 폴리펩티드이다. 인간 가용성 esPH20 폴리펩티드는, 서열번호 1의 36 내지 490 잔기뿐 아니라, 서열번호 1의 아미노산 잔기 위치 491로부터 하나 또는 그 이상의 인접한 아미노산을 포함하는데, 이러한 생성된 폴리펩티드는 가용성이다. 예시적인 인간 esPH20 가용성 폴리펩티드는 서열번호 1의 아미노산 36 내지 491, 36 내지 492, 36 내지 493, 36 내지 494, 36 내지 495, 36 내지 496 및 36 내지 497에 상응하는 아미노산 잔기를 갖는 것이다. 상기 예는 서열번호 151 내지 154 및 185 내지 187 중 어느 하나에 기재되는 아미노산 서열을 갖는 것이다. 또한 대립형질 변이체 및 기타 변이체 예컨대 중성 활성을 유지하고 가용성인 서열번호 151 내지 154 및 서열번호 185 내지 187의 상응하는 폴리펩티드와 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 상동성을 가지는 어느 하나를 포함한다. 서열 동일성에 대한 언급은 아미노산 치환을 갖는 변이체를 지칭한다.

[0135] 본원에서 사용되는 바와 같이 "esPH20들"에 대한 언급은 전구체 esPH20 폴리펩티드 및 성숙형 esPH20 폴리펩티드(예컨대 신호 서열이 제거된 것), 효소 활성을 가지고(전장(full length) 형태의 적어도 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 또는 그 이상을 유지하는) 가용성인 이의 말단절단된 형태를 포함하고, 대립형질 변이체 및 중 변이체, 스플라이스 변이체에 의해 암호화되는 변이체, 및 서열번호 1 및 3으로 기재된 전구체 폴리펩티드와 적어도 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 가지는 폴리펩티드, 또는 이의 성숙형 형태를 포함하는 기타 변이체를 포함한다.

[0136] 본원에서 사용되는 바와 같이 "esPH20들"에 대한 언급은 또한 화학적 또는 번역후 변형을 포함하는 것들 및 화학적 또는 번역후 변형을 포함하지 않는 것을 포함한다. 상기 변형은 PEG화(PEGylation), 알부민화, 글리코실화, 파르네실화, 카복실화, 하이드록실화, 인산화, 및 기타 당해 기술분야에 공지된 폴리펩티드 변형을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0137] 본원에 사용된 바와 같이, "가용성 재조합 인간 PH20(rHuPH20)"은 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포로부터 재조합적으로 발현되고 분비되는 바와 같은 인간 PH20의 가용성 형태를 포함하는 조성물을 지칭한다. 가용성 rHuPH20은 신호 서열을 포함하고 서열번호 49에 기재된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 가용성 rHuPH20을 암호화하는 핵산은 성숙형 폴리펩티드를 분비하는 CHO 세포에서 발현된다. 배양 배지에서 생산되면, C-말단에는 이질성(heterogeneity)이 있게 되는데, 따라서 상기 산물은 서열번호 4 내지 9 중 하나 또는 그 이상을 다양하고 풍부하게 포함할 수 있는 종들의 혼합물을 포함한다.

[0138] 마찬가지로, PH20의 다른 형태, 예컨대 esPH20에 대하여, 재조합적으로 발현된 폴리펩티드 및 이의 조성물은 이질성을 보이는 C-말단이 있는 다수 종을 포함한다. 예를 들어, 아미노산 36 내지 497을 가지는 esPH20을 암호화하는, 서열번호 151의 폴리펩티드의 발현에 의해 생산된 재조합적으로 발현된 esPH20의 조성물은, 더 적은 수의 아미노산 예컨대 36 내지 496, 36 내지 495을 가지는 형태를 포함할 수 있다.

[0139] 본원에서 사용되는 바와 같이 "N-결합된(N-linked) 모이어티"는 폴리펩티드의 번역후 변형에 의해 글리코실화될 수 있는 폴리펩티드의 아스파라긴(N) 아미노산 잔기를 지칭한다. 인간 PH20의 예시적인 N-결합된 모이어티는 서

열번호 1에 기재되는 인간 PH20의 아미노산 N82, N166, N235, N254, N368 및 N393을 포함한다.

- [0140] 본원에서 사용되는 바와 같이, "N-글리코실화 폴리펩티드"는 적어도 3개의 N-결합된 아미노산 잔기, 예를 들어, 서열번호 1의 아미노산 잔기 N235, N368 및 N393에 상응하는 N-결합된 모이어티의 올리고당 연결(linkage)을 포함하는 PH20 폴리펩티드 또는 그것에 말단절단된 형태를 지칭한다. N-글리코실화 폴리펩티드는 N-결합된 모이어티의 3, 4, 5 및 최대 모두가 올리고당에 결합된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. N-결합된 올리고당은 올리고만노스, 복합, 혼성(hybrid) 또는 황산화 올리고당, 또는 기타 올리고당 및 당당류를 포함할 수 있다.
- [0141] 본원에서 사용되는 바와 같이, "N-부분적 글리코실화 폴리펩티드"는 적어도 3개의 N-결합된 모이어티에 결합된 N-아세틸글루코사민 글리칸을 최소한으로 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 부분적으로 글리코실화된 폴리펩티드는 당당류, 올리고당류, 및 EndoH, EndoF1, EndoF2 및/또는 EndoF3으로 폴리펩티드의 처리에 의해 형성된 것들을 포함하는 분지된 당 형태를 포함하는 다양한 글리칸 형태를 포함할 수 있다.
- [0142] 본원에서 사용되는 바와 같이, "탈글리코실화 PH20 폴리펩티드"는 모든 가능한 글리코실화 부위보다 적은 수가 글리코실화되어 있는 PH20 폴리펩티드를 지칭한다. 탈글리코실화는 예를 들어, 글리코실화를 제거함으로써, 글리코실화를 방지함으로써, 또는 글리코실화 부위를 제거하기 위해 폴리펩티드를 변형시킴으로써 이루어질 수 있다. 특정한 N-글리코실화 부위가 다른 부위와 달리 활성화에 꼭 필요한 것은 아니다.
- [0143] 본원에서 사용되는 바와 같이, "폴리머"는 반복되는 유닛으로 구성되는 임의의 고분자량 자연적 또는 합성 모이어티를 지칭한다. 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 텍스트란, 셀룰로스 및 시알산을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 및 기타 예시적인 폴리머가 본원에 기술되고, 많은 것이 당해 기술분야에 공지되어 있다. 본원의 목적을 위해, 상기 폴리머는 즉, 링커를 통해 폴리펩티드에 안정하게 직접적 또는 간접적으로 결합되어 컨주게이션될 수 있다. 상기 폴리머 컨주게이트는 전형적으로 혈청 반감기를 증가시키고, 시알산 모이어티, PEG화 모이어티, 텍스트란, 및 당 및 기타 모이어티들, 예컨대 글리코실화를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 히알루로니다아제, 예컨대 가용성 PH20 또는 rHuPH20은 폴리머에 컨주게이션될 수 있다.
- [0144] 본원에서 사용되는 바와 같이, "PEG화(PEGylated)"는 전형적으로 히알루로난 분해 효소의 반감기를 증가시키기 위해, 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제를 포함하는 단백질에 폴리머 분자, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜(PEG화 모이어티 PEG)의 공유결합 또는 기타 안정한 부착을 지칭한다.
- [0145] 본원에서 사용된 바와 같이, 항암제 또는 화학치료제는 빠르게 분열하는 세포, 예컨대 암세포를 살해할 수 있는 제제를 지칭한다. 당해 기술분야의 당업자는 화학치료제를 포함하는 항암제에 익숙하다. 예시적인 제제가 본원에 기술된다.
- [0146] 본원에서 사용된 바와 같이, 뉴클레오시드 유사체(analog) (또는 유사체(analogue))는 DNA 복제 동안에 핵산, 예컨대 퓨린 또는 피리미딘 뉴클레오시드의 빌딩 블록(building block)의 하나를 대체하거나 모방하는 제제를 지칭한다. 상기 과정은 추가적인 뉴클레오시드가 부착할 수 없기 때문에 종양 성장을 저지할 수 있다. 뉴클레오시드 유사체의 예는 데옥시시티딘(deoxycytidine) 유사체인 겐시타빈(gemcitabine)이고 겐시타빈은 대사 활성화 시 뉴클레오시드 시티딘을 모방하거나 대체하여 DNA로 삽입되어 DNA 합성을 경쟁적으로 억제하는 트리포스페이트(triphosphate)를 형성한다.
- [0147] 본원에서 사용된 바와 같이, 뉴클레오시드 탈아미노산 효소(deaminase)는 뉴클레오시드의 탈아미노화를 가져오는 효소이다. 예를 들어, 시티딘 탈아미노 효소(cytidine deaminase)(CDA)는 시티딘과 데옥시시티딘을 각각 유리딘과 데옥시유리딘으로 탈아미노화한다. 아데노신 탈아미노 효소(adenosine deaminase)(ADA)는 아미노 그룹의 하이드록시 그룹으로 치환에 의해 아데노신을 탈아미노화하여, 그것을 관련된 뉴클레오시드 이노신으로 전환시킨다.
- [0148] 본원에서 사용된 바와 같이, 뉴클레오시드 탈아미노산 효소의 기질은 불활성 대사물질로 탈아민화될 수 있는 분자이고, 따라서 뉴클레오시드 탈아미노산 효소의 존재에서 불활성화된다. 탈아미노화를 평가하는 검정(assay)이 당해 기술분야의 당업자에게 공지되어 있고, 대사물질 및 탈아미노 대사물질에 대한 질량 분석계 또는 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 탈아미노화 검정 예컨대 초과광 우라실-DNA 글리코실라아제(glycosylase)를 사용하는 UDG-기반 탈아미노산 효소 검정(예를 들어, Morgan 외 (2004) *J. Biol. Chem.*, 279:52353-52360 참조) 또는 뉴클레오시드 탈아미노산 효소를 발현하는 것으로 알려진 세포에서 세포독성을 평가함에 의한 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0149] 본원에서 사용된 바와 같이, 문구 "뉴클레오시드 탈아미노산 효소 단백질 수준 또는 단백질 활성을 감소시키기 위해 충분한"은 뉴클레오시드 탈아미노산 효소의 활성을 억제하기 위해 요구되는 탁산의 양을 지칭한다. 예를 들

어, 상기 억제제는 상기 기술한 바와 같이 탈아미노화를 위한 검정을 사용하여 탈아미노산 효소 (예를 들어, 시티딘 탈아미노 효소의 탈아미노화 활성을 분석함으로써 평가될 수 있다. 상기 억제제는 또한 세포내(intracellular) 탈아미노산 효소 단백질 수준에 대해 분석함으로써 평가될 수 있다. 세포내(subcellular) 단백질을 평가하는 검정이 당해 기술분야의 당업자에게 널리 공지되어 있고 예를 들어, 세포-기반 ELISA, 유세포 분석기 또는 단백질 검출 방법 예컨대 웨스턴 블롯을 포함한다. 일반적으로 상기 검정은 세포 용해물 또는 투과된 세포상에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 시티딘 탈아미노 효소에 대한 웨스턴 블롯이 총 세포 용해물의 가용화, 단백질의 분리, 및 CDA (예를 들어, 카탈로그 번호 ab82346, Abeam)에 대한 항체를 사용하는 탈아미노산 효소에 대한 면역블롯팅(immunoblotting), 이어서 2차 겨자무과산화효소(horseradish peroxidase) 항체로 배양, 및 검출에 의해 수행될 수 있다. 일반적으로, 단백질 수준 또는 활성이 약 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상으로 감소한다면 뉴클레오시드 탈아미노산 효소 단백질 수준 또는 단백질 활성을 감소시키기에 양은 충분하다.

[0150] 본원에서 사용된 바와 같이, 프로드러그는 생체 내 변화(biotransformation) 후에 약리학적 활성을 나타내는 화합물이다. 예를 들어, 켄시타빈과 같은 뉴클레오시드 유사체는 프로드러그이고, 이에 의해 활성이 테옥시시티딘 키나아제에 의한 두 개의 활성 대사물질, 켄시타빈 디포스페이트 및 켄시타빈 트리포스페이트로의 세포 내 변환의 결과로 일어난다. 상기 트리포스페이트(디플루오로테옥시시티딘 트리포스페이트)는 DNA로의 삽입에 대해 내인성 테옥시뉴클레오시드 트리포스페이트와 경쟁한다.

[0151] 본원에서 사용된 바와 같이, 유도체는 참조 약물 또는 제제로부터 변화 또는 변경을 겪었으나, 참조 약물 또는 제제와 비교하여 여전히 활성을 유지하는(예를 들어, 증가된 또는 감소된 활성을 나타냄) 약물의 형태를 지칭한다. 전형적으로 화합물의 유도체 형태는 화합물의 측쇄(side chain)가 변형 또는 변경되는 것을 의미한다.

[0152] 본원에서 사용된 바와 같이, 약물 또는 제제의 유사체(analogue) 또는 유사체(analog)는 참조 약물과 관련되나, 그것의 화학적 또는 생물학적 활성이 다른 약물 또는 제제이다. 전형적으로, 유사체는 참조 약물 또는 제제와 유사한 활성을 나타내나, 활성이 증가 또는 감소되거나 그렇지않으면 향상될 수 있다. 전형적으로, 화합물 또는 약물의 유사체 형태는 구조의 백본(backbone) 핵심(core)이 참조 약물과 비교하여 변경 또는 변화된 것을 의미한다.

[0153] 본원에서 사용된 바와 같이, "활성"은 전장(완전한) 단백질과 관련된 이의 폴리펩티드 또는 이의 부분의 기능적 활성 또는 활성들을 지칭한다. 예를 들어, 폴리펩티드의 활성 단편은 전장 단백질의 활성을 나타낼 수 있다. 기능적 활성은 생물학적 활성, 촉매적 또는 효소적 활성, 항원성(항-폴리펩티드 항체에 결합에 대해 폴리펩티드와 경쟁하거나 결합하는 능력), 면역원성, 다량체를 형성하는 능력, 및 폴리펩티드에 대한 수용체 또는 리간드에 특이적으로 결합하는 능력을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0154] 본원에서 사용된 바와 같이, "히알루로니다아제 활성"은 히알루론산의 절단을 효소적으로 촉매작용하는 능력을 지칭한다. 히알루로니다아제에 대한 미국약전(The United State Pharmacopeia; USA) XXII 검정은 효소를 HA와 37°C에서 30분간 반응시킨 후에 잔류하는 더 높은 분자량의 히알루론산 또는 히알루로난, (HA) 기질의 양을 측정함으로써 간접적으로 히알루로니다아제 활성을 측정한다 (USP XXII-NF XVII(1990) 644-645, United State Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, MD). 참조 표준용액은 임의의 히알루로니다아제의 유닛 내에 상대적인 활성을 측정하기 위한 검정에 사용될 수 있다. 히알루로니다아제, 예컨대 가용성 PH20 및 esPH20을 포함하는 PH20의 히알루로니다아제 활성을 측정하기 위한 시험관 내(in vitro) 검정이 당해 기술분야에 공지되어 있고 본원에 기술된다. 예시적인 분석법은 절단되지 않은 히알루론산이 혈청 알부민과 결합할 때에 형성된 불용성 침전물을 검출함으로써 간접적으로 히알루로니다아제에 의한 히알루론산의 절단을 측정한 미세탁도 검정 및 스트렙타비딘-겨자무과산화효소 컨주게이트 및 발색 기질로 미세정적 플레이트 웰(microtiter plate well)에 비-공유 결합한 잔류 바이오틴화-히알루론산을 검출함으로써 간접적으로 히알루론산의 절단을 측정한 바이오틴화(biotinylated)-히알루론산 검정을 포함한다. 참조 표준은 예를 들어, 히알루로니다아제 유닛이 시험될 때 활성을 측정하기 위한 표준곡선을 생성하기 위해 사용될 수 있다.

[0155] 본원에서 사용된 바와 같이, 특이적 활성은 단백질 mg 당 활성의 유닛을 지칭한다. 히알루로니다아제의 밀리그램은 몰 소거 계수(molar extinction coefficient)가 $M^{-1} cm^{-1}$ 의 단위(unit)로 약 1.7이라고 가정할 때, 280 nm에서의 용액의 흡광도에 의해 정의된다.

[0156] 본원에서 사용된 바와 같이, "중성 활성"은 중성 PH (예를 들어, 약 pH 7.0)에서 히알루론산의 절단을 효소적으로 촉매작용하는 PH20 폴리펩티드의 능력을 지칭한다.

- [0157] 본원에서 사용되는 바와 같이, "GPI-앵커 부착 신호 서열"은 ER의 내강(lumen)에서 폴리펩티드에 미리형성된 GPI-앵커의 부가를 지시하는 아미노산의 C-말단 서열이다. GPI-앵커 부착 신호 서열은 GPI-앵커 고정된 폴리펩티드, 예컨대, GPI-앵커 고정된 PH20 폴리펩티드의 전구체 폴리펩티드 내에 존재한다. C-말단 GPI-앵커 부착 신호 서열은 GPI-앵커 부착 위치 또는 ω -위치 바로 하류에 전형적으로 8 내지 20 아미노산의 대부분 소수성 영역, 그 앞의 8 내지 12 아미노산의 친수성 스페이스(spacer) 영역을 포함한다. GPI-앵커 부착 신호 서열은 당해 기술분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 확인될 수 있다. 이들은 생물정보 웹사이트, 예컨대, ExPASy 프로테오믹스 툴 사이트 (예를 들어, World Wide Web site expasy.ch/tools/)에서 쉽게 이용할 수 있는 것들을 포함하여, 인실리코(*in silico*) 방법 및 알고리즘을 포함하나 이에 제한되지 않는다 (예를 들어, Udenfriend 외 (1995) *Methods Enzymol.* 250:571-582, Eisenhaber 외, (1999) *J. Biol. Chem.* 292:741-758, Fankhauser 외 (2005) *Bioinformatics* 21:1846-1852, Omaetxebarria 외 (2007) *Proteomics* 7:1951-1960, Pierleoni 외 (2008) *BMC Bioinformatics* 9:392 참조).
- [0158] 본원에 사용된 바와 같이, "핵산"은 DNA, RNA, 및 펩티드 핵산(PNA)을 포함하는 이의 유사체 및 이의 혼합물을 포함한다. 핵산은 단일 또는 이중-가닥일 수 있다. 예컨대 검출가능한 표지, 예컨대 형광 또는 방사성 동위원소로 선택적으로 표지되어 있는 프로브 또는 프라이머를 언급할 때, 단일-가닥 분자가 고려된다. 상기 분자는 전형적으로 라이브러리 탐색(probing) 또는 프라이밍(priming)을 위하여 그들의 표적이 통계적으로 고유하거나, 낮은 복제수(copy number) (전형적으로 5 미만, 일반적으로 3 미만)이도록 하는 길이를 갖는다. 일반적으로 프로브 또는 프라이머는 관심있는 유전자와 상보적이거나 동일한 서열의 적어도 14, 16 또는 30의 인접한 뉴클레오티드를 포함한다. 프로브 및 프라이머는 10, 20, 30, 50, 100 또는 그 이상의 핵산 길이일 수 있다.
- [0159] 본원에 사용된 바와 같이, 펩티드는 2 아미노산 길이와 동일하거나 더 길고, 40 아미노산 길이와 동일하거나 더 짧은 길이인 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0160] 본원에 사용된 바와 같이, 본원에서 제공되는 아미노산의 다양한 서열 내에 존재하는 아미노산은 그들의 공지된 3-문자 또는 1-문자 약어(표 1)에 의해 표시된다. 다양한 핵산 단편 내 존재하는 뉴클레오티드는 당해 기술분야에서 일상적으로 사용되는 표준 단일-문자 명명법으로 명명된다.
- [0161] 본원에 사용된 바와 같이, "아미노산"은 아미노기와 카복실산기를 포함하는 유기 화합물이다. 폴리펩티드는 두 개 또는 그 이상의 아미노산을 포함한다. 본원의 목적을 위해, 아미노산은 20개의 천연-발생 아미노산, 비-천연 아미노산 및 아미노산 유사체(즉, α -탄소가 측쇄를 갖는 아미노산)를 포함한다.
- [0162] 본원에 사용된 바와 같이, "아미노산 잔기"는 그 펩티드 결합(linkage)에서 폴리펩티드의 화학적 소화(가수분해)시 형성되는 아미노산을 지칭한다. 본원에서 기술된 아미노산 잔기는 "L" 이성질체 형태로 간주된다. "D" 이성질체 형태 내 잔기라 명명된 잔기들은 원하는 기능적 성질이 폴리펩티드에 의해 유지되는 한 임의의 L-아미노산 잔기로 대체될 수 있다. NH₂는 폴리펩티드의 아미노 말단에 존재하는 자유 아미노기를 지칭한다. COOH는 폴리펩티드의 카복시 말단에 존재하는 자유 카복실기를 지칭한다. *J. Biol. Chem.*, 243:3557-3559(1968)에 기술되고, 37 C.F.R. § 1.821-1.822를 채택한 표준 폴리펩티드 명명법을 유지하면서, 아미노산 잔기들에 대한 약어를 표 1에 나타낸다:

[0163] [표 1] 대응 표

기호		
1-문자(1-Letter)	3-문자(3-Letter)	아미노산
Y	Tyr	타이로신(Tyrosine)
G	Gly	글라이신(Glycine)
F	Phe	페닐알라닌(Phenylalanine)
M	Met	메티오닌(Methionine)
A	Ala	알라닌(Alanine)
S	Ser	세린(Serine)
I	Ile	이소류신(Isoleucine)
L	Leu	류신(Leucine)
T	Thr	트레오닌(Threonine)
V	Val	발린(Valine)
P	Pro	프롤린(Proline)
K	Lys	라이신(Lysine)
H	His	히스티딘(Histidine)
Q	Gln	글루타민(Glutamine)
E	Glu	글루탐산(Glutamic acid)
Z	Glx	Glu 및/또는 Gln
W	Trp	트립토판
R	Arg	아르기닌
D	Asp	아스파르트산
N	Asn	아스파라긴
B	Asx	Asn 및/또는 Asp
C	Cys	시스틴
X	Xaa	미지(Unknown) 또는 기타(Other)

[0164]

[0165] 본원에 식으로 나타난 모든 아미노산 잔기 서열은 아미노 말단에서 카복시 말단의 통상적인 방향인 좌측에서 우측으로의 방향성을 가진다. 또한, 문구 "아미노산 잔기"는 대응 표(표 1)에 열거된 아미노산 및 변형되고 회귀한 아미노산, 예컨대 37 C.F.R. § 1.821-1.822에 언급된 것들 및 참조로써 본원에 삽입된 것들을 포함하도록 정의된다. 또한, 아미노산 잔기 서열의 시작 또는 끝의 대쉬(dash)는 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기의 추가적 서열에, 아미노-말단기, 예컨대, NH₂에, 또는 카복실-말단기, 예컨대, COOH에 대한 펩티드 결합을 나타낼 수 유의해야 한다.

[0166]

본원에 사용된 바와 같이, "천연적으로 발생하는 α-아미노산"은 인간에서 동족(cognate) mRNA 코돈과 함께 대전된 tRNA 분자의 특이적 인지에 의해 단백질로 삽입되는, 자연계에서 발견되는 상기 20개의 α-아미노산 잔기이다. 따라서, "비-천연 아미노산"은 예를 들어 20개의 천연-발생 아미노산 이외의 아미노산 또는 아미노산 유사체를 포함하며, 아미노산의 D-입체이성질체를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예시적인 비-천연 아미노산이 본원에 기술되고, 당해 기술분야의 당업자에게 공지되어 있다.

[0167]

본원에 사용된 바와 같이, DNA 구축물은 자연계에서 발견되지 않는 방식으로 결합되고 병치된 DNA 분절을 포함하는, 단일 또는 이중 가닥의, 선형 또는 원형 DNA 분자이다. DNA 구축물은 인간 조작의 결과로써 존재하며, 조작된 분자의 클론 및 다른 카피(copy)들을 포함한다.

[0168]

본원에 사용된 바와 같이, DNA 분절(segment)은 명시된 성질을 가지는 더 큰 DNA 분자의 부분이다. 예를 들어, 특정 폴리펩티드를 암호화하는 DNA 분절은 더 긴 DNA 분자, 예컨대, 5'에서 3' 방향으로 해독시 명시된 폴리펩티드의 아미노산 서열을 암호화하는 플라스미드 또는 플라스미드 단편의 일부분이다.

[0169]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 폴리뉴클레오티드는 5'에서 3' 말단으로 해독되는 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 염기의 단일- 또는 이중-가닥 폴리머를 의미한다. 폴리뉴클레오티드는 RNA 및 DNA를 포함하고, 천연 출처로부터 분리되거나, 시험관 내(in vitro)에서 합성되거나, 또는 천연 및 합성 분자의 조합으로부터 제조될 수 있다. 폴리뉴클레오티드 분자의 길이는 본원에서 뉴클레오티드(약어로 "nt") 또는 염기쌍(약어로 "bp")이라는 용어로 주어진다. 상기 용어 뉴클레오티드는 문맥이 허용하는 경우 단일- 및 이중-가닥 분자에 대해 사용된다. 상기 용어가 이중-가닥 분자에 적용되는 경우, 총 길이를 나타내기 위하여 사용되며, 상기 용어 염기쌍과 동등한 것으로 이해될 것이다. 이중-가닥 폴리뉴클레오티드의 2개의 가닥은 길이에 있어 약간 상이할 수 있으며, 이의 말단이 엇갈려 있을 수 있고, 따라서 이중-가닥 폴리뉴클레오티드 분자 내 모든 뉴클레오티드들이 짝을 이루지 않을 수 있다는 것이 당해 기술분야의 당업자에게 인식될 것이다. 상기 짝이 없는 말단은, 일반적으로, 20 뉴클레오티드의 길이를 초과하지 않는다.

[0170]

본원에 사용된 바와 같이, 두 단백질 또는 핵산 사이의 "유사성"은 단백질의 아미노산 서열 또는 핵산의 뉴클레오티드 서열 사이의 관련성을 지칭한다. 유사성은 잔기들 및 그안에 포함된 잔기들의 서열의 동일성 및/또는 상동성의 정도에 기초될 수 있다. 단백질 또는 핵산 사이의 유사성의 정도를 평가하는 방법이 당해 기술분야에 당

업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 서열 유사성을 평가하는 한 방법에서, 2개의 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열이 서열 사이에 최고 수준의 동일성을 나타내는 방식으로 정렬된다. "동일성(identity)"은 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열이 다르지 않은 정도를 지칭한다. 아미노산 서열, 어느 정도 뉴클레오티드 서열에 대한 정렬(alignment)은 또한 아미노산(또는 뉴클레오티드)의 보존적 차이 및/또는 빈번한 치환을 고려할 수 있다. 보존적 차이는 관련된 잔기들의 물리-화학적 성질을 보존하는 것들이다. 정렬은 전체적(서열의 전장 및 모든 잔기들을 포함하는 것에 대한, 비교되는 서열의 정렬)이거나 지역적(가장 유사한 영역 또는 영역들만을 포함하는 서열 부분의 정렬)일 수 있다.

[0171] "동일성(identity)"은 그 자체가 당업계-인식되는 의미를 가지며, 공개된 기술을 사용하여 측정될 수 있다(예를 들어, Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics 및 Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., 및 Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 및 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 및 Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991 참조). 두 개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 사이의 동일성을 측정하는 수많은 방법들이 있지만, 용어 "동일성"은 당업자에게 널리 공지되어 있다(Carillo, H. & Lipton, D., SIAM J Applied Math 48:1073(1988)).

[0172] 본원에 사용된 바와 같이, (핵산 및/또는 아미노산 서열과 관련하여) 상동인(homologous)은 약 25% 이상의 서열 상동성(homology), 전형적으로 25%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% 또는 95% 이상의 서열 상동성을 의미하며; 필요하다면, 정확한 백분율이 명시될 수 있다. 본원의 목적을 위하여, 상기 용어 "상동성" 및 "동일성"은 다르게 나타낸 바 없다면 종종 상호교환적으로 사용된다. 일반적으로, 백분율 상동성 또는 동일성의 결정을 위하여, 가장 높은 순(order) 매칭이 얻어지도록 서열이 정렬된다(예를 들어: Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., 및 Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 및 Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. 및 Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 37 1991; Carrillo 외 (1988) *SIAM J Applied Math* 48: 1073 참조). 서열 상동성에 의하여, 보존된 아미노산의 수가 표준 정렬 알고리즘 프로그램에 의하여 측정되어, 각 공급자에 의해 확립된 디폴트 갭 페널티(default gap penalty)를 가지고 사용될 수 있다. 실질적으로 상동인 핵산 분자는 관심있는 핵산의 길이를 모두 따라 전형적으로 중등도(moderate)의 엄격성(stringency)으로, 또는 고도의 엄격성으로 혼성화된다. 또한 혼성화하는 핵산 분자 내 코돈 대신에 동의 코돈(degenerate codon)을 포함하는 핵산 분자가 고려된다.

[0173] 임의의 두개의 분자가 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 "동일한" 또는 또는 "상동인" 뉴클레오티드 서열 또는 아미노산 서열을 가지는지 여부는 공지된 컴퓨터 알고리즘, 예컨대 Pearson 외(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444(기타 프로그램은 GCG 프로그램 패키지를 포함한다(Devereux, J., 외, *Nucleic Acids Research* 12(I):387(1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, S.F. 외, *J Molec Biol* 215:403(1990)); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, 및 Carillo 외 (1988) *SIAM J Applied Math* 48:1073)에서와 같은 디폴트 파라미터들을 사용한 예컨대 "FASTA" 프로그램을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 생물공학 정보를 위한 국립센터(the National Center for Biotechnology Information) 데이터베이스의 BLAST 함수가 동일성을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 기타 상업적으로 또는 대중적으로 이용가능한 프로그램은 DNASTar "MegAlign" 프로그램(Madison, WI) 및 위스콘신대학 유전학 컴퓨터 그룹(the University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWG)) "Gap" 프로그램(Madison WI)을 포함한다. 단백질 및/또는 핵산 분자의 백분율 상동성 또는 동일성은 GAP 컴퓨터 프로그램을 사용한 서열 정보를 비교하여 측정될 수 있다(예를 들어, Needleman 외 (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, Smith 및 Waterman에 의해 개정((1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482). 요약하면, 상기 GAP 프로그램은 두 서열 중 더 짧은 것 내의 기호의 총 수로 나눈, 유사한, 정렬된 기호(즉, 뉴클레오티드 또는 아미노산)들의 수로써 유사성을 정의한다. GAP 프로그램을 위한 디폴트 파라미터는 (1) 1진법 비교 매트릭스(동일성에 대해 1의 값을, 비동일성에 대해 0의 값을 포함) 및 Schwartz 및 Dayhoff, eds., *ATLAS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)에 의해 기술된 것과 같은 Gribskov 외(1986) *Nucl. Acids Res.* 14:6745의 편중 비교 매트릭스; (2) 각각의 갭에 대하여 3.0의 페널티 및 각각의 갭 내 각각의 기호에 대하여 추가의 0.10 페널티; 및 (3) 말단 갭에 대한 페널티 없음을 포함할 수 있다.

- [0174] 따라서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "동일성" 또는 "상동성"은 시험 및 참조 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 사이의 비교를 나타낸다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 적어도 "~에 90% 이상 동일한"은 참조 핵산 또는 폴리펩티드의 아미노산 서열에 대하여 90 내지 99.99 백분율의 동일성을 지칭한다. 90% 또는 그 이상의 수준의 동일성은 예증 목적을 위하여 가정하여 100개 길이의 아미노산의 시험 및 참조 폴리펩티드가 비교된다고 가정한 사실을 가리킨다. 시험 폴리펩티드 내 아미노산의 10% 이하(즉, 100개 중 10개)가 참조 폴리펩티드와 다르다. 유사한 비교가 시험 및 참조 폴리뉴클레오티드 사이에 수행될 수 있다. 상기 차이는 폴리펩티드의 전장에 걸쳐 무작위적으로 분포된 점 돌연변이(point mutation)로서 나타날 수 있거나, 또는 이들은 최대 허용가능한, 예를 들어, 10/100 아미노산 차이(약 90% 동일성)까지 길이를 달리하는 하나 또는 그 이상의 위치 내 모여 있을 수 있다. 차이는 핵산 또는 아미노산 치환, 삽입 또는 결실로서 정의된다. 약 85 내지 90% 초과와 상동성 또는 동일성의 수준에서, 상기 결과는 프로그램 및 갭 파라미터 세트에 독립적이어야 하고; 상기 높은 수준의 동일성은 종종 소프트웨어에 의지함이 없이 수동 정렬에 의해 쉽게 측정될 수 있다.
- [0175] 본원에 사용된 바와 같이, 정렬된 서열은 뉴클레오티드 또는 아미노산의 서열 내 상응하는 위치를 정렬하기 위한 상동성(유사성 및/또는 동일성)의 사용을 지칭한다. 전형적으로, 50% 또는 그 이상의 동일성으로 관련된 둘 또는 그 이상의 서열이 정렬된다. 서열들의 정렬된 세트는 상응하는 위치에서 정렬되는 2 또는 그 이상의 서열을 지칭하며, EST와 같은 RNA 및 게놈 DNA 서열과 정렬되는 기타 cDNA로부터 유래한 서열을 정렬하는 것을 포함할 수 있다.
- [0176] 본원에 사용된 바와 같이, "프라이머"는 적절한 상태 하(예를 들어, 4개의 상이한 뉴클레오티드 트리포스페이트 및 중합효소, 예컨대 DNA 중합효소, RNA 중합효소 또는 역전사효소의 존재)에 적절한 완충액 및 적절한 온도에서 주형-지시된(template-directed) DNA 합성의 개시점으로써 작용할 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 특정 핵산 분자가 "프로브" 및 "프라이머"로서 제공될 수 있음이 인식될 수 있다. 그러나, 프라이머는 신장을 위한 3' 하이드록시기를 가진다. 프라이머는 예를 들어 중합효소 연쇄 반응(PCR), 역-전사효소(RT) PCR, RNA PCR, LCR, 다중(multiple) PCR, 팬핸들(panhandle) PCR, 캡처(capture) PCR, 발현 PCR, 3' 및 5' RACE, 원위치(*in situ*) PCR, 라이게이션-매개 PCR 및 기타 증폭 프로토콜을 포함하는 다양한 방법에서 사용될 수 있다.
- [0177] 본원에 사용된 바와 같이, "프라이머 쌍"은 (예를 들어, PCR에 의해)증폭되는 서열의 5' 말단과 혼성화하는 5' (상류) 프라이머 및 증폭되는 서열의 3' 말단의 상보물(complement)과 혼성화하는 3' (하류) 프라이머를 포함하는 프라이머 세트를 지칭한다.
- [0178] 본원에 사용된 바와 같이, "특이적으로 혼성화한다"는 핵산 분자(예를 들어, 올리고뉴클레오티드)가 표적 핵산 분자에 상보적 염기-쌍에 의해 어닐링하는 것을 지칭한다. 당해 기술분야의 당업자는 특이적 혼성화에 영향을 미치는 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*) 파라미터, 예컨대 특정 분자의 길이 및 구성에 친숙하다. 시험관 내(*in vitro*) 혼성화에 특히 관련된 파라미터는 추가로 어닐링 및 세척 온도, 완충액 조성 및 염 농도를 포함한다. 비특이적으로 결합된 핵산 분자를 제거하기 위한 예시적인 세척 조건은 고도 엄격성에서는 0.1x SSPE, 0.1% SDS, 65°C이고, 중등도(medium) 엄격성에서는 0.2 x SSPE, 0.1% SDS, 50°C이다. 동등한 엄격성 조건이 당해 기술분야에 공지되어 있다. 당업자는 특정한 적용을 위하여 적절한 표적 핵산 분자에 대한 핵산 분자의 특이적 혼성화를 달성하기 위하여 상기 파라미터들을 용이하게 조정할 수 있다. 2개의 뉴클레오티드 서열을 언급할 때 상보적인(complementary)은 뉴클레오티드의 두 서열이 전형적으로 상대되는 뉴클레오티드 사이에 25%, 15% 또는 5% 미만의 불일치를 가지고 혼성화할 수 있다는 것을 의미한다. 필요하다면, 상보성의 백분율이 특정될 것이다. 전형적으로 상기 2개의 분자는 그들이 높은 엄격성의 조건 하에서 혼성화하도록 선택된다.
- [0179] 본원에 사용된 바와 같이, 산물에 실질적으로 동일한(substantially identical)은 관심있는 성질이 충분히 바뀌지 않아 실질적으로 동일한 산물이 본래 산물 대신 사용될 수 있을 정도로 충분히 유사하다는 의미이다.
- [0180] 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "실질적으로 동일한" 또는 "유사한"은 관련 분야의 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 문맥에 따라 변경되는 것으로도 이해된다.
- [0181] 본원에 사용된 바와 같이, 대립형질 변이체(allelic variant) 또는 대립형질 변이(allelic variation)는 동일한 염색체 위치를 차지하는 유전자의 임의의 둘 또는 그 이상의 선택적인(대안적인) 형태를 의미한다. 대립형질 변이는 돌연변이를 통해 자연적으로 발생하고, 군집 내 표현형의 다형성(polymorphism)을 초래한다. 유전자 돌연변이는 침묵이거나(암호화된 폴리펩티드에 변화 없음), 변경된 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드를 암호화할 수 있다. 상기 용어 "대립형질 변이체"는 또한 본원에서 유전자의 대립형질 변이체에 의해 암호화되는 단백질을 나타내기 위하여 사용된다. 전형적으로 유전자의 참조 형태는 군집 또는 종의 하나의 참조 일원으로부터의 폴리펩티드의 야생형 형태 및/또는 우세형 형태를 암호화한다. 전형적으로, 대립형질 변이체는 종 간 및 종 중

에 변이체를 포함하며, 전형적으로 동일 종으로부터의 야생형 및/또는 우세형 형태와 적어도 80%, 90% 또는 그 이상의 아미노산 동일성을 가지며; 동일성의 정도는 유전자, 및 비교가 이종간인지 종내인지에 의존한다. 일반적으로, 종내 대립형질 변이체는 폴리펩티드의 야생형 및/또는 우세형 형태와 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 포함하여 야생형 및/또는 우세형 형태와 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 이상의 동일성을 가진다. 본원에서 대립형질 변이체에 대한 언급은 일반적으로 동일한 종의 일원 중에 단백질 내 변이를 지칭한다.

[0182] 본원에 사용된 바와 같이, 본원에서 "대립형질 변이체"와 상호교환적으로 사용되는 "대립형질(allele)"은 이의 유전자 또는 일부의 선택적인(대안적인) 형태를 지칭한다. 대립형질은 상동 염색체 상의 동일 장소 또는 위치를 차지한다. 대상체가 한 유전자의 2개의 동일한 대립형질을 가지는 경우 그 대상체는 그 유전자 또는 대립형질에 대해 동형접합적(homozygous)이라고 언급된다. 대상체가 한 유전자의 2개의 상이한 대립형질을 가지는 경우 그 대상체는 그 유전자에 대해 이형접합적(heterozygous)이라고 언급된다. 특정 유전자의 대립형질은 단일 뉴클레오타이드 또는 여러 뉴클레오타이드에서 서로 상이할 수 있으며, 뉴클레오타이드의 치환, 결실 및 삽입과 같은 변형을 포함할 수 있다. 유전자의 대립형질은 또한 돌연변이를 포함하는 유전자의 형태일 수 있다.

[0183] 본원에 사용된 바와 같이, 종 변이체는 다른 포유류 종들, 예컨대 마우스와 사람을 포함한 다른 종 중에 폴리펩티드의 변이체를 지칭한다. 예를 들어 PH20에 대해, 본원에 제공되는 종 변이체의 예는 영장류의 PH20, 예컨대 인간, 침팬지, 마카크(macaque) 원숭이, 사이노몰구스(cynomolgus) 원숭이이나, 이에 제한되지 않는다. 일반적으로, 종 변이체는 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97%, 98 % 또는 그 이상의 서열 동일성을 가진다. 종 변이체 간 및 종에서 상응하는 잔기들은 매칭되는 뉴클레오타이드 또는 잔기들의 수를 최대화하기 위하여, 예를 들어, 상기 서열들 사이의 동일성이 95% 이상이거나, 96% 이상이거나, 97% 이상이거나, 98% 이상이거나, 99% 이상하도록 서열을 비교하고, 정렬하여 측정될 수 있다. 이어서, 관심있는 위치에 참조 핵산 분자에서 할당된 숫자를 부여한다. 정렬은 특히 서열 동일성이 80% 초과인 경우 수동으로 또는 자동으로 수행될 수 있다.

[0184] 본원에서 사용된 바와 같이, 인간 단백질은 모든 대립형질 변이체 및 이의 보존적 변이체를 포함하는 인간의 게놈에 존재하는 핵산 분자, 예컨대 DNA에 의해 암호화되는 것이다. 단백질의 변이체 또는 변형은, 만일 상기 변형이 인간 단백질의 야생형 또는 우세한 서열을 기초로 한다면 인간 단백질이다.

[0185] 본원에 사용된 바와 같이, 스플라이스 변이체는 하나 초과인 mRNA의 유형을 초래하는 게놈 DNA의 일차(primary) 전사체의 차별적 프로세싱에 의해 생산되는 변이체를 지칭한다.

[0186] 본원에 사용된 바와 같이, 변형(modification)은, 폴리펩티드의 아미노산 서열, 또는 핵산 분자의 뉴클레오타이드 서열의 변형에 관한 것이며, 각각 아미노산 및 뉴클레오타이드의 결실, 삽입 및 치환(replacement)(예를 들어, 치환(substitutions))을 포함한다. 예시적인 변형은 아미노산 치환이다. 아미노산이 치환된 폴리펩티드는 아미노산 치환을 포함하지 않는 폴리펩티드에 65%, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타낼 수 있다. 아미노산 치환은 보존적일 수도 비보존적일 수도 있다. 일반적으로, 폴리펩티드에 임의의 변형을 가하더라도 폴리펩티드의 활성은 유지된다. 폴리펩티드를 변형하는 방법들은 재조합 DNA 방법론을 사용하는 것과 같이 당업자가 통상적으로 수행할 수 있다.

[0187] 본원에서 사용된 바와 같이, 아미노산의 적합한 보존적 치환이 당업자에게 공지되어 있고 생성된 분자의 생물학적 활성을 변경하지 않고도 일반적으로 수행될 수 있다. 일반적으로, 당업자는 폴리펩티드의 비-필수적 영역에 있어서의 단일 아미노산 치환이 생물학적 활성을 실질적으로 변경하지 않는 것으로 인식한다 (예를 들어, Watson 외 Molecular Biology of the Gene, 4판, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. co., p.224 참조). 상기 치환은 다음 표 2에 기재된 바에 따라 수행될 수 있다.

[0188] [표 2]

본래의 잔기	예시적인 보존적 치환
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys
Asn (N)	Gln; His
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Ala; Pro
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; Gln; Glu
Met (M)	Leu; Tyr; Ile
Phe (F)	Met; Leu; Tyr
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

[0189]

[0190] 기타 치환도 가능하며 경험적으로 또는 공지된 보존적 치환에 따라 결정될 수 있다.

[0191]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 프로모터는 RNA 중합효소의 결합 및 전사의 개시를 위해 제공하는 DNA 서열을 포함하는 유전자의 부분을 의미한다. 프로모터 서열은 항상은 아니나 일반적으로 유전자의 5' 비-암호화 영역에서 발견된다.

[0192]

본원에 사용된 바와 같이, 분리된 또는 정제된 폴리펩티드 또는 단백질 또는 이들의 생물학적으로 활성인 부분은 상기 단백질이 유래한 세포 또는 조직으로부터의 세포 물질 또는 다른 오염 단백질이 실질적으로 없거나, 또는 화학적으로 합성시 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없는 것이다. 제제(preparation)는, 순도를 측정하기 위하여 당업자에 의해 사용되는 분석 표준 방법, 예컨대, 박층 크로마토그래피(TLC), 겔 전기영동 및 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의하여 측정되어, 쉽게 검출가능한 불순물이 없는 것으로 나타나거나, 추가 정제가 물질의 물리적 및 화학적 성질, 예컨대, 효소 및 생물학적 활성을 검출가능하게 변경하지 않을 만큼 충분히 순수하다면, 실질적으로 없는 것으로 측정될 수 있다. 실질적으로 화학적으로 순수한 화합물을 생산하기 위한 화합물의 정제 방법이 당업자에게 공지되어 있다. 그러나, 실질적으로 화학적으로 순수한 화합물은 입체이성질체의 혼합물일 수 있다. 그러한 경우, 추가 정제가 상기 화합물의 특이적 활성을 증가시킬 수 있다.

[0193]

따라서, 본원에서 실질적으로 정제된 폴리펩티드, 예컨대 실질적으로 정제된 가용성 PH20에 대한 언급은, 상기 단백질이 그것이 분리되거나 재조합적으로 생산되는 세포의 세포 구성성분들로부터 분리되는 단백질 제제를 포함하는 세포 물질이 실질적으로 없는 단백질 제제를 지칭한다. 일 구현예에서, 상기 용어 세포 물질이 실질적으로 없음은 약 30% 미만(건중량)의 비-효소 단백질(또한 본원에서 오염 단백질로서 지칭됨), 일반적으로 약 20% 미만의 비-효소 단백질 또는 10% 미만의 비-효소 단백질 또는 약 5% 미만의 비-효소 단백질을 가지는 효소 단백질 제제를 포함한다. 상기 효소 단백질이 재조합적으로 생산시, 이는 또한 배양 배지로부터 실질적으로 없는 것이다. 즉, 배양 배지가 효소 단백질 제제의 부피의 약 또는 20%, 10% 또는 5% 미만을 나타낸다.

[0194]

본원에 사용된 바와 같이, 용어 화학적 전구체 또는 기타 화학물질의 실질적으로 없음은 단백질의 합성에 관여하는 화학적 전구체 또는 다른 화학물질로부터 상기 단백질이 분리되어 있는 효소 단백질 제제를 포함한다. 상기 용어는 약 30% (건중량) 미만, 20%, 10%, 5% 또는 그 이하의 화학적 전구체 또는 비-효소 화학물질 또는 성분을 가지는 효소 단백질 제제를 포함한다.

[0195]

본원에 사용된 바와 같이, 예를 들어, 합성 핵산 분자 또는 합성 유전자 또는 합성 펩티드와 관련한 합성은 재조합 방법 및/또는 화학적 합성 방법에 의하여 생산된 핵산 분자 또는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0196]

본원에 사용된 바와 같이, 재조합 수단 또는 재조합 DNA 방법을 이용한 재조합 수단에 의한 생산은 클로닝된 DNA에 의해 암호화되는 단백질 발현을 위한 분자 생물학의 널리 공지된 방법의 사용을 의미한다.

[0197]

본원에 사용된 바와 같이, 벡터(또는 플라스미드)는 이종성(heterologous) 핵산을 그의 발현 또는 복제를 위해 세포 내에 도입하기 위하여 사용되는 별개의 요소를 지칭한다. 벡터는 전형적으로 에피솜(episome)으로 남지만,

유전자 또는 그의 일부가 게놈의 염색체 내로 통합(integration)을 가져 오도록 설계될 수 있다. 또한 인공 염색체, 예컨대 효모 인공 염색체 및 포유동물 인공 염색체인 벡터가 고려된다. 상기 비히클의 선택 및 사용이 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0198] 본원에 사용된 바와 같이, 발현 벡터는 DNA 단편의 발현을 가져올 수 있는 조절 서열, 예컨대 프로모터 영역과 작동가능하게 연결된 DNA를 발현할 수 있는 벡터를 포함한다. 상기 부가적 분절(segment)은 프로모터 및 터미네이터(terminator) 서열을 포함할 수 있으며, 선택적으로 하나 또는 그 이상의 복제 기점, 하나 또는 그 이상의 선택가능한 마커, 인헨서, 폴리아데닐화 신호 등을 포함할 수 있다. 발현 벡터는 일반적으로 플라스미드 또는 바이러스 DNA로부터 유래하거나, 둘 다의 요소를 포함할 수 있다. 따라서, 발현 벡터는 재조합 DNA 또는 RNA 구축물, 예컨대, 플라스미드, 파지, 재조합 바이러스 또는 적절한 숙주 세포 내 도입시, 클로닝된 DNA의 발현을 초래하는 기타 벡터를 지칭한다. 적절한 발현 벡터는 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 진핵세포 및/또는 원핵세포 내에서 복제가 가능한 것들 및 에피솜으로 남는 것들 또는 숙주 세포 게놈 내에 통합되는 것들을 포함한다.

[0199] 본원에 사용된 바와 같이, 벡터는 또한 "바이러스 벡터(virus vector)" 또는 "바이러스성 벡터(viral vector)"를 포함한다. 바이러스성 벡터는 (비히클 또는 서틀로써) 외인성 유전자를 세포 내로 운반하도록 외인성 유전자에 작동가능하게 연결된 조작된 바이러스이다.

[0200] 본원에 사용된 바와 같이, DNA 분절을 언급할 때의 "작동가능하게" 또는 "작동가능하게 연결된"은 상기 분절이 그들의 의도된 목적을 위해, 예를 들어, 전사가 프로모터 하류 및 임의의 전사된 서열 상류에서 개시되도록 협력하여 기능할 수 있게 배열된 것을 의미한다. 프로모터는 보통 전사기구가 결합하여 전사가 개시되고 코딩 분절을 따라 터미네이터까지 진행되도록 하는 도메인이다.

[0201] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "평가(측정)(assessing)"는 시료 내 존재하는 예컨대 효소, 또는 이의 도메인과 같은 단백질의 활성에 대한 절대값의 획득 및 또한 상기 활성의 수준을 나타내는 지표, 비율, 백분율, 시각적 또는 다른 값의 획득과 관련한 정량적 및 정성적 측정을 포함하는 것을 의미한다. 평가는 직접적 또는 간접적일 수 있다. 예를 들어, 실제 검출되는 화학 종은 물론 효소로 절단된 산물 그 자체일 필요는 없으나, 그의 유도체 또는 어떤 추가 물질일 수 있다. 예를 들어, 절단 산물의 검출은 형광 모이어티(moiety)와 같은 검출가능한 모이어티가 될 수 있다.

[0202] 본원에 사용된 바와 같이, 생물학적 활성은 화합물의 생체 내(in vivo) 활성 또는 화합물, 조성물 또는 기타 혼합물의 생체 내(in vivo)로 투여시 초래되는 생리학적 반응을 지칭한다. 따라서, 생물학적 활성은 상기 화합물, 조성물 및 혼합물의 치료적 효과 및 약학적 활성을 포함한다. 생물학적 활성은 상기 활성을 시험하거나 사용하기 위해 설계된 시험관 내(in vitro) 시스템에서 관찰될 수 있다. 따라서, 본원의 목적상, 히알루로니다아제 효소의 생물학적 활성은 히알루론산의 분해이다.

[0203] 본원에 사용된 바와 같이, 2개의 핵산 서열을 언급할 때의 동등함(equivalent)은 문제된 2개의 서열들이 동일한 아미노산 서열 또는 동등한 단백질을 암호화하는 것을 의미한다. 동등함이 2개의 단백질 또는 펩티드를 언급하는데 사용되는 경우, 이는 2개의 단백질 또는 펩티드가 상기 단백질 또는 펩티드의 활성 또는 기능을 실질적으로 변경하지 않는 아미노산 치환만을 가지는, 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 가지는 것을 의미한다. 동등함이 성질을 언급하는 경우, 상기 성질은 동일한 정도로 나타날 필요는 없으나(예를 들어, 2개의 펩티드가 동일한 유형의 효소 활성을 다른 속도로 나타낼 수 있다), 상기 활성은 대개 실질적으로 동일하다.

[0204] 본원에 사용된 바와 같이, "조절하다(modulate)" 및 "조절(modulation)" 또는 "변경하다(alter)"는 분자, 예컨대 단백질의 활성의 변화를 지칭한다. 예시적인 활성은 생물학적 활성, 예컨대 신호 전달(signal transduction)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 조절은 활성의 증가(즉, 상향조절 또는 작용제(agonist) 활성), 활성의 감소(즉, 하향조절 또는 억제) 또는 활성의 임의의 다른 변경(예컨대, 주기성, 빈도, 지속시간, 동역학 또는 다른 파라미터의 변화)를 포함한다. 조절은 문맥에 좌우되며, 전형적으로 조절은 지정된 상태, 예를 들어, 야생형 단백질, 구성적 상태의 단백질, 또는 지정된 세포 유형 또는 상태에서 발현되는 단백질과 비교된다.

[0205] 본원에서 사용된 바와 같이, 직접 투여는 희석 없이 투여되는 조성물을 지칭한다.

[0206] 본원에서 사용된 바와 같이, 단일 투여량 제형(single dosage formulation)은 단지 한 번의 사용을 위한 제형을 지칭한다. 전형적으로, 단일 투여량 제형은 직접 투여를 위한 것이다.

[0207] 본원에서 사용된 바와 같이, 다중 투여량 제형(multiple dosage formulation)은 반복되는 투여에서 사용을 위한 제형을 지칭한다.

- [0208] 본원에서 사용된 바와 같이, 조성물은 임의의 혼합물을 지칭한다. 이는 용액, 현탁액, 액체, 분말, 페이스트, 수성, 비-수성 또는 이의 임의의 조합물일 수 있다.
- [0209] 본원에서 사용된 바와 같이, 조합물은 2개 또 그 이상의 물질(item) 사이의 또는 중의 임의의 연합을 지칭한다. 상기 조합물은 2개 또는 그 이상의 별개의 물질, 예컨대, 2개의 조성물 또는 2개의 집합물일 수 있고, 이의 혼합물, 예컨대 2개 또는 그 이상의 물질의 단일 혼합물일 수 있으며, 또는 이의 변형일 수 있다. 일반적으로 조합의 요소들은 기능적으로 연합되거나 또는 관련되어 있다.
- [0210] 본원에 사용된 바와 같이, "질환 또는 장애"는 감염, 후천성 상태, 유전적 상태를 포함하나 이에 제한되지 않는 원인 또는 상태에서부터 기인하고 확인가능한 증상을 특징으로 하는 유기체 내 병리학적 상태를 의미한다. 본원의 관심의 질환 및 장애는 히알루로난-관련 질환 및 장애이다.
- [0211] 본원에서 사용된 바와 같이, "정맥 내 투여"는 치료제의 정맥으로 직접 전달을 지칭한다.
- [0212] 본원에서 사용된 바와 같이, "히알루로난-연관된 암" 또는 "히알루로난 풍부암"은 질환 또는 상태에서 히알루로난 수준이 원인, 결과로 상승되거나 또는 관찰되는 암을 포함한다. 히알루로난-연관된 암 또는 종양은 조직 또는 세포에서 상승된 히알루로난 수준, 증가된 간질액 압력, 감소된 혈관 부피, 및/또는 조직에서 증가된 수분 함량에 관련된다. 상기 암은 예를 들어, 예컨대 후기(late-stage) 암, 전이암, 미분화 암, 난소암, 상피내암(in situ carcinoma, ISC), 편평세포암(SCC), 전립선암, 췌장암, 비소세포 폐암, 유방암, 결장암 및 기타 암을 포함하는 종양을 포함한다.
- [0213] 본원에서 사용된 바와 같이, 상승된 히알루로난 수준은 질환 또는 상태, 결과 또는 상기 질환에서 달리 관찰되는 것에 좌우되는, 특히 조직, 체액 또는 세포에서 히알루로난의 양을 지칭한다. 예를 들어, 히알루로난-풍부 종양의 존재 결과에 따라, 히알루로난 (HA) 수준이 체액, 예컨대 혈액, 뇨, 타액 및 혈청, 및/또는 종양 조직 또는 세포에서 상승될 수 있다. 상기 수준은 표준 또는 다른 적합한 대조군, 예컨대 HA-연관된 질환을 가지지 않는 대상체로부터의 비교할만한 시료와 비교될 수 있다.
- [0214] 본원에 사용된 바와 같이, 질환 또는 상태를 가진 대상체를 "치료하는 것"은 치료후 대상체의 증상이 부분적으로 또는 전체적으로 완화되거나, 또는 정적인 상태로 남는 것을 의미한다. 따라서 치료는 예방, 요법 및/또는 치유를 포함한다. 예방은 잠재적 질환의 방지 및/또는 증상의 악화 또는 질환의 진행의 방지를 지칭한다.
- [0215] 본원에 사용된 바와 같이, 약학적으로 유효한 제제는 예를 들어, 화학치료제, 마취제, 혈관수축제, 산포제, 소분자 약물 및 치료용 단백질을 포함하는 통상적인 치료 약물을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 치료적 제제 또는 생물활성 제제를 포함한다.
- [0216] 본원에 사용된 바와 같이, 치료는 상태, 장애 또는 질환 또는 기타 적응증의 증상을 개선하거나 또는 그렇지 않다면 유리하게 변경하는 임의의 방식을 의미한다.
- [0217] 본원에 사용된 바와 같이, 치료 효과는 질환 또는 상태의 증상을 변경, 전형적으로는, 개선하거나 완화시키는, 또는 질환 또는 상태를 치유하는 대상체의 치료로부터 얻어지는 효과를 의미한다. 치료적으로 유효한 양은 대상체에 투여 후 치료 효과를 초래하는 조성물, 분자 또는 화합물의 양을 지칭한다.
- [0218] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체"는 포유동물, 예컨대 인간을 포함한 동물을 지칭한다.
- [0219] 본원에 사용된 바와 같이, 환자는 질환 또는 장애 증상을 보이는 인간 대상체를 지칭한다.
- [0220] 본원에 사용된 바와 같이, 대체로 동일함은 당업자가 동일하거나 허용 가능한 오차 범위 내에 있다고 판단할 양 이내를 의미한다. 예를 들어, 전형적으로, 약학적 조성물에 있어서, 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5% 또는 10% 내에 있는 경우 대체로 동일한 것으로 본다. 상기 양은 대상체에 의해 특정 조성물에 있어서의 변이에 대한 내약성에 의존하여 다양할 수 있다.
- [0221] 본원에 사용된 바와 같이, 투약 요법(dosing regime)은 투여되는 항-히알루로난 제제, 예를 들어 가용성 히알루로니다아제 또는 다른 제제를 포함하는 조성물의 제제의 양, 및 투여 빈도를 지칭한다. 투약요법은 치료될 질환 또는 상태의 함수이고, 따라서 가변적일 수 있다.
- [0222] 본원에 사용된 바와 같이, 투여 빈도는 치료의 연속적 투여 사이의 시간을 지칭한다. 예를 들어, 빈도는 수일, 수주 또는 수개월 일 수 있다. 예를 들어, 빈도는 매주 1회 이상, 예를 들어, 일주일 마다 2회, 일주일 마다 3회, 일주일 마다 4회, 일주일 마다 5회, 일주일 마다 6회 또는 매일 일 수 있다. 빈도는 또한 1, 2, 3, 또는 4 주일 수 있다. 특정 빈도는 치료되는 특정 질환 또는 상태의 함수이다. 일반적으로, 빈도는 매주 1회 초과이

며, 일반적으로 매주 2회이다.

- [0223] 본원에 사용된 바와 같이, "투여 주기"는 연속적 투여에 대하여 반복되는, 상기 효소 및/또는 제2 제제의 투여의 투약요법의 반복된 일정을 지칭한다. 예를 들어, 예시적인 투여 주기는 3주일 동안 매주 2회 투여에 이어서 1주일간 투여를 중단하는 28일 주기이다.
- [0224] 본원에 사용된 바와 같이, 대상체의 mg/kg에 기초한 참조 투여량에서, 평균 인간 대상체는 약 70 kg-75 kg, 예컨대 70 kg의 중량 및 1.73의 체표면적(BSA)을 갖는 것으로 간주된다.
- [0225] 본원에 사용된 바와 같이, 치료, 예컨대 약학적 조성물 또는 기타 치료제의 투여에 의한 특정 질환 또는 장애의 증상의 개선은 영구적이든지 또는 일시적이든지, 지속적이든지 또는 일시적이든지 증상 또는 상태의 유해한 효과(adverse effect)의 완화, 예컨대 예를 들어 항-히알루로난 제제, 예컨대 PEG화된 히알루로니다아제의 투여와 관련되는 또는 이의 투여시 발생하는 유해 효과의 임의의 감소를 지칭한다.
- [0226] 본원에 사용된 바와 같이, 방지 또는 예방은 질환 또는 상태를 발전시킬 위험에서의 감소를 지칭한다.
- [0227] 본원에 사용된 바와 같이, "치료적으로 유효한 양" 또는 "치료적으로 유효한 용량"은 치료 효과를 생성하기에 적어도 충분한 화합물을 포함하는 제제, 화합물, 물질, 또는 조성물의 양을 지칭한다. 따라서, 질환 또는 장애의 증상의 예방, 치유, 개선, 정지 또는 부분적 정지에 필요한 양이다.
- [0228] 본원에 사용된 바와 같이, 단위 용량 형태(unit dose form)는 인간 및 동물 대상체에 적절하고, 당해 기술분야에 공지된 바와 같이 개별 포장된 물리적으로 분리된 단위를 지칭한다.
- [0229] 본원에 사용된 바와 같이, 단일 투여량 제형은 단일 용량으로서의 제형을 지칭한다.
- [0230] 본원에 사용된 바와 같이, 직접 투여 제형은 투여를 위해 추가적인 희석이 요구되지 않는 조성물을 의미한다.
- [0231] 본원에 사용된 바와 같이, "제조품(article of manufacture)"은 제조되어 판매되는 제품이다. 본 출원을 통해 사용되는 바와 같이, 상기 용어는 포장 물품 내에 포함된 항-히알루로난 제제, 예를 들어 히알루로난 분해효소, 예컨대 히알루로니다아제, 및 제2 제제 조성물을 포함하려는 의도이다. 예를 들어, 제2 제제는 코르티코스테로이드, 중양-표적 타산(taxane) 또는 화학치료제이다.
- [0232] 본원에 사용된 바와 같이, 유체(fluid)는 흐를 수 있는 임의의 조성물을 지칭한다. 따라서, 유체는 반-고체, 페이스트, 용액, 수성 혼합물, 겔, 로션, 크림 및 다른 기타 상기 조성물의 형태인 조성물을 포함한다.
- [0233] 본원에 사용된 바와 같이, 조합물(combination), 예컨대 본원에서 제공하는 조성물의 조합물은 조합물의 구성요소들의 연합을 지칭한다.
- [0234] 본원에 사용된 바와 같이, 키트는 구성성분의 조합물, 예컨대 본원의 조성물과 재구성, 활성화를 포함하나 이에 제한되지 않는 목적을 위한 다른 물품, 및 전달, 투여, 진단, 및 생물학적 활성 또는 성질의 평가를 위한 및 장비/장치의 조합물을 의미한다. 키트는 선택적으로 사용 지침서를 포함한다.
- [0235] 본원에 사용된 바와 같이, 세포 추출물 또는 용해물(lysate)은 용해되거나 또는 파괴된 세포로부터 만들어진 제제 또는 분획을 지칭한다.
- [0236] 본원에 사용된 바와 같이, 동물은 임의의 동물, 예컨대, 인간, 고릴라 및 원숭이를 포함한 영장류; 마우스 및 랫트와 같은 설치류; 닭과 같은 가금류; 염소, 소, 사슴, 양과 같은 반추동물; 돼지 및 다른 동물을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 비-인간 동물은 고려되는 동물로서 인간을 배제한다. 본원에서 제공되는 히알루로니다아제는 임의의 출처, 동물, 식물, 원핵 및 진균(fungal) 유래이다. 대부분 히알루로니다아제들은 포유동물 기원을 포함한 동물 기원이다. 일반적으로 히알루로니다아제는 인간으로부터 기원된다.
- [0237] 본원에 사용된 바와 같이, 항암 치료는 암을 치료하기 위한 약물 및 다른 제제의 투여와, 또한 치료 프로토콜, 예컨대 외과적 수술이나 방사선을 포함한다. 항암치료는 항암제의 투여를 포함한다.
- [0238] 본원에 사용된 바와 같이, 항암제는 항암치료에 사용되는 임의의 제제 또는 화합물을 지칭한다. 이들은 다른 화합물과 단독 또는 조합으로 사용될 때, 종양 또는 암과 관련된 임상적 증상 또는 진단 마커를 완화, 감소, 개선, 예방, 또는 차도에 놓이게 하거나 유지시킬 수 있는 임의의 약물을 포함하며, 본원에서 제공되는 조합물 및 조성물에서 이용될 수 있다. 예시적인 항암제는 단독으로 또는 기타 항암제, 예컨대 화학치료제, 폴리펩티드, 항체, 펩티드, 소분자 또는 유전자 치료 벡터, 바이러스 또는 DNA와 병용하여 이용되는 히알루로난-분해 효소, 예컨대 본원에서 제공되는 PEG화 히알루로난 분해 효소를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

- [0239] 본원에 사용된 바와 같이, 대조군은 시험 파라미터로 처리되지 않는다는 것을 제외하고는 시험 시료와 실질적으로 동일한 시료를 지칭하거나, 또는 만약 그것이 혈장 시료라면, 그것은 관심 있는 상태에 영향받지 않은 정상적 지원자 유래일 수 일 수 있다. 대조군은 또한 내부 대조군일 수 있다.
- [0240] 본원에 사용된 바와 같이, 단수 형태인 "하나의" "한" 및 "상기"는 문맥상 명백하게 달리 구별되지 않는다면 복수의 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어 "세포의 도메인"을 포함하거나 함유하는 화합물에 대한 언급은 하나 또는 복수의 세포의 도메인을 가지는 화합물을 포함한다.
- [0241] 본원에 사용된 바와 같이, 범위 및 양은 "약" 특정 값 또는 범위로서 표현될 수 있다. "약"은 또한 정확한 양을 포함한다. 따라서 "약 5개의 염기"는 "약 5개의 염기" 및 또한 "5개의 염기"를 포함한다.
- [0242] 본원에 사용된 바와 같이, "임의적인(선택적인)" 또는 "임의적으로(선택적으로)"는 그 다음에 기술되는 사건 또는 상황이 발생하거나 발생하지 않고, 그 기술이 사건 또는 상황이 발생하는 경우의 예 및 그것이 발생하지 않는 예를 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 선택적으로 치환된 기는 상기 기가 비치환되거나 또는 치환된 것을 의미한다.
- [0243] 본원에 사용된 바와 같이, 보호기, 아미노산, 및 다른 화합물에 대한 약어는 달리 기재되어 있지 않으면, 통상적인 사용법에 따라서 약어 또는 IUPAC-IUB 위원회 생화학 명명법으로 인식된다((1972), *Biochem.* 11:1726 참조).
- [0244] **B. 항-히알루로난 제제 병용 치료**
- [0245] 본원에서 제공되는 것은 암의 치료에서 사용하기 위한 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및 종양 표적 타산, 예컨대 알부민 결합된 파클리탁셀의 병용 치료이다. 예를 들어, 본원에서 제공되는 것은 암의 치료에서 사용하기 위한 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 히알루로니다아제, 예컨대 PEGPH20, 및 종양 표적-타산, 예컨대 알부민 결합된 파클리탁셀의 병용 치료이다. 특히, 본원에서 제공되는 병용 치료는 기질 층으로 인해 침투할 수 없는 고형 암으로 특징화되는 임의의 암의 치료에서 사용된다. 예시적인 상기 암은 고형 종양 암, 예컨대 췌장암, 유방암, 전립선암, 위암, 결장암, 난소암, 두경부암 및 기타를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 병용 치료는 예를 들어 하나 또는 둘의 항-히알루로난 제제, 예를 들어 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산에 의해 이의 활성이 증가되는(예를 들어, 증가된 전달 및/또는 증가된 반감기로 인한) 임의의 추가의 세포독성 화학치료제 약물을 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가의 화학치료제는 직접적인 항-종양 활성을 나타내는 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 젬시타빈 또는 이의 유도체일 수 있다.
- [0246] **1. 고형 종양 및 종양 표적 치료**
- [0247] 고형 종양은 세포의 기질 및 혈관 네트워크로 둘러싸여진 기질(stroma) 세포(예를 들어, 섬유아세포(fibroblast) 및 염증성 세포) 및 암세포로 구성된다. 상기 기질 세포, 세포의 기질(matrix) 구성성분 및/또는 맥관구조(vasculature)는 정상 조직에 존재하는 것과 비교하여 일반적으로 비정상적이다. 예를 들어, 많은 고형 종양은 정상 조직과 비교하여 섬유아세포의 수가 증가되어 있다. 또한, 고형 종양에서 맥관구조는 정상 맥관구조와 비교하여 분지형 또는 나선형 구조를 나타낼 수 있고, 팽창된 혈관, 혈관 내벽의 감소 및/또는 압축된 혈관으로 특징화되는 구조적 이상(aberration)을 나타낼 수 있다. 마지막으로, 상기 종양 및 기질 세포는 세포의 기질 구성성분, 예컨대 콜라겐, 프로테오글리칸, 글리코사미노글리칸 (예를 들어, 히알루로난) 및 고밀도 덩어리를 형성하는 기타 분자의 복잡한 네트워크를 생산 및 조립하고 높은 종양 간질 압력에 기여할 수 있다. 말단 세동맥 및 모세혈관에서 혈관내 압력보다 높은 간질 유체 압력은 간질(interstitium)로 유체 및 용질의 관류를 저해할 수 있다. 따라서, 높은 간질 압력은 치료제의 종양 조직으로 흡수를 방해할 수 있고, 또한 종양 세포 증식을 지원하는 종양 세포의 성장 성질에 영향을 미칠 수 있다.
- [0248] 효과적인 종양 치료를 위해, 약물은 종양 혈관에서 효과적으로 나가야하고 암 세포에 도달하기 위해 종양 조직을 침투해야 한다. 세포의 기질 및 관련된 세포의 고밀도 조성물 및 조직뿐 아니라 높은 간질 유체 압력은 약물 침투에 영향을 미친다. 상기 결과는 기질 장벽이 종종 항암 약물의 종양으로의 침투를 방지한다는 것이고, 이것은 많은 종래의 암 치료가 비효율적이게 한다.
- [0249] 예를 들어, 췌장암은 모든 고형 종양 암 중에 가장 비침습성이다. 결과적으로, 췌장 유관 선암종(pancreatic ductal adenocarcinoma)을 포함하는 췌장암은 종래 화학치료제에 선천적인 저항성에 의해 특징화되고, 5년 생존 비율이 5% 미만이다. 췌장암에 대한 표준 치료는 젬시타빈에 의한 치료이다. 젬시타빈은 환자의 생존을 증가시

키는데 제한적인 효과가 있다. 예를 들어, 젬시타빈 단독요법으로 치료되는 환자의 약 4분의 1만이 단지 5개월 이상의 중앙(median) 생존의 임상적 혜택을 나타내고, 이것은 화학치료제 플루오로우라실(fluorouracil)(5-FU)에 의한 치료보다 단지 일 개월이 더 길었다(Burris 외 (1997) *J Clin Oncol*, 15:2403-2413). 치료가 췌장암 수술 또는 기타 비-화학치료 어쥬번트 치료에 의해 또한 동반되는 어쥬번트(adjutant) 환경에서, 젬시타빈은 수술만을 했던 환자와 비교하여 2개월 생존을 증가시켰다(Neuhaus 외 (2008) *J. Clin. Oncol.* 26: May 20 suppl; abst.).

[0250] 최근에, 기질 층 및 관련된 맥관구조를 침투할 수 있는 치료제를 포함하는 치료가 개발되었다. 기질을 감소시키거나 구멍(hole)을 뚫거나 달리 기질을 침투할 수 있는 치료가 비투과성 기질 층에 의해 특징화되는 많은 암에 대한 유망한 치료제로 볼 수 있다. 상기 제제는, 예를 들어, 알부민--컨주게이션된 탁산 (Von Hoff 외 (2011) *J. Clin. Oncol*, 29:4548-54; Frese 외 (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269), 헤지호그(hedgehog) 억제제 (Olive 외 (2009) *Science*, 324:1457-61) 및 폴리머-컨주게이션된 히알루로니다아제 (Provenzano 외 (2012) *Cancer Cell*, 21:418-429)를 포함한다. 상기 치료의 각각은 또한 비-기질 표적 화학치료제의 증가된 전달과 연관되고, 화학치료제(예를 들어, 젬시타빈) 단독요법과 비교하여 향상된 항암 효과 및 두 배의 생존 시간을 초래한다.

[0251] a. 종양-표적 탁산

[0252] 탁산(Tanxane), 예컨대 파클리탁셀(paclitaxel)(예를 들어, 탁솔(Taxol)®) 및 도세탁셀(docetaxel)(예를 들어, 탁소테레(Taxotere)®)은 다수의 종양 유형의 치료에서 사용하기 위한 강력한 화학치료제이다. 탁산은 미세소관에 높은 친화력으로 결합함으로써 유사분열 억제제로서 작용을 하고, 이에 따라 세포 분열을 방해한다. 상기 결과는 탁산이 종양 세포 성장 및 전이를 방지하고, 세포 사멸을 일으킬 수 있다는 것이다. 탁산의 치료적 용도는 가용성 및 관련 독성, 장기간 전신적 유용성(systemic availability) 및 종양 기질에 도달불능(inaccessibility)의 문제에 의해 제한되어 왔다.

[0253] 탁산의 치료적 용도와 관련된 문제를 극복하기 위해, gp60 수용체 표적 나노입자 약물 제형이 탁산의 알부민 결합 입자 형태를 이루어 개발되었다. 이들은 예를 들어, 나노입자 알부민-결합(nab)-파클리탁셀 (ABI-007, 예를 들어, 아브락산(Abraxane)®) 및 나노입자 알부민-결합 도세탁셀 (ABI-008)을 포함한다. Gp60은 혈관 내피상의 알부민 수용체이다. gp60을 통한 알부민 수용체-매개 흡수는 세포내 카베올린-1(caveolin-1)과 연합을 초래하여, 세포외 공간 트랜스사이토시스(transcytosis), 및 카베올라(caveolae) 성분의 혈관 밖 퇴적(extravascular deposition)으로부터 결합한 혈장 구성성분을 포함하는 트랜스사이토시스 베지클(vesicle)(카베올라라고 지칭됨)을 형성하는 세포막의 함입으로 이어진다. 게다가, 알부민은 또한 다양한 암에서 불량한(poor) 예후와 관련된 과발현된 세포외 기질 당단백질인, SPARC(산성 및 시스테인 풍부 분비된 단백질, secreted protein acid and rich in cysteine)에 결합한다. 상기 결과는 약물 전달에 대한 기질 장벽이 회피되고, 약물의 더 높은 종양내 농도가 달성된다는 것이다. Nab-파클리탁셀은 종래의 용매-기반의 파클리탁셀과 비교하여 더 높은 종양내 농도 및 증가된 생체이용률을 달성할 수 있다(Foote (2007) *Biotechnology Annual Review*, 13:345).

[0254] 종양-표적 탁산, 예컨대 알부민-컨주게이션된 탁산이 기질(stroma)을 투과시키고 감소시키거나 붕괴 되게 할 수 있기 때문에, 상기 제제는 종양으로 다른 제제의 전달을 향상시키도록 다른 비-기질 표적 화학치료제와 병용하여 사용될 수 있다. 향상된 전달에 대한 기전은 증가된 관류 및 화학치료제의 전달로 이어지는 기질 구조의 파괴 및 반응성 혈관신생의 유도에 기인한다(예를 들어, Frese 외 (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269 참조). 예를 들어, 연구들은 젬시타빈과 병용한 알부민-컨주게이션된 탁산인 nab-파클리탁셀이 젬시타빈 단독으로 치료와 비교하여 종양에서 젬시타빈의 양이 거의 2.8 배 향상되었음을 보여주었다(Von Hoff 외 (2011) *J. Clin. Oncol.*, 29:4548- 4554). 상기 결과는 또한 병용 치료가 췌장암을 가진 환자의 생존 시간을 두 배로 한 것을 보여주었다(Von Hoff 외 (2011)).

[0255] nab-파클리탁셀 치료와 병용한 젬시타빈의 향상된 종양내 양에 대한 기전은 더욱 최근에는 nab-파클리탁셀 처리군에서 시티딘 탈아미노 효소 (Cda)의 감소와 관련된 독립적인 기전의 탓으로 여겨졌다(Frese 외 (2012) *Cancer Discovery* 2:260-269). Cda는 세포 내 어디에나 발현되고, 대사물질 디플루오로데옥시유리딘(difluorodeoxyuridine)(dFdU)으로 탈아미노화에 의해 젬시타빈을 불활성화할 수 있다. nab-파클리탁셀 처리는 반응성 산소 종(ROS)을 증가시켰고, 이것은 mRNA 수준의 임의의 조절 없이 Cda의 분해(degradation)로 이어졌다. 따라서, nab-파클리탁셀과 공동-치료는 젬시타빈의 탈아미노화의 감소를 초래하고, 이에 따라 젬시타빈을 안정화시켜서 종양내 젬시타빈의 수준의 상승으로 이어진다.

b. 항-히알루로난 제제

[0256]

[0257]

항-히알루로난 제제는 히알루론산(HA; 또한 본원에서 히알루로난으로 지칭됨)의 합성을 방해하거나 그것의 분해를 증가시킴에 의해 히알루론산을 감소시킨다. 예를 들어, 히알루로난-분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제 효소는 히알루론산을 방해하거나 분해하는 효소이다. 히알루로난은 고형 종양의 세포의 기질의 주요한 구성성분이다. HA는 반복되는 이당류 단위체인 β -1,3 N-아세틸-D-글루코사민-결합된(linked) β -1,4 투(to) D-글루쿠론산을 반복하여 포함하는 고분자량 선형의 글리코사미노글리칸이다. HA는 생체에서 자연적으로 발생하고 체장 암세포를 포함하는 일부 암세포에 매우 높은 수준으로 분비된다. HA 대사의 국소 이상(aberration)이 많은 고형 종양 악성에서 보고되어 왔고, 여기서 HA의 상승된 수준은 종양 예컨대 유방, 위, 대장, 난소, 전립선 및 폐 암종(carcinoma)에서 불량한 예후와 자주 관련된다.

[0258]

HA는 질환 조직, 예컨대 종양에서 증가된 물 흡수 및 간질 유체 압력(IFP)과 관련되고, 이에 따라 압축된 종양 맥관구조(vasculature)를 초래한다. 예를 들어, 염증 부위 또는 종양 병소(focus)에서, 히알루로난, 기타 기질 구성성분 및 물의 신속한 축적이 있다. 상기 신속한 축적 때문에, 질환 부위는 그의 환경과 평형이 될 수 없고 따라서 정상 조직보다 높은 간질 유체 압력을 갖는다. 상술한 바와 같이, 대부분의 고형 종양 및 축적된 HA와 관련되는 기타 질환 조직의 IFP가 상승되고, 효율적인 약물 전달의 장벽으로 작용한다(Heldin 외 (2004) *Nat Rev Cancer* 4(10):806-813). HA 축적은 또한 종양 세포 사이 및 중에 접촉 억제제를 감소시킨다(예를 들어, Itano 외 (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99:3609-3614 참조).

[0259]

HA 합성을 억제하거나 히알루로난을 분해하는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 예를 들어, 히알루로니다아제(예를 들어, PH20)는 히알루로난을 감소시켜서 조직을 수축시키고, 혈관을 확장시키고, 더욱 혈액이 부위를 통해 흐를 수 있도록 한다. 이것은 조직 부위에서 간질 유체 압력의 감소 및 혈관 관류에서 관련된 증가를 초래한다. 예를 들어, 히알루로니다아제는 증가된 종양 침투를 가능하게 하여 종양으로부터 HA를 제거하여 종양 부피를 감소시키고, 종양내 간질 압력을 감소시키고, 종양 세포 증식을 둔화(slowing)시키고, 그리고 병용 투여된 화학치료 약물 및 생물학적 제제의 향상된 효율을 초래하는 것을 보여주었다(예를 들어, 미국 출원 공개번호 제20100003238호 및 국제출원 공개번호 WO 2009/128917호 참조).

[0260]

전신적 치료를 위한 히알루로니다아제, 예컨대 PH20 효소의 사용은 효소의 짧은 반감기와 관련된 문제를 앓고 있다. 예를 들어, 비변형된 히알루로니다아제는 전형적으로 혈액에서 수분, 일반적으로 5분 미만의 짧은 반감기의 효소적 활성을 갖는다. 이는 상기 효소가 일반적으로 정맥 투여, 및 작용의 지속이 짧은 수명인 기타 투여에 적합하지 않다는 의미이다. 이것은 분해에 따라, HA 기질이 약 5시간의 반감기로 바뀌기 때문이다. 반면에, 전달을 증가시키고 그리고/또는 세포 관련된 히알루로난(예를 들어, 종양 관련된 세포주위(pericellular) 히알루로난)과 히알루로니다아제의 연합을 연장시키는 방법은 HA가 풍부한 종양의 치료를 허용한다. 상기 방법은 폴리머에 효소의 컨주게이션(conjugation), 탈글리코실화(aglycosylated) 또는 감소된 글리코실화를 갖도록 변형된 효소의 사용, 효소의 지속적 주입 및/또는 효소의 국소 전달을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 히알루로니다아제의 폴리머-변형, 예컨대 PEG화(PEGylation)에 의한 변형은 효소의 반감기를 약 48 내지 72 시간으로 증가시키고 HA 풍부한 종양의 전신 치료를 허용한다(예를 들어, 미국 출원 공개번호 제20100003238호 및 국제출원 공개번호 WO 2009/128917호 참조). 비변형된 히알루로니다아제에 관한 증가된 반감기는 HA의 계속된 제거를 허용하고, 이에 따라 질환 조직, 예컨대 종양 내 HA의 재생의 정도를 감소시키거나 감소하게한다. 따라서, 폴리머 컨주게이션에 의한 혈장 효소 수준의 유지는 HA, 예컨대 종양 HA를 제거하고, 또한 HA 재합성을 방해한다.

[0261]

또한, 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로니다아제 또는 PH20, 예를 들어 PEGPH20은 HA를 분해함으로써 암세포를 둘러싸는 기질을 감소시킬 수 있다. 상기 제제는 비-기질 표적 화학치료제, 예컨대 켄시타빈의 전달을 향상시키기 위해 종양의 치료를 위한 단일 제제 치료 또는 병용 치료에서 사용될 수 있다. 체장암을 가진 환자의 임상 시험의 결과는 또한 켄시타빈과 병용한 PEGPH20 치료가 켄시타빈 단독의 치료와 비교하여 생존기간을 거의 두 배로 함을 보여준다(Provenzano 외 (2012) *Cancer Cell*, 21:418-429).

[0262]

2. 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 탁산 병용 치료

[0263]

본원에서 적어도 두 개의 다른 기질 또는 종양 표적 치료제를 포함하는 병용 치료는 단일 기질 표적 제제보다 더 큰 효능을 나타내는 것으로 보인다. 예를 들어, 본원에서 HA 수준을 감소시키기에 충분한 시간 동안 종양에 세포주변(pericellular) HA에 도달할 수 있는 종양-표적 탁산 및 항-히알루로난 제제, 특히 항-히알루로난 제제와의 병용 치료는 어느 하나만의 단독 치료와 비교하여 증가된 효능을 나타내는 것으로 보인다. 예를 들어, 종

양-표적 타산 및 폴리머-컨주게이션된 히알루로니다아제의 병용 치료는 단일 제제 치료와 비교하여 25% 초과
효능의 증가를 초래한다. 비-기질 표적 화학치료 약물 켄시타빈과의 추가 병용에서, 예시적인 암의 중앙
(median) 생존은 켄시타빈만의 치료와 비교하여 췌장암의 마우스 모델에서 79%로 증가하였고 단일 기질 표적 제
제만을 포함하는 기존 치료와 비교하여 30% 이상 증가하였다. 상기 효능의 증가는 기존 치료와 비교하여 췌장암
및 비침투성 기질로 특징화되는 기타 암을 가진 환자의 생존에 상당한 향상으로 해석될 수 있다.

[0264] 따라서, 본원에서 제공되는 것은 고형 종양 기질 암의 치료를 위한, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분
해 효소 또는 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 (예를 들어, 히알루로니다아제 또는 PH20), 및 종양-
표적 타산, 예컨대 알부민 결합-타산을 포함하는 병용 치료를 사용하는 방법이다. 예를 들어, 상기 병용 치료는
췌장암, 유방암, 전립선암, 위암, 결장암, 결장직장암, 폐암, 난소암 및 기타의 치료를 위해 사용될 수 있다.
항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 (예를 들어, 히알루로니다아제 또는
PH20), 및 종양-표적 타산 (예를 들어, 알부민 결합-타산)을 포함하는 조성물이 조합물에서 별도로 제공되거나
단일 조성물로 제공될 수 있다. 별도로 제공되고 투여되는 경우, 상기 제제는 임의의 순서로 동시에 또는 거의
동시에, 순차적으로 또는 간헐적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제, 예를 들어, 폴리머-컨주
게이션된 히알루로난-분해 효소 (예를 들어, 히알루로니다아제 또는 PH20) 및 종양-표적 타산 (예를 들어, 알부
민 결합 타산)이 별도로 투여될 수 있고, 여기서 이들은 거의 동시에 투여되거나 수시간 또는 수일 떨어져서 투
여될 수 있다. 상기 주사 부위는 동일하거나 상이할 수 있다. 다르다면, 상기 주사 부위는 첫 번째 투여된 제제
의 주사 부위 근처일 수 있다.

[0265] 종양-표적 제제의 조합물은 고형 종양 기질 암을 치료하기 위해 함께 사용될 수 있거나, 기타 화학치료제 또는
치료와 추가적으로 병용하여 사용될 수 있다. 특정 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된
히알루로난-분해 효소 (예를 들어, 히알루로니다아제 또는 PH20), 및 종양-표적 타산 (예를 들어, 알부민 결합-
타산)의 조합이 화학치료제와 추가 병용하여 사용된다. 기타 제제가 기질 또는 비-기질 표적 제제일 수 있다.
전형적으로 기타 제제는 직접적으로 항종양 활성을 나타내는 비-기질 세포독성 제제이다. 예를 들어, 추가의 화
학치료제는 세포독성 제제, 예컨대 백금 (시스플라틴(cisplatin) 또는 카보플라틴(carboplatin)), 파클리탁셀,
켄시타빈, 도세탁셀, 비노렐빈(vinorelbine), 이리노테칸(irinotecan), 및 페메트렉세드(pemetrexed)일 수 있
다. 전형적으로, 추가의 화학치료제는 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 켄시타빈이다. 상기 추가 치료 또는 제제는
항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 (예를 들어, 히알루로니다아제), 및/또
는 종양-표적 타산 (예를 들어, 알부민 결합-타산) 병용 치료로 별도로 또는 함께 투여될 수 있다. 추가 제제는
조합하여 별도로 투여되거나 단일 조성물로 제공될 수 있다. 별도로 제공되고 투여된다면, 추가 제제는 항-히알
루로난 제제 및/또는 알부민 결합-타산 병용 치료와 함께 임의의 순서로 동시에 또는 거의 동시에, 순차적으로
또는 간헐적으로 투여될 수 있다. 전형적으로, 추가 제제의 향상된 전달을 달성하기 위해, 추가 제제는 항-히알
루로난 제제 및/또는 알부민 결합-타산 병용 치료의 투여 후에 투여된다. 추가 화학치료제의 향상된 전달 및 반
감기로 인해, 기존 투여량 요법과 비교하여 추가 제제의 투여량이 감소될 수 있고 그리고/또는 투여의 빈도가
감소될 수 있다. 상기 결과는 본원에서 제공되는 병용치료가 그의 투여 단독 또는 항-히알루로난 제제, 예를 들
어 히알루로난-분해 효소, 또는 종양-표적 타산 단독 중 어느 하나의 그의 투여와 비교하여 병용-투여된 추가
치료제(예를 들어, 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 켄시타빈)의 감소된 부작용을 초래할 수 있는 것이다.

[0266] 다음 섹션은 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하는 예시적인 항-히알루로난 제제, 종양-표적
타산 및 본원에서 제공되는 병용 치료에서 사용을 위한 기타 예시적인 비-제한적 화학치료제를 기술한다. 기질
고형 종양 암의 예시적인 투여량 요법 및 방법이 또한 기술된다.

[0267] C. 병용 치료 제제

[0268] 본원에서 제공되는 것은 암의 치료에서 사용하기 위한, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및
종양-표적 타산, 예컨대 알부민 결합-파클리탁셀의 병용 치료이다. 특히, 본원에서 제공되는 것은 암의 치료에
서 사용하기 위한, 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 히알루로니다아제, 예컨대 PEGPH20,
및 종양 표적-타산, 예컨대 알부민 결합-파클리탁셀의 병용 치료이다. 특히, 본원에서 제공되는 상기 병용 치료
는 세포외 기질(matrix)에서 HA로 인한 비침투성 고형 종양으로 특징화되는 임의의 암의 치료에 사용된다. 예시
적인 상기 암은 고형 종양 암, 예컨대 췌장암, 유방암, 전립선암, 위암, 결장암, 난소암, 두경부암 및 기타를
포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 병용 치료는 예를 들어 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포
함하는 항-히알루로난 제제, 및/또는 종양-표적 타산의 하나 또는 둘 다에 의해 이의 활성이 증가되는(예를 들
어, 증가된 전달 및/또는 증가된 반감기로 인한) 임의의 세포독성 화학치료 약물을 더 포함할 수 있다. 예를 들
어, 상기 추가의 화학치료제는 직접적인 항-종양 활성을 나타내는 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 켄시타빈 또는

이의 유도체일 수 있다.

[0269] **1. 항-히알루로난 제제**

[0270] 본원에서 제공되는 조합물 및 방법을 포함하는 병용 치료 및 이의 사용은 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소, 예를 들어, 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함한다. 상기 항-히알루로난 제제는 그것의 표적에 도달하도록 투여될 수 있는 것이고, 특히 상승된 세포주위(pericellular) HA를 포함하는 종양 세포에 도달한다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소는 지속적 주입에 의해 투여될 수 있거나 국소 주사될 수 있고, 폴리머로 변형될 수 있거나, 또는 탈글리코실화되거나 탈글리코실화되거나 감소된 글리코실화를 갖도록 변형된 것이다. 일 예에서, 제공되는 조성물 및 조합물은 전형적으로, 히알루로난-분해 효소의 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어, 대상체에서 연장된/지연된 치료 효과를 촉진하기 위해 하나 또는 그 이상의 폴리머 분자(폴리머)에 컨주게이션에 의해 변형된 히알루로난-분해 효소, 특히 히알루로니다아제, 예컨대 가용성 히알루로니다아제 (예를 들어, PH20 또는 말단절단된 PH20)을 포함한다.

[0271] 히알루로난은 세포외 기질(matrix)의 성분 및 간질성 장벽의 주성분이다. 히알루로난의 가수분해를 촉매함으로써, 히알루로난 분해 효소는 히알루로난의 점성을 낮추고, 이에 따라 조직 투과성을 증가시키고 비경구 투여된 유체의 흡수 비율을 증가시킨다. 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제를 포함하는 그러한, 항-히알루로난 제제는 다른 제제, 약물 및 단백질과 함께 사용되어, 예를 들어 그들의 분산 및 전달을 증가시키기 위한 분산제 또는 산포제로서 사용된다.

[0272] 항-히알루로난 제제는 그의 합성을 방해하거나 그의 분해를 증가시킴에 의해 히알루론산 (HA; 또한 본원에서 히알루로난으로 지칭됨) 수준을 감소시킨다. 예를 들어, 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제는 히알루론산 (HA)을 방해하고 분해한다. 히알루로난 합성을 분해하거나 억제하는 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소로 치료는 히알루로난을 감소시켜서 조직을 감소시키고, 혈관을 확장하고, 더 많은 혈액이 부위를 통해 흐르도록 한다. 예시적인 상기 항-히알루로난 제제는 히알루로난 합성을 억제하거나 히알루로난을 분해하는 제제이다.

[0273] **a. 히알루로난 합성을 저해하는 제제**

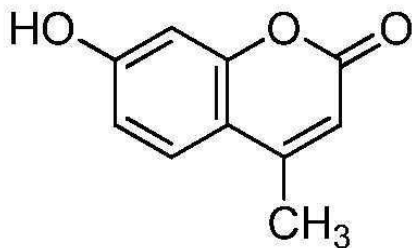
[0274] 항-히알루로난 제제는 히알루로난 합성을 억제하는 제제, 예컨대 HA 생성효소 (synthase), HA 합성 억제제 및 티로신 키나제 억제제의 발현을 억제하거나, 감소시키거나 또는 하향조절하는 제제를 포함한다.

[0275] HA는 *has-1*, *has-2* 및 *has-3*로 표기되는, HA 생성 효소 (synthase)로 확인되는 세 개의 관련된 포유류 유전자의 산물인 세 개의 효소에 의해 합성될 수 있다. 다른 세포 유형은 다른 HAS 효소를 발현하고 HAS mRNA의 발현은 HA 생합성과 관련이 있다. 종양 세포에서 침묵(silencing) HAS 유전자는 종양 성장 및 전이를 억제하는 것으로 알려져 있다. 항-히알루로난 제제는 HA 생성 효소 (synthase)의 발현 또는 수준을 억제하거나, 감소시키거나 하향조절하는 임의의 제제를 포함한다. 상기 제제는 당해 기술분야 당업자에게 공지되어 있거나 확인될 수 있다.

[0276] 예를 들어, HAS의 하향 조절은 HAS를 암호화하는 하나 또는 그 이상의 핵산 분자들과 특이적으로 혼성화하거나 달리 상호작용을 하는 올리고뉴클레오티드를 제공함으로써 성취될 수 있다. 예를 들어, 히알루로난 합성을 억제하는 항-히알루로난 제제는 *has* 유전자에 대한 안티센스 또는 센스 분자를 포함한다. 상기 안티센스 또는 센스 억제는 전형적으로 수소결합에 기초한 올리고뉴클레오티드 가닥 또는 분절의 혼성화에 기반으로하며, 적어도 하나의 가닥 또는 분절이 절단되거나, 분해되거나, 그렇지 않으면 작동불능이 되게한다. 다른 예에서, 번역후 유전자 침묵(post-transcriptional gene silencing, PTGS), RNAi, 리보자임 및 DNA자임이 적용될 수 있다. HAS1(서열번호 195에 기재됨), HAS2(서열번호 196에 기재됨) 또는 HAS3(서열번호 197 또는 198에 기재됨)의 서열에 기초한 상기 구축물을 생성하는 것은 당해 기술분야의 당업자의 수준의 범위 내에 있다. 안티센스 또는 센스 화합물이 특이적으로 혼성화할 수 있는 표적 핵산과 100% 상보적일 필요가 없다는 것은 당해 기술분야에서 이해될 수 있다. 게다가, 올리고뉴클레오티드는 하나 또는 그 이상의 분절과 혼성화될 수 있어, 개입 분절 또는 인접 분절은 혼성화 사례(예를 들어, 루프 구조 또는 헤어핀 구조)에 관련되지 않는다. 일반적으로, 안티센스 또는 센스 화합물은 표적 핵산 내의 표적 영역에 적어도 70%의 서열 상보성을 가지고, 예를 들어, 75% 내지 100%, 예컨대 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%의 상보성을 가진다. 예시적인 센스 또는 안티센스 분자는 당해 기술분야에 공지되어 있다(예를 들어, Chao 외 (2005) *J. Biol. Chem.*, 280:27513-27522; Simpson 외 (2002) *J. Biol. Chem.*, 277:10050-10057; Simpson 외 (2002) *Am. J. Path.*, 161:849; Nishida 외 (1999) *J. Biol. Chem.*, 274:21893-21899; Edward 외 (2010) *British J Dermatology*, 162:1224-1232; Udabage 외 (2005) *Cancer Res.*, 65:6139; 및 미국 출원 공개번호 US20070286856호 참조).

[0277] HA 합성 억제제인 다른 예시적인 항-히알루로난 제제는 4-메틸움벨리페론(4-Methylumbelliferone, 4-MU; 7-하이드록시-4-메틸쿠마린(7-hydroxy-4-methylcoumarin)) 또는 이의 유도체이다. 4-MU는 HA 합성에 필수적인 UDP-GlcUA 전구체 풀(pool)을 감소시킴으로써 작용한다. 예를 들어, 포유류 세포에서, HA는 UDP-글루쿠론산(UGA) 및 UDP-N-아세틸-D-글루코사민 전구체를 사용하여 HAS에 의해 합성된다. 4-MU는 UGA가 생산되는 과정을 방해하여, 이에 따라 세포내 UGA 풀을 대폭 감소시켜서 HA 합성을 억제해 준다. 4-MU는 항암 활성을 가진 것으로 알려져 있다(예를 들어, Lokeshwar 외 (2010) *Cancer Res.*, 70:2613-23; Nakazawa 외 (2006) *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 57:165-170; Morohashi 외 (2006) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 345-1454-1459 참조). B16 흑색종 모델에서 600 mg/kg/일로 4-MU의 경구투여가 전이를 64%까지 감소시킨다(Yoshihara 외 (2005) *FEBS Lett.*, 579:2722-6). 4-MU의 구조는 하기에 기재되어 있다. 또한, 4-MU의 유도체는 항암 활성을 나타내는데, 특히 6,7-디하이드로지-4-메틸 쿠마린 및 5,7-디하이드록시-4-메틸 쿠마린이 그렇다(예를 들어, Morohashi 외 (2006) *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 345-1454-1459 참조).

[0278] 4-메틸움벨리페론(4-MU; $C_{10}H_8O_3$)



[0279]

[0280] 또 다른 예시적인 항-히알루로난 제제는 레플루노마이드(Leflunomide) (아라바, Arava), 제니스테인(genistein) 또는 에르브스타틴(erbstatin)과 같은 타이로신 키나제 억제제이다. 레플루노마이드는 또한 피리미딘 합성 억제제이기도 하다. 레플루노마이드는 류마티스성 관절염(RA) 치료 약물로 알려져 있으며, 이종이식(xenograft)뿐만 아니라 동종이식(allograft)에 대한 거부반응 치료에도 효과적이다. HA는 직접적 또는 간접적으로 HA에 기여하는 것으로 알려져 있다(예컨대 Stuhlmeier (2005) *J Immunol.*, 174:7376-7382 참조). 타이로신 키나제 억제제는 *HAS1* 유전자 발현을 억제한다(Stuhlmeier 2005).

[0281] **b. 히알루로난-분해 효소 및 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소**

[0282] 항-히알루로난 제제는 히알루로난 분해 효소를 포함한다. 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제는 히알루로난을 분해하는 효소 패밀리이고, 상기 히알루로난은 세포외 기질(matrix)의 필수적인 성분이고 간질 장벽의 주성분이다. 히알루로난 분해효소는 히알루로난 폴리머를 절단함으로써 히알루로난을 분해하도록 작용하고, 상기 폴리머는 교대하는 β -1 $\rightarrow$ 4 및 β -1 $\rightarrow$ 3 글리코시드 결합을 통하여 함께 연결된, 반복되는 이당류 단위인, D-글루쿠론산(GlcA) 및 N-아세틸-D-글루코사민(GlcNAc)으로 구성되어 있다. 히알루로난 쇠(chain)는 길이가 약 25,000 이당류 반복(repeats) 또는 그 이상에 달하고, 히알루로난의 폴리머는 생체 내(in vivo) 크기가 약 5,000 내지 20,000,000Da 범위에 이를 수 있다. 기질 장벽의 주요한 구성요소인 히알루로난의 가수분해를 촉매함으로써, 히알루로난 분해 효소는 히알루로난의 점도를 낮추어, 조직 투과성을 증가시킨다.

[0283] 따라서, 상기 제공되는 조합물, 용도 및 방법을 위한 히알루로난 분해 효소는 히알루로난 이당류 쇠 또는 폴리머의 절단을 촉매하는 능력을 가진 임의의 효소를 포함한다. 일부 예에서 상기 히알루로난 분해 효소는 히알루로난 쇠 또는 폴리머에서 β -1 $\rightarrow$ 4 글리코시드 결합을 절단한다. 다른 예에서, 상기 히알루로난 분해효소는 히알루로난 쇠 또는 폴리머에서 β -1 $\rightarrow$ 3 글리코시드 결합의 절단을 촉매한다.

[0284] 히알루로난-분해 효소는 히알루로난을 절단하는 능력을 가진 기타 효소, 예컨대 콘드로이티나아제(chondroitinase) 및 리아제뿐만 아니라, 히알루로니다아제를 포함한다. 더 나아가, 히알루로난-분해 효소는 또한 세포로부터 발현되고 분비될 수 있는 이의 가용성 형태를 또한 포함한다. 하기 기술하는 바와 같이, 히알루로난-분해 효소는 막 결합 또는 세포로부터 분비되는 가용성 형태로 존재한다. 본원의 목적을 위해, 가용성 히알루로난-분해 효소가 본원에서의 조합물에서의 용도, 방법 및 용도를 위해 제공된다. 그러므로, 히알루로난-분해 효소는 글리코실포스파티딜이노시톨 (GPI) 앵커를 포함하고 그리고/또는 그렇지 않으면 막-앵커 고정되고 또는 불용성인, 상기 히알루로난 분해 효소는 효소가 분비되고 가용성이 되도록 GPI 앵커의 말단절단 또는 절실에 의해 형성되는 가용성 형태로 제공된다. 따라서, 히알루로난-분해 효소는 말단 절단된 변이체, 예를 들어, GPI 앵커의 부분 또는 전부를 제거하도록 말단절단된 변이체를 포함한다. 예시적인 상기 가용성 히알루로니다아제는

가용성 PH20 히알루로니다아제, 예컨대 미국 특허번호 제7,767,429호; 미국 공개번호 US20040268425호 또는 US20100143457호에 기재된 임의의 것이다.

[0285] 본원에서 제공되는 히알루로난-분해 효소는 또한 임의의 히알루로난-분해 효소, 예컨대 임의의 히알루로니다아제 또는 가용성 히알루로니다아제, 예를 들어 당해 기술분야 당업자에게 공지되거나 본원에 기술된 PH20을 포함한다. 예를 들어, 히알루로난 분해 효소는 그의 1차 서열에 하나 또는 그 이상의 변이, 예컨대 아미노산 치환, 부가 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 히알루로난-분해 효소의 변이체는 일반적으로 변이를 포함하지 않는 히알루로난-분해 효소와 비교할 때 적어도 약 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타낸다. 상기 효소는 히알루로니다아제 활성, 예컨대 상기 변이를 포함하지 않는 히알루로난 분해 효소의 활성의, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 이상의 활성을 유지한다면(당해 기술분야에 널리 공지되어 있고, 본원에 기재되어 있는 시험관내 및/또는 생체내 검정으로 측정된 바와 같은), 본원에서의 목적을 위해, 임의의 변이가 히알루로난 분해 효소에 포함될 수 있다. 예를 들어, 폴리머에 컨주게이션될 수 있는 것을 포함하는, 예시적인 히알루로난-분해 효소는 서열번호 2, 4 내지 9, 47, 48, 150 내지 170, 183 내지 189 및 199 내지 210의 어느 하나에 기재된 임의의 것, 또는 서열번호 2, 4 내지 9, 47, 48, 150 내지 170, 183 내지 189 및 199 내지 210의 임의의 것과 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 서열 동일성을 나타내는 임의의 것이다.

[0286] 히알루로니다아제를 포함하는 여러가지 형태의 히알루로난 분해 효소가, 인간을 포함하는 대상체에서의 치료 용도를 위해 제조 및 승인되었다. 예를 들어, 동물-유래된 히알루로니다아제 제제는 정제된 양 고환 히알루로니다아제인 비트라아제(Vitraxe)®(ISTA Pharmaceuticals), 소 고환 히알루로니다아제인 암파다아제(Amphadase)®(Amphastar Pharmaceuticals), 및 소 고환 히알루로니다아제인 히다제™(Prima Pharm Inc.)를 포함한다. 하일렉스(Hylenex)®(Halozyme Therapeutics)는 rHuPH20으로 명명된, PH20의 가용성 형태를 암호화하는 핵산을 포함하는 유전적으로 조작된 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에 의해 생산된 인간 재조합 히알루로니다아제이다(예를 들어, 미국 공개번호 US20040268425; 미국 특허번호 7,767,429 참조). 본원에서 제공되는 조합물, 방법 및 용도에는 임의의 히알루로니다아제 제제가 사용될 수 있는 것으로 이해될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허번호 제2,488,564호, 제2,488,565호, 제2,676,139호, 제2,795,529호, 제2,806,815호, 제2,808,362호, 제5,747,027 및 제5,827,721호 및 국제 출원 공개번호 W02005/118799호; 미국 출원 공개번호 US20040268425호; 미국 특허번호 제7,767,429호; 또는 본원에서 제공되는 임의의 것 참조.

[0287] 본원에서 제공되는 조합물 및 방법에서 사용을 위한 예시적인 히알루로난-분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제 효소 또는 가용성 히알루로니다아제 효소, 예를 들어 PH20의 비제한적인 설명이 하기에 기술된다. 일반적으로, 상기 히알루로난-분해 효소는 폴리머에 컨주게이션된 것을 포함한다.

[0288] i. 히알루로니다아제

[0289] 히알루로니다아제는 히알루로난 분해효소의 거대 패밀리의 일원이다. 히알루로니다아제에는 세가지의 일반적인 분류(class): 포유류 타입(type) 히알루로니다아제, 박테리아 히알루로니다아제, 및 거머리, 기타 기생충 및 갑각류 유래 히알루로니다아제가 있다. 기타 히알루로니다아제는 공지된 예컨대 말벌(서열번호 12 및 13), 꿀벌(서열번호 14), 흰열굴 호박벌(서열번호 15), 페이퍼 말벌(서열번호 16)이다. 임의의 상기 효소가 본원에서 제공되는 조성물, 조합물 및 방법에서 사용될 수 있다.

[0290] (a) 포유류 타입 히알루로니다아제

[0291] 포유류-타입 히알루로니다아제(EC 3.2.1.35)는 히알루로난의 β 1→4 글리코시드 결합을 다양한 길이의 올리고당류, 예컨대, 사당류(tetrasaccharide) 및 육당류(hexasaccharide)로 가수분해하는 엔도- β -N-아세틸-헥소사미니다제(endo- β -N-acetyl-hexosaminidase)이다. 상기 효소는 가수분해 및 트랜스글리코시다제(transglycosidase) 활성을 모두 가지며, 히알루로난 및 콘드로이틴 술페이트(CS), 일반적으로 C4-S 및 C6-S를 분해할 수 있다. 상기 타입의 히알루로니다아제는 젓소(소의)(서열번호 10, 11, 64, 203 및 204 및 서열번호 190 내지 192에 기재된 핵산 분자), 양(면양, *Ovis aries*)(서열번호 26, 27, 63 및 65, 서열번호 66 및 193 내지 194에 기재된 핵산 분자), 돼지(서열번호 20 내지 21), 마우스(서열번호 17 내지 19, 32, 205), 랫트(서열번호 22 내지 24, 31, 206), 토끼(서열번호 25, 207), 오랑우탄(서열번호 28), 사이노몰구스 원숭이(서열번호 29, 202), 기니피그(서열번호 30, 208), 침팬지(서열번호 101, 199, 200), 붉은털 원숭이(서열번호 102, 201), 여우(서열번호 209 및 210) 및 인간 히알루로니다아제(서열번호 1 내지 2, 36 내지 39) 유래의 것을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 히알루로니다아제는 PH20 히알루로니다아제를 포함한다. 또한, BH55 히알루로니

다아제는 미국 특허번호 제5,747,027호 및 제5,827,721호에 기술된 이러한 타입이다. 본원에서 제공되는 상기 조성물, 조합물 및 방법에서 히알루로니다아제의 예는 가용성 히알루로니다아제이다.

[0292] 포유류 히알루로니다아제는 고환 추출물에서 우세하게 발견되는, 중성 활성인 것들 및 간 등의 기관에서 우세하게 발견되는 산성 활성인 것들로 추가로 하위분류될 수 있다. 예시적인 중성 활성인 히알루로니다아제는 양(서열번호 27, 63 및 65), 소(서열번호 11 및 64) 및 인간(서열번호 1)과 같은 서로 다른 종 유래 PH20을 포함하나 이에 제한되지 않는 PH20을 포함한다. 인간 PH20 (또한 SPAM1 또는 정자 표면 단백질 PH20로도 알려짐)은 일반적으로 글리코실포스파티딜 이노시톨(GPI) 앵커를 통해 원형질막에 부착된다. 이는 정자-난자 부착에 자연적으로 관여하고, 히알루론산을 소화하여 정자의 난구세포 층의 침투를 돕는다.

[0293] 인간 PH20 (SPAM1로도 지칭됨)이외에도, 5 가지 히알루로니다아제-유사(like) 유전자, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 및 HYALP1가 인간 게놈에서 동정되었다. HYALP1 는 가상유전자(pseudogene)이고, HYAL3 (서열번호 38)은 임의의 공지된 기질에 대한 효소 활성을 보유하는 것으로 보이지 않았다. HYAL4 (서열번호 39 에 기재된 전구체 폴리펩티드)는 콘드로티나아제이고, 히알루로난에 대한 활성은 거의 나타내지 않는다. HYAL1 (서열번호 36에 기재된 전구체 폴리펩티드)은 원형(prototype)의 산성-활성 효소이고, PH20 (서열번호 1에 기재된 전구체 폴리펩티드)는 원형의 중성-활성 효소이다. 산성-활성 히알루로니다아제, 예컨대 HYAL1 및 HYAL2 (서열번호 37에 기재된 전구체 폴리펩티드)는 일반적으로 중성 pH (즉, pH 7)에서 촉매 활성이 결여되어 있다. 예를 들어, HYAL1은 pH 4.5를 초과해서는 시험관 내(in vitro)에서 촉매 활성이 거의 없다(Frost 외 (1997) *Anal. Biochem.* 251:263-269). HYAL2 는 시험관 내에서 매우 낮은 특이적 활성을 가진 산성-활성 효소이다. 히알루로니다아제-유사 효소는 또한, 글리코실포스파티딜 이노시톨 (GPI) 앵커를 통해 원형질막에 결합되어 있는 것, 예컨대 인간 HYAL2 및 인간 PH20 (Danilkovitch-Miagkova 외 (2003) *Proc Natl Acad Sci USA* 100(8):4580-5), 및 일반적으로 가용성인 것, 예컨대 인간 HYAL1 (Frost 외 (1997) *Biochem Biophys Res Commun.* 236(1):10-5) 을 특징으로 할 수 있다.

[0294] PH20

[0295] PH20은 기타 포유류 히알루로니다아제와 마찬가지로, 히알루론산의 $\beta 1 \rightarrow 4$ 글리코시드 결합을 여러 길이의 다당류, 예컨대 사탄당 및 육탄당으로 가수분해하는 엔도- β -N-아세틸-헥소사미니다아제이다. 이들은 가수분해성 활성 및 트랜스글리코시다아제 활성의 두가지를 모두 갖고 있으며, 히알루론산 및 콘드로이틴 술페이트, 예컨대 C4-S 및 C6-S를 분해할 수 있다. PH20은 본래 정자-난자 부착에 관련되고, 히알루론산 소화에 의해, 정자에 의한 난구세포층의 침투를 보조한다. PH20 은 정자 표면 및 리소좀-유도성 침체에 위치해 있으며, 여기서 내침체막에 결합되어 있다. 원형질막 PH20은 중성 pH에서만 히알루로니다아제 활성을 갖는 반면, 내침체막 PH20은 중성 및 산성 pH 모두에서 활성을 갖는다. 히알루로니다아제인 것 뿐 아니라, PH20은 또한 HA-유도성 세포 신호전달에 대한 수용체, 및 난자를 둘러싼 투명층에 대한 수용체인 것으로 나타난다.

[0296] 전구체 및 이의 성숙형 형태를 포함하는, 예시적인 PH20 단백질은 인간 (서열번호 1에 기재된 전구체 폴리펩티드, 서열번호 2에 기재된 성숙형 폴리펩티드), 침팬지 (서열번호 101, 199, 200), 붉은털 원숭이 (서열번호 102, 201), 소 (서열번호 11 및 64, 203, 204), 토끼 (서열번호 25, 207), 양 PH20 (서열번호 27, 63 및 65), 사이노물구스 원숭이 (서열번호 29, 202), 기니피그 (서열번호 30, 208), 랫트 (서열번호 31, 206) 및 마우스 (서열번호 32, 205) 및 여우 (서열번호 209 및 210) PH20 폴리펩티드를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0297] 소 PH20은 553 개 아미노산 전구체 폴리펩티드(서열번호 11) 이다. 소 PH20 와 인간 PH20의 정렬은 오직 약한 상동성만을 보여주는데, 소 폴리펩티드에서의 GPI 앵커의 부재로 인해, 아미노산 470 부터 각각의 카복시 말단 까지는 다중적인 갭들이 존재한다 (예를 들어, Frost GI (2007) *Expert Opin. Drug. Deliv.* 4: 427-440 참고). 사실, 명백한 GPI 앵커는 인간을 제외한 다수의 기타 PH20 종들에서는 예측되지 않는다. 따라서, 양 및 소에서 생산된 PH20 폴리펩티드는 본래 가용성 형태로 존재한다. 소 PH20은 원형질막에 매우 느슨하게 결합되어 존재함에도, 이는 포스포리파아제 감수성 앵커를 통해 앵커 고정되어 있지 않다(Lalancette 외 (2001) *Biol Reprod.* 65(2):628-36). 소 히알루로니다아제의 상기 독특한 특성은 임상 용도를 위한 추출물로서 가용성 소 고환 히알루로니다아제 효소의 이용을 가능하게 한다 (와이다제(Wydase)®, 히알라제(Hyalase)®).

[0298] 인간 PH20 mRNA 전사물은 일반적으로 번역되어 N-말단에 35 개의 아미노산 신호 서열 (아미노산 잔기 위치 1 내지 35) 및 C-말단에 19 개의 아미노산 글리코실포스파티딜이노시톨 (GPI) 앵커 부착 신호 서열 (아미노산 잔기 위치 491 내지 509)를 포함하는 509개의 아미노산 전구체 폴리펩티드(서열번호 1)를 생성한다. 따라서, 성숙형 PH20은 서열번호 2에 기재된 474 아미노산 폴리펩티드이다. 전구체 폴리펩티드의 ER로의 수송 및 신호 펩티드의 제거 후, C-말단 GPI-부착 신호 펩티드는 절단되어, 서열번호 1에 기재된 전구체 폴리펩티드의 위치 490에 상응

하는 아미노산 위치에서 새롭게 형성된 C-말단 아미노산에 대한 GPI 앵커의 공유결합성 부착을 촉진한다. 따라서, 서열번호 2에 기재된 아미노산 서열이 있는 474 개의 아미노산 GPI-앵커 고정된(anchored) 성숙형 폴리펩티드가 생산된다.

[0299] 인간 PH20은 중성 및 산성 pH의 모두에서 히알루로니다아제 활성을 나타낸다. 일 측면에서, 인간 PH20은 일반적으로 GPI 앵커를 통해 원형질막에 고정되어 있는 원형의 중성-활성 히알루로니다아제이다. 또 다른 측면에서, PH20은 중성 및 산성 pH에서 히알루로니다아제 활성을 갖는 내침체막 상에 발현된다. PH20가 폴리펩티드의 서로 떨어진 영역에 2 개의 촉매 부위를 포함하는 것으로 보인다: 펩티드 1 및 펩티드 3 영역(Cherr 외, (2001) *Matrix Biology* 20:515-525). 증거는, 서열번호 2 에 기재된 성숙형 폴리펩티드의 아미노산 위치 107 내지 137 및 서열번호 1 에 기재된 전구체 폴리펩티드의 위치 142 내지 172에 상응하는 PH20의, 펩티드 1 영역이 중성 pH에서의 효소 활성화에 필요하다는 것을 나타낸다. 상기 영역 내 위치 111 및 113의 아미노산(서열번호 2에 기재된 성숙형 PH20 폴리펩티드에 상응)은 활성화에 중요한 것으로 나타나는데, 이는 그의 아미노산 대체에 의한 돌연변이가, 야생형 PH20에 비해, 각각 3% 히알루로니다아제 활성을 갖거나 히알루로니다아제 활성이 검출되지 않는 PH20 폴리펩티드를 초래한다 (Arming 외, (1997) *Eur. J. Biochem.* 247:810-814).

[0300] 상기 펩티드 3 영역은, 서열번호 2 에 기재된 성숙형 폴리펩티드의 아미노산 위치 242 내지 262, 및 서열번호 1 에 기재된 전구체 폴리펩티드의 위치 277 내지 297에 상응하는데, 산성 pH에서의 효소 활성화에 중요한 것으로 보인다. 상기 영역 내에서, 성숙형 PH20 폴리펩티드의 위치 249 및 252에서의 아미노산은 활성화에 핵심적인 것으로 보이고, 이들 중 하나에서라도 돌연변이가 발생하면 활성이 본질적으로 없는 폴리펩티드를 초래한다(Arming 외, (1997) *Eur. J. Biochem.* 247:810-814).

[0301] 촉매 부위에 부가하여, PH20은 또한 히알루로난-결합 부위를 포함한다. 실험적인 증거는, 상기 부위가 펩티드 2 영역에 위치하고 있음을 나타내며, 이는 서열번호 1에 기재된 전구체 폴리펩티드의 아미노산 위치 205 내지 235 및, 서열번호 2에 기재된 성숙형 폴리펩티드의 위치 170 내지 200 에 상응한다. 상기 영역은 히알루로니다아제 중에 고도로 보존성이고, 해파린 결합 모티프와 유사하다. 위치 176 (서열번호 2에 기재된 성숙형 PH20 폴리펩티드에 상응)에서의 아르기닌 잔기의 글리신으로의 돌연변이는, 야생형 폴리펩티드의 히알루로니다아제 활성이 오직 약 1% 만 있는 폴리펩티드를 초래한다(Arming 외, (1997) *Eur. J. Biochem.* 247:810-814).

[0302] 서열번호 1 로 예시되는 인간 PH20의 폴리펩티드의 N82, N166, N235, N254, N368, N393 및 S490에는 N- 및 O-결합된(linked) 글리코실화 부위를 포함하는 7 개의 잠재적인 글리코실화 부위가 있다. 서열번호 1의 아미노산 36 내지 464는 최소 활성인 인간 PH20 히알루로니다아제 도메인을 포함하는 것으로 나타나기 때문에, 상기 S490에 글리코실화 부위는 적절한 히알루로니다아제 활성화에 필요하지 않다. 인간 PH20에는 6 개의 이황화 결합이 있다. 서열번호 1로 예시되는 폴리펩티드의 시스테인 잔기 C60 과 C351 사이, 및 C224 과 C238 사이에 2 개의 이황화 결합이 있다 (각각, 서열번호 2에 기재된 성숙형 폴리펩티드의 잔기 C25 및 C316, 및 C189 및 C203 에 상응함). 서열번호 1로 예시되는 폴리펩티드의 시스테인 잔기 C376 과 C387 사이; C381 과 C435 사이; C437 과 C443 사이; 및 C458 과 C464 사이에는 추가로 4 개의 이황화 결합이 형성된다 (각각, 서열번호 2에 기재된 성숙형 폴리펩티드의 잔기 C341 및 C352; C346 과 C400 사이; C402 과 C408 사이; 및, C423 과 C429 사이에 상응함).

[0303] (b) 박테리아 히알루로니다아제

[0304] 박테리아 히알루로니다아제(EC 4.2.2.1 또는 EC 4.2.99.1)는 히알루로난 및 다양한 정도로 콘드로이틴 술페이트 및 데르마탄 술페이트를 분해한다. 박테리아에서 분리된 히알루로난 리아제는 작용방식에 의해 히알루로니다아제(기타 출처 유래, 예를 들어, 히알루로노글루코사미니다제(hyaluronoglucosaminidase), EC 3.2.1.35)와 다르다. 이들은 히알루로난 내의 N-아세틸-베타-D-글루코사민(N-acetyl-beta-D-glucosamine)과 D-글루쿠론산(D-glucuronic acid) 잔기 사이의 β 1→4-글리코시드결합의, 가수분해보다는, 제거반응을 촉매하여, 3-(4-데옥시- β -D-글루크-4-에누로노실)-N-아세틸-D-글루코사민(3-(4-deoxy-P-D-gluc-4-enuronosyl)-N-acetyl-D-glucosamine) 사당류- 및 육당류, 및 이당류 최종산물을 생성하는 엔도- β -N-아세틸헥소사미니다제(endo- β -N-acetylhexosaminidase)이다. 상기 반응으로 이들의 비환원 말단에서 불포화 헥수론산(hexuronic acid) 잔기를 가지는 올리고당이 형성된다.

[0305] 제공되는 조성물, 조합물 및 방법에서 사용하기 위한 박테리아 유래 히알루로니다아제의 예는 아르쓰로박터(*Arthrobacter*), 브델로비브리오(*Bdellovibrio*), 클로스트리듐(*Clostridium*), 마이크로코커스(*Micrococcus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 펩토코커스(*Peptococcus*), 프로피오니박테리움(*Propionibacterium*), 박테로이드(*Bacteroides*) 및 스트렙토마이세스(*Streptomyces*)의 균주를 포함한, 미생물 내 히알루로난 분해효소를 포함

하나, 이에 제한되지 않는다. 상기 균주 및 효소의 특정 예는 아르쓰로박터속(*Arthrobacter sp.*)(균주 FB24)(서열번호 67), 브델로비브리오 박테리오포러스(*Bdellovibrio bacteriovorus*)(서열번호 68), 프로피오니박테리움 아크네(*Propionibacterium acnes*)(서열번호 69), 스트렙토코커스 아갈락티에(*Streptococcus agalactiae*)(서열번호 70); 18RS21(서열번호 71); 혈청형 Ia(서열번호 72); 혈청형 III(서열번호 73), 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(균주 COL(서열번호 74); 균주 MRSA252(서열번호 75 및 76); 균주 MSSA476(서열번호 77); 균주 NCTC 8325(서열번호 78); 균주 소(bovine) RF122(서열번호 79 및 80); 및 균주 USA300(서열번호 81), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*)(서열번호 82); 균주 ATCC BAA-255/R6(서열번호 83); 및 혈청형 2, 균주 D39/NCTC 7466(서열번호 84), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*)(혈청형 M1)(서열번호 85); 혈청형 M2, 균주 MGAS10270(서열번호 86); 혈청형 M4, 균주 MGAS10750(서열번호 87); 혈청형 M6(서열번호 88); 혈청형 M12, 균주 MGAS2096(서열번호 89 및 90); 혈청형 M12, 균주 MGAS9429(서열번호 91); 혈청형 M28(서열번호 92); 스트렙토코커스 수이스(*Streptococcus suis*)(서열번호 93 내지 95); 비브리오 피셔리(*Vibrio fischeri*)(균주 ATCC 700601/ES114(서열번호 96)), 및 히알루론산에 특이적이고 콘드로이틴 또는 콘드로이틴 술페이트를 절단하지 않는, 스트렙토마이세스 히알루로노리틱우스(*Streptomyces hyaluronolyticus*) 히알루로니다아제 효소(Ohya, T. 및 Kaneko, Y.(1970) *Biochim. Biophys. Acta* 198:607)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0306] (c) 거머리류, 기타 기생충 및 갑각류 유래 히알루로니다아제

[0307] 거머리, 기타 기생충 및 갑각류 유래 히알루로니다아제(EC 3.2.1.36)는 사당류 - 및 육당류 최종산물을 생성하는 엔도-β-글루쿠로니다아제이다. 상기 효소는 히알루로네이트 내 β-D-글루쿠로네이트와 N-아세틸-D-글루코사민 잔기 사이에 1→3-결합의 가수분해를 촉매한다. 거머리로부터 유래 히알루로니다아제의 예는 거머리과(Hirudinidae)(예를 들어, 히루도 메디칼리리스(*Hirudo medicinalis*)), 돌거머리과(Erpbodellidae)(예를 들어, 네펠롭시스 옵스쿠라(*Nephelopsis obscura*) 및 에르포브텔라 펀타타(*Erpbodella punctata*)), 넓적거머리과(Glossiphoniidae)(예를 들어, 데세로브텔라 픽타(*Desserobdella picta*), 헤로브텔라 스타그날리스(*Helobdella stagnalis*), 그로씨포니아 콤플란타(*Glossiphonia complanata*), 플라코브텔라 오르나타(*Placobdella ornata*) 및 테로마이존속(*Theromyzon sp.*)) 및 말거머리과(Haemopidae)(해모피스 마르모라타(*Haemopsis marmorata*))를 포함하나, 이에 제한되지 않는다 (Hovingh 외(1999) *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 124(3):319-26). 거머리 히알루로니다아제와 동일한 작용기전을 가지는 박테리아 유래 히알루로니다아제의 예는 시아노박테리아(cyanobacteria), 시네코코커스속(*Synechococcus sp.*)의 히알루로니다아제(균주RCC307, 서열번호 97)이다.

[0308] ii. 기타 히알루로난 분해 효소

[0309] 히알루로니다아제 패밀리 뿐만 아니라 다른 히알루로난 분해효소가 제공되는 상기 조성물, 조합물 및 방법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 특정 콘드로이티나아제 및 리아제를 포함한, 히알루로난 절단능을 가지는 효소가 이용될 수 있다. 히알루로난을 분해할 수 있는 콘드로이티나아제의 예는 콘드로이틴 ABC 리아제 (또한 콘드로이티나아제 ABC로서 알려짐), 콘드로이틴 AC 리아제(또한 콘드로이틴 술페이트 리아제 또는 콘드로이틴 술페이트 엘리미나제로서 알려짐) 및 콘드로이틴 C 리아제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 제공되는 상기 조성물, 조합물 및 방법에서 사용을 위한 상기 효소의 생산 및 정제 방법이 당해 기술분야에 공지되어 있다(예를 들어, 미국특허번호 제6,054,569호; Yamagata 외 (1968) *J. Biol. Chem.* 243(7):1523-1535; Yang 외 (1985) *J. Biol. Chem.* 160(30):1849-1857).

[0310] 콘드로이틴 ABC 리아제는 두 개의 효소, 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제(EC 4.2.2.20) 및 콘드로이틴-술페이트-ABC 엑소리아제(EC 4.2.2.21)를 포함하고(Hamai 외(1997) *J Biol Chem.* 272(14):9123-30), 이들은 콘드로이틴-술페이트 및 테르마탄-술페이트 타입의 다양한 글리코사미노글리칸을 분해한다. 콘드로이틴 술페이트, 콘드로이틴-술페이트 프로테오글리칸 및 테르마탄 술페이트는 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제의 바람직한 기질이나, 상기 효소는 또한 더 낮은 비율로 히알루로난에 작용할 수도 있다. 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제는 콘드로이틴-술페이트- 및 테르마탄-술페이트 타입의 다양한 글리코사미노글리칸을 분해하여, 궁극적으로 Δ4-불포화 사당류- 및 이당류로 분해되는 다른 크기의 Δ4-불포화 올리고당의 혼합물을 생성한다. 콘드로이틴-술페이트-ABC 엑소리아제는 동일한 기질특이성을 가지나, 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제에 의해 생성된 폴리머 콘드로이틴-술페이트 및 이들의 올리고당 단편의 둘 다의 비-환원 말단으로부터 이당류 잔기를 제거한다(Hamai, A. 외 (1997) *J. Biol. Chem.* 272:9123-9130). 콘드로이틴-술페이트-ABC 엔도리아제 및 콘드로이틴-술페이트-ABC 엑소리아제의 예는 프로테우스 불가리스(*Proteus vulgaris*) 및 플라보박테리움 헤파리눔(*Flavobacterium heparinum*) 유래의 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다(프로테우스 불가리스 술페이트-콘드로이틴-ABC 엔도리아제는 서열번호 98에 기재되어 있음(Sato 외 (1994) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*

41(1):39-46).

[0311] 콘드로이틴 AC 리아제(EC 4.2.2.5)는 콘드로이틴 술페이트 A 및 C, 콘드로이틴 및 히알루론산에 대해 활성이나, 테르마탄 술페이트(콘드로이틴 술페이트 B)에 대해 불활성이다. 박테리아 유래 콘드로이티나아제 AC 효소의 예는 서열번호 99 및 100에 각각 기재된, 플라보박테리움 헤파리눔(*Flavobacterium heparinum*) 및 빅티발리스 바덴시스(*Victivallis vadensis*), 및 아르쓰로박터 이리시스(*Arthrobacter aurescens*) 유래의 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다(Tkalec 외 (2000) *Applied and Environmental Microbiology* 66(1):29-35; Ernst 외 (1995) *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 30(5):387-444).

[0312] 콘드로이티나아제 C 는 콘드로이틴 술페이트 C를 절단하여, 사당류와 불포화 6-황산화 이당류(delta Di-6S)를 생성한다. 이는 또한 히알루론산을 절단하여 불포화 비-황산화 이당류(delta Di-OS)를 생성한다. 박테리아의 콘드로이티나아제 C 효소의 예는 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 및 플라보박테리움(*Flavobacterium*)의 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다(Hibi 외 (1989) *FEMS-Microbiol-Lett.* 48(2):121-4; Michelacci 외 (1976) *J. Biol. Chem.* 251:1154-8; Tsuda 외 (1999) *Eur. J. Biochem.* 262:127-133).

[0313] iii. 가용성 히알루로난 분해 효소

[0314] 가용성 히알루로니다아제를 포함한, 가용성 히알루로난 분해효소가 본원의 상기 조성물, 조합물 또는 방법에서 제공된다. 가용성 히알루로난 분해효소는 발현시 세포(예를 들어, CHO 세포)로부터 분비되고 가용성 형태로 존재하는 임의의 히알루로난 분해 효소를 포함한다. 상기 효소들은, 비-인간 동물 가용성 히알루로니다아제, 박테리아 가용성 히알루로니다아제 및 인간 히알루로니다아제, Hyal1, 소의 PH20 및 양의 PH20, 이들의 대립형질 변이체 및 다른 변이체를 포함한 비-인간 가용성 히알루로니다아제를 포함하는 가용성 히알루로니다아제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 가용성 히알루로난 분해효소 중에서, 예를 들어, 가용성으로 변형된 임의의 히알루로난 분해효소가 포함된다. 예를 들어, GPI 앵커를 포함하는 히알루로난 분해효소는 GPI 앵커의 모두 또는 일부를 말단절단(truncation) 및 제거에 의해 가용성으로 만들어질 수 있다. 일 예에서, GPI 앵커를 통해 정상적으로 막에 앵커 고정된, 인간 히알루로니다아제 PH20은 C-말단에서 GPI 앵커의 모두 또는 일부의 말단절단(truncation) 및 제거에 의해 가용성으로 만들어질 수 있다.

[0315] 가용성 히알루로난 분해효소는 또한 중성 활성 및 산성 활성 히알루로니다아제를 포함한다. 투여 후 효소 활성의 원하는 수준 및/또는 투여부위와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 요인들에 좌우되어, 중성 활성 및 산성 활성 히알루로니다아제가 선택될 수 있다. 특정 예에서, 본원의 상기 조성물, 조합물 및 방법에서 사용을 위한 히알루로난 분해 효소는 가용성 중성 활성인 히알루로니다아제이다.

[0316] 예시적인 히알루로니다아제는 임의의 종 유래 PH20의 가용성 형태, 예컨대 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29 내지 32, 63 내지 65, 101 내지 102 및 199 내지 210 중 어느 하나의 PH20의 가용성 형태를 포함한다. 히알루로니다아제가 가용성이고 (발현시 분비됨) 히알루로니다아제 활성을 유지하는 한, 상기 가용성 형태는 C-말단 GPI 앵커의 모두 또는 일부가 결실된 이의 말단절단된 형태를 포함한다. 상기 형태는 또한 전형적으로 세포에서 발현될 때, 신호 펩티드가 결실된 성숙형 형태이다. 가용성 히알루로니다아제 중에는 히알루로니다아제 활성을 나타내는, 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29 내지 32, 63 내지 65, 101 내지 102 및 199 내지 210에 기재된 어느 하나의 종, 또는 이의 말단절단된 형태로부터 유래한 어느 하나의 PH20의 변이체의 가용성 형태가 또한 포함된다. 변이체는 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29 내지 32, 63 내지 65, 101 내지 102 및 199 내지 210 중 어느 하나, 이의 성숙형(예를 들어, 신호 서열이 결실된) 또는 말단절단된 형태이다. 변이체는 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29 내지 32, 63 내지 65, 101 내지 102 및 199 내지 210 중 어느 하나, 이의 성숙형(예를 들어, 신호 서열이 결실된) 또는 말단절단된 형태와 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 아미노산 변이체는 보존적 및 비-보존적 돌연변이를 포함한다. 히알루로니다아제의 활성을 위하여 중요하거나, 그렇지 않으면 요구되는 잔기들, 예컨대 상기 기재되거나 당해 기술분야에 공지된 임의의 것들이 일반적으로 불변이며, 변형될 수 없는 것으로 이해된다. 이들은 예를 들면 활성 부위 잔기들을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 인간 PH20 폴리펩티드, 또는 이의 가용성 형태의 아미노산 잔기 111, 113 및 176 (서열번호 2에 기재된 성숙형 PH20 폴리펩티드 내 잔기들에 상응)이 일반적으로 불변이고, 변경되지 않는다. 적절한 접힘(folding)을 위하여 필요한 이황화 결합의 형성 및 글리코실화를 제공하는 기타 잔기들이 또한 불변일 수 있다.

[0317] 일부 예에서, 가용성 히알루로난 분해효소는 일반적으로 GPI-앵커 고정되어있고 (예컨대, 예를 들어, 인간 PH20) C 말단에 말단절단에 의해 가용성을 제공한다. 상기 말단절단은 GPI 앵커 부착 신호 서열의 모두를 제거하거나 GPI 앵커 부착 신호 서열의 일부분을 제거할 수 있다. 그러나 생성된 폴리펩티드는 가용성을 갖는다. 가

용성 히알루로난 분해효소가 GPI 앵커 부착 신호 서열의 일부를 유지하는 예에서, 폴리펩티드가 가용성이면 GPI 앵커 부착 신호 서열내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 유지할 수 있다. GPI 앵커의 하나 또는 그 이상의 아미노산을 포함하는 폴리펩티드는 연장된 가용성 히알루로난 분해효소라고 한다. 당업자는 폴리펩티드가 당해 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용한 GPI-앵커 고정된 것인지를 측정할 수 있다. 상기 방법은 공지의 알고리즘을 사용하여 GPI-앵커 부착 신호 서열 및 ω -부위의 존재 및 위치를 예상하고 포스포티딜 이노시톨-특이적 포스포리파제 C(PI-PLC) 또는 D(PI-PLD)로 소화 전 및 후의 가용성 분석을 실시하는 것을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0318] 연장된 가용성 히알루로난 분해효소는 임의의 자연적 GPI-앵커 고정된 히알루로난 분해 효소에 C-말단 말단절단에 의해 생성될 수 있고, 생성된 폴리펩티드가 가용성이고 GPI 앵커 부착 신호 서열로부터 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 포함한다(예를 들어, 미국 출원 공개번호 US20100143457호 참조). C-말단 말단절단되지만 GPI 앵커 부착 신호 서열의 일부를 유지하는 예시적인 연장된 가용성 히알루로난 분해 효소는 영장류 기원인 연장된 가용성 PH20 (esPH20) 폴리펩티드, 예컨대, 예를 들어, 인간 및 침팬지 esPH20 폴리펩티드를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, esPH20 폴리펩티드는 이의 활성 단편을 포함하는, 서열번호 1, 2, 50, 51 또는 101에 기재된 성숙형 또는 전구체 폴리펩티드, 또는 이의 변이체의 임의의 C-말단 말단절단에 의해 만들어질 수 있는데, 상기 생성된 폴리펩티드는 가용성이고 GPI-앵커 부착 신호 서열로부터 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 유지한다. 변이체는 히알루로니다아제 활성을 유지하는 서열번호 1, 2, 50, 51 또는 101 중 어느 하나와 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 생성된 esPH20 폴리펩티드가 가용성이고 GPI 앵커 부착 신호 서열로부터 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 유지하면, 본원에서 제공되는 상기 esPH20 폴리펩티드는 야생형 폴리펩티드, 예컨대 서열번호 1, 2, 50, 51 또는 101에 기재된 서열을 가진 폴리펩티드와 비교하여 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상의 아미노산에 의해 C-말단 말단절단될 수 있다.

[0319] 전형적으로, 본원의 조성물, 조합물 및 방법에서 사용을 위하여, 가용성 인간 히알루로난 분해효소, 예컨대 가용성 인간 PH20이 사용된다. 다른 동물 유래 히알루로난 분해효소, 예컨대 PH20이 이용될 수 있으나, 상기 제제는 동물 단백질이므로, 잠재적으로 면역원성이 있다. 예를 들어, 현저한 비율의 환자가 사전에 섭취된 음식물에 대해 이차적인 감각(sensitization)을 보여주고, 이들은 동물 단백질이기 때문에, 모든 환자는 차후에 감각의 위험을 가진다. 따라서, 비-인간 제제는 만성적인 사용에 적합하지 않을 수 있다. 비-인간 제제를 원한다면, 상기 폴리펩티드가 감소된 면역원성을 가지도록 제조될 수 있음이 본원에서 고려된다. 상기 변형은 당업자의 수준 내에 있으며, 예를 들어 분자에서 하나 또는 그 이상의 항원성 에피토프의 제거 및/또는 대체를 포함할 수 있다.

[0320] 본원의 방법에서 사용된, 히알루로니다아제(예를 들면, PH20)를 포함한, 히알루로난 분해효소는 재조합적으로 생산되거나, 또는 예를 들어 고환 추출물과 같은 자연 출처로부터 정제되거나 부분적으로 정제될 수 있다. 재조합 히알루로난 분해효소를 포함한, 재조합 단백질의 생산방법이 본원의 다른 곳에서 제공되며, 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0321] (a) 가용성 인간 PH20

[0322] 예시적인 가용성 히알루로니다아제는 가용성 인간 PH20이다. 재조합 인간 PH20의 가용성 형태가 생산되어 왔고 본원에 기재된 조성물, 조합물 및 방법에서 사용될 수 있다. 상기 PH20의 가용성 형태의 생산은 미국 출원 공개번호 US20040268425호; US20050260186호, US20060104968호, US20100143457 및 국제 출원 공개번호 WO2009111066호에 기재되어 있다. 예를 들어, 가용성 PH20 폴리펩티드는 C-말단 말단절단된 변이체 폴리펩티드를 포함하고 상기 폴리펩티드는 서열번호 1 또는 2의 아미노산 서열, 또는 서열번호 1 또는 2에 포함된 아미노산 서열과 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 또는 98% 서열 동일성을 갖고, 히알루로니다아제 활성을 유지하고 가용성이다. 상기 폴리펩티드 중에, GPI-앵커 부착 신호 서열의 전부 또는 일부가 완전히 결실된 가용성 PH20 폴리펩티드가 포함되어 있다.

[0323] 또한, GPI 앵커의 적어도 하나의 아미노산을 포함하는 연장된 가용성 PH20 (esPH20) 폴리펩티드가 포함되어 있다. 따라서, ER 내에 단백질의 C-말단에 GPI 앵커가 공유결합 부착되고 원형질막의 세포외 소엽(leaflet)에 앵커 고정되는 것 대신에, 상기 폴리펩티드는 분비되고 가용성을 갖는다. C-말단 말단절단된 PH20 폴리펩티드는 전장의 야생형 폴리펩티드, 예컨대 서열번호 1 또는 2에 기재된 서열을 갖는 전장의 야생형 폴리펩티드, 또는 대립형질 변이체 또는 중변이체 또는 다른 변이체에 비해 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 또는 그 이상의 아미노산이 C-말단 말단절단될 수

있다.

[0324]

예를 들어, 가용성 형태는 서열번호 1에 기재된 아미노산의 서열의 C-말단의 아미노산 잔기 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482 및 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 또는 500을 가지는, 서열번호 1에 기재된 인간 PH20의 C-말단 말단절단된 폴리펩티드, 또는 이와 적어도 85%의 동일성을 나타내는 폴리펩티드를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 인간 PH20의 가용성 형태는 일반적으로 서열번호 1에 기재된 아미노산 36 내지 464를 포함하는 것들을 포함한다. 예를 들어, 포유류 세포 내에서 발현되면, 상기 35 아미노산 N-말단 신호 서열은 프로세싱 중에 절단되고, 성숙형 형태의 단백질이 분비된다. 따라서, 그 성숙형 가용성 폴리펩티드는 서열번호 1에 기재된 아미노산 서열의 아미노산 36 내지 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 및 483을 포함한다. 표 3은 C-말단 말단절단된 가용성 PH20 폴리펩티드를 포함하는, 예시적인 C-말단 말단절단된 PH20 폴리펩티드의 비제한적 예를 제공한다. 하기 표 3에서 전구체 및 성숙형 폴리펩티드의 길이(아미노산 내) 및 C-말단 말단절단된 PH20 단백질의 전구체 및 성숙형 폴리펩티드의 예시적인 아미노산 서열이 기재된 서열 식별기호(서열번호)가 제공된다. 또한, 비교를 위해 야생형 PH20 폴리펩티드도 표 3에 포함된다. 특히, 가용성 히알루로니다아제의 예는 442, 443, 444, 445, 446 또는 447개 아미노산 길이의, 예컨대 서열번호 4 내지 9에 기재된, 가용성 인간 PH20 폴리펩티드, 또는 그의 대립형질 변이체 또는 중 변이체 또는 이의 기타 변이체이다.

표 3. 예시적인 C-말단 말단절단된 PH20 폴리펩티드

폴리펩티드	전구체 (아미노산)	전구체 서열번호	성숙형 (아미노산)	성숙형 서열번호
야생형	509	1	474	2
SPAM1-SILF	500	139	465	183
SPAM1-VSIL	499	106	464	150
SPAM1-IVSI	498	140	463	184
SPAM1-FIVS	497	107	462	151
SPAM1-MFIV	496	141	461	185
SPAM1-TMFI	495	108	460	152
SPAM1-ATMF	494	142	459	186
SPAM1-SATM	493	109	458	153
SPAM1-LSAT	492	143	457	187
SPAM1-TLSA	491	110	456	154
SPAM1-STLS	490	112	455	156
SPAM1-PSTL	489	111	454	155
SPAM1-SPST	488	144	453	188
SPAM1-ASPS	487	113	452	157
SPAM1-NASP	486	145	451	189
SPAM1-YNAS	485	114	450	158
SPAM1-FYNA	484	115	449	159
SPAM1-IFYN	483	46	448	48
SPAM1-QIFY	482	3	447	4
SPAM1-PQIF	481	45	446	5
SPAM1-EPQI	480	44	445	6
SPAM1-EEPQ	479	43	444	7
SPAM1-TEEP	478	42	443	8
SPAM1-ETEE	477	41	442	9
SPAM1-METE	476	116	441	160
SPAM1-PMET	475	117	440	161
SPAM1-PPME	474	118	439	162
SPAM1-KPPM	473	119	438	163
SPAM1-LKPP	472	120	437	164
SPAM1-FLKP	471	121	436	165
SPAM1-AFLK	470	122	435	166
SPAM1-DAFL	469	123	434	167
SPAM1-IDAF	468	124	433	168
SPAM1-CIDA	467	40	432	47
SPAM1-VCID	466	125	431	169
SPAM1-GVCI	465	126	430	170

[0325]

[0326]

예를 들어, PH20의 가용성 형태는, 예를 들어, 서열번호 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189, 또는 서열번호 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189에 대하여 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 나타내고 히알루로니다아제 활성을 유지하는 임의의 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.

[0327] 글리코실화가 히알루로니다아제의 촉매적 활성 및 안정성을 위해 중요하기 때문에, 일반적으로 PH20의 가용성 형태는 정확한 N-글리코실화를 용이하게 하는 단백질 발현 시스템을 사용하여 생산된다. 이러한 세포는, 예를 들어 중국 햄스터 난소(Chinese Hamster Ovary, CHO) 세포(예컨대 DG44 CHO 세포)를 포함한다.

[0328] (b) rHuPH20

[0329] 인간 PH20의 재조합 가용성 형태가 생성되고, 본원에서 제공된 조성물, 조합물 및 방법에서 사용될 수 있다. 상기 재조합 인간 PH20의 가용성 형태의 생성은 미국 특허출원 공개번호 US20040268425호; US20050260186호 US20060104968호; US201143457호 및 국제 PCT 출원번호 WO2009111066호에 기재되어 있다. 이러한 폴리펩티드의 예는 (서열번호 3에 기재된) 아미노산 1 내지 482를 암호화하는 핵산분자의 발현에 의해 생성되는 것들이다. 이러한 예시적인 핵산 분자는 서열번호 49에 기재되어 있다. 번역 후 가공은 35 아미노산 신호 서열을 제거하고 447 아미노산 가용성 재조합 인간 PH20(서열번호 4)를 남긴다. 배양배지에서 생산되기 때문에, C-말단에서 불균질성(heterogeneity)이 있으며, 따라서 rHuPH20으로 불리는 산물은 다양하고 풍부하게 서열번호 4-9 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있는 종의 혼합물을 포함한다. 전형적으로, rHuPH20은 활성을 유지하기 위해 정확한 N-글리코실화를 용이하게 하는 세포, 예를 들면 CHO 세포(예를 들면 DG44 CHO 세포)내에서 생성된다.

[0330] iv. 히알루로난 분해 효소의 글리코실화

[0331] 촉매활성 및 안정성을 위해, 히알루로니다아제를 포함하는 일부의 히알루로난 분해 효소의 N-결합 및 O-결합 글리코실화를 포함하는 글리코실화가 중요할 수 있다. 당단백질의 글리칸의 변형의 유형을 변경하는 것이 단백질의 항원성, 구조적 접힘, 가용성 및 안정성에 대한 현저한 효과를 가지는 반면, 대부분의 효소는 최적의 효소활성을 위해 글리코실화가 필요하다고 생각되지 않는다. 일부 히알루로니다아제에 대해, N-결합 글리코실화를 제거하여 히알루로니다아제 활성의 거의 완전한 불활화를 일으킬 수 있다. 따라서, 이러한 히알루로니다아제에 대해, 활성 효소를 생성하기 위해 N-결합 글리칸의 존재가 중요하다.

[0332] N-결합 올리고당류는 여러 주요한 유형(올리고만노스(oligomannose), 복합(complex), 혼성(hybrid), 술페가트 형태(sulfated))로 분류되고, 모두 Asn-Xaa-Thr/Ser 서열(여기서 Xaa는 Pro가 아니다)내에 있는 Asn 잔기의 아미드 질소를 통해 부착된 (Man)3-GlcNAc-GlcNAc 핵심(core)을 갖는다. Asn-Xaa-Cys-부위에서의 글리코실화가 응고단백질 C에 대해 보고되었다. 일부 예에서, 히알루로니다아제와 같은 히알루로난 분해 효소는 N-글리코시드 및 O-글리코시드 결합을 포함할 수 있다. 예를 들면, PH20은 O-결합 올리고당류 뿐만 아니라 N-결합 올리고당류를 갖는다. 서열번호 1에서 예시된 인간 PH20의 N82, N166, N235, N254, N368, N393에서 6개의 잠재 N-결합 글리코실화 부위가 있다. 아미노산 잔기 N82, N166 및 N254가 복합 유형 글리칸에 의해 채워지는 반면, 아미노산 잔기 N368 및 N393은 고 만노스(high mannose) 유형 글리칸에 의해 채워진다. 아미노산 잔기 N235는 대략 80% 고 만노스 유형 글리칸 및 20% 복합 유형 글리칸에 의해 채워진다. 상기 기재된 바와 같이, 히알루로니다아제 활성을 위해서 S490에서 O-결합 글리코실화가 필요하지 않다.

[0333] 일부 예에서, 제공된 조성물, 조합물 및/또는 방법에서 사용하기 위한 히알루로난 분해 효소는 글리코실화 부위의 하나 또는 전부에서 글리코실화된다. 예를 들면, 인간 PH20 또는 이의 가용성 형태에 대해, 서열번호 1의 아미노산 N82, N166, N235, N254, N368 및 N393에 상응하는 2, 3, 4, 5 또는 6의 N-글리코실화 부위가 글리코실화된다. 일부 예에서, 히알루로난 분해 효소는 하나 이상의 천연 글리코실화 부위에서 글리코실화된다. 다른 예에서, 히알루로난 분해 효소는 하나 이상의 비천연 글리코실화 부위에서 변형되어 하나 이상의 부가적인 부위에서 폴리펩티드의 글리코실화를 제공한다. 이러한 예에서, 부가적인 당 모이어티의 부착은 개선된 반감기 및/또는 개선된 활성과 같은 분자의 약동학 특성을 향상시킬 수 있다.

[0334] 다른 예에서, 본원에서 제공된 조성물, 조합물 및/또는 방법에서 사용하기 위한 히알루로난 분해 효소는 부분적으로 탈글리코실화(또는 N-부분적 글리코실화 폴리펩티드)된다. 예를 들면, 부분적 탈글리코실화 가용성 PH20 폴리펩티드는 완전히 글리코실화된 히알루로니다아제의 히알루로니다아제 활성의 전부 또는 일부를 유지하고 본원에서 제공된 조성물, 조합물 및/또는 방법에서 사용될 수 있다. 예시적인 부분적 탈글리코실화 히알루로니다아제는 임의의 종으로부터 부분적 탈글리코실화 PH20 폴리펩티드의 가용성 형태, 예를 들면 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63, 65, 101-102 및 199-210에 기재된 것 또는 이의 대립형질 변이체, 말단절단된 변이체, 또는 다른 변이체를 포함한다. 이러한 변이체는 당업자에게 공지되어 있고 서열번호 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63, 65, 101-102 및 199-210의 어느 하나 또는 그 말단절단된 형태와 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95% 이상의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 본원에서 제공된 부분적 탈글리코실화 히알루로니다아제는 혼성, 융합 및 키메릭 부분적 탈글리코실화 히알루로니다아제 및 부분적 탈글리코실화 히알루로니다아제 컨주게이트를 포함한다.

[0335] 글리코시다제 또는 글리코시드 하이드롤라제(hydrolase)는 글리코시드 결합의 가수분해를 촉매작용하여 2개의 더 작은 당을 생성하는 효소이다. 척추동물에서 N-글리칸의 주요한 형태는 고 만노스 글리칸, 혼성 글리칸 및 복합 글리칸을 포함한다. 고 만노스 글리칸, 혼성형 글리칸을 절단하는 EndoF1; 2분기(biantennary) 복합형 글리칸을 절단하는 EndoF2; 2분기 이상의 분지쇄 복합 글리칸을 절단하는 EndoF3; 및 고 만노스 글리칸 및 혼성형 글리칸을 절단하는 EndoH를 포함하는 부분적인 단백질 탈글리코실화만 일으키는 여러개의 글리코시다제가 있다. 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 가용성 히알루로니다아제, 예를 들면 가용성 PH20의 하나 또는 모든 글리코시다제로의 처리는 부분적인 탈글리코실화만을 일으키고, 따라서 히알루로니다아제 활성이 유지될 수 있다.

[0336] 부분적 탈글리코실화 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 부분적 탈글리코실화 가용성 히알루로니다아제는 하나 이상의 글리코시다제, 일반적으로 모든 N-글리칸을 제거하지 않고 부분적으로 단백질을 탈글리코실화하는 글리코시다제로의 소화에 의해 생산될 수 있다. 예를 들면, PH20(예를 들면, rHuPH20라고 명명되는 재조합 PH20)의 상기 글리코시다제(예를 들면, EndoF1, EndoF2 및/또는 EndoF3)의 하나 또는 전부의 처리는 부분적 탈글리코실화를 일으킨다. 이러한 부분적 탈글리코실화 PH20 폴리펩티드는 완전히 글리코실화된 폴리펩티드에 필적하는 히알루로니다아제 효소 활성을 나타낼 수 있다. 반면, PH20을 모든 N-글리칸을 절단하는 글리코시다제인 PNGaseF로의 처리에 의해 모든 N-글리칸을 완전히 제거하여 PH20 효소적인 비활성을 제공할 수 있다. 따라서, 모든 N-결합 글리코실화 부위 (예를 들면, 서열번호 1에서 예시된 인간 PH20의 아미노산 N82, N166, N235, N254, N368, 및 N393에서의 것)가 글리코실화될 수 있지만, 하나 이상의 글리코시다제로의 처리는 하나 이상의 글리코시다제에 의해 소화되지 않은 히알루로니다아제에 비해 감소된 글리코실화의 정도를 제공할 수 있다.

[0337] 부분적으로 탈글리코실화된 가용성 PH20 폴리펩티드를 포함한 부분적 탈글리코실화 히알루로난 분해 효소는 완전히 글리코실화된 폴리펩티드의 글리코실화 수준의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 또는 80%를 가질 수 있다. 일 예에서, 서열번호 1의 아미노산 N82, N166, N235, N254, N368, 및 N393에 상응하는 N-글리코실화 부위의 1, 2, 3, 4, 5 또는 6은 부분적으로 탈글리코실화되어, 더 이상 고 만노스 또는 복합 유형 글리칸을 포함하지 않고, 오히려 적어도 하나의 N-아세틸글루코사민 모이어티를 포함한다. 일부 예에서, 서열번호 1의 아미노산 N82, N166 및 N254에 상응하는 N-글리코실화 부위의 1, 2 또는 3은 탈글리코실화되는데, 즉 이들은 당 모이어티를 포함하지 않는다. 다른 예에서, 서열번호 1의 아미노산 N82, N166, N235, N254, N368, 및 N393에 상응하는 N-글리코실화 부위의 3, 4, 5 또는 6은 글리코실화된다. 글리코실화된 아미노산 잔기는 최소한 하나의 N-아세틸글루코사민 모이어티를 포함한다. 전형적으로, 부분적 탈글리코실화 가용성 PH20 폴리펩티드를 포함하여, 부분적 탈글리코실화 히알루로난 분해 효소는, 완전히 글리코실화된 폴리펩티드에 의해 나타나는 히알루로니다아제 활성의 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% 또는 그 이상인 히알루로니다아제 활성을 나타낸다.

[0338] **v. 변형된 (폴리머-컨주게이션된(polymer-conjugated)) 히알루로난 분해 효소**

[0339] 폴리머 분자, 예를 들면 폴리에틸렌 글리콜(PEG화 모이어티(PEG))이 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 히알루로니다아제와의 공유결합 또는 다른 안정한 결합(컨주게이션)은 야기되는 히알루로난 분해 효소-폴리머 조성물에 유익한 성질을 부여한다. 이러한 성질은 개선된 생체적합성, 대상체내의 혈액, 세포 및/또는 다른 조직내에서의 단백질(및 효소활성) 반감기의 연장, 프로테아제 및 가수분해로부터 단백질의 효율적인 차폐(shielding), 개선된 생체내분포, 개선된 약동학 및/또는 약력학 및 증가된 수용성을 포함한다.

[0340] 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 히알루로니다아제에 컨주게이션될 수 있는 폴리머로는 천연 및 합성 호모폴리머(homopolymer), 예를 들면 폴리올(즉, poly-OH), 폴리아민(즉, poly-NH₂) 및 폴리카복실산(즉, poly-COOH), 및 추가의 헤테로폴리머(heteropolymer), 즉 하나 이상의 다른 커플링기, 예를 들면 하이드록실기 및 아민기를 포함하는 폴리머를 포함한다. 적합한 폴리머 분자의 예는 폴리알킬렌 옥사이드(PAO), 예를 들면 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 메톡시폴리에틸렌 글리콜(mPEG) 및 폴리프로필렌 글리콜을 포함하는 폴리알킬렌 글리콜(PAG), PEG-글리시딜 에테르(Epoxy-PEG), PEG-옥시카보닐이미다졸(CDI-PEG) 분지 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리비닐 알코올(PVA), 폴리카복실레이트, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리(에틸렌아민)(PEI), 선형 폴리아미도아민, 폴리아크릴아미드(PAAm), 폴리디메틸 아크릴아미드(PDAAm), 폴리디메틸 아크릴아미드(PDAAm), 폴리비닐 알코올(PVA), 폴리-D,L-아미노산, 폴리에틸렌-co-말레산 무수물, 폴리스티렌-co-말레산 무수물, 카복시메틸-키토산, 텍스트린, 텍스트란을 포함하는 텍스트란, 헤파린, 동종 알부민, 메틸셀룰로오스, 카복시메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스,

하이드록시에틸셀룰로오스 카복시에틸셀룰로오스 및 하이드록시프로필셀룰로오스를 포함하는 셀룰로오스, 키토산 가수분해산물, 전분, 예를 들면 하이드록시에틸 전분 및 하이드록시프로필 전분, 글리코젠, 아가로스 및 그 유도체, 구아검, 풀루란, 이눌린, 잔탄검, 카라기난, 펙틴, 알기닌산 가수분해물 및 생폴리머를 포함한다.

[0341] 전형적으로, 폴리머는 폴리알킬렌 옥사이드(PAO), 예를 들면 폴리에틸렌 옥사이드, 예를 들면 PEG, 전형적으로 mPEG이고 이것은 텍스트란 및 풀루란과 같은 다당류에 비해 가교결합할 수 있는 반응성기를 거의 갖고 있지 않다. 전형적으로, 폴리머는 비독성 폴리머 분자, 예를 들면 (m)폴리에틸렌 글리콜(mPEG)이고, 이것은 상대적으로 단순화학을 이용하여 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 히알루로니다아제(예를 들면 단백질 표면에 부착된 기에 대한)에 공유적으로 컨주게이션될 수 있다.

[0342] 치료제의 PEG화는 단백질 분해에 대한 저항을 증가시키고, 혈장 반감기를 증가시키고 항원성 및 면역원성을 감소시키는 것에 대해 보고되어 있다. PEG화 방법론의 예는 당업계에서 알려져 있다(예를 들면, Lu and Felix, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 43: 127-138, 1994; Lu and Felix, *Peptide Res.*, 6: 140-6, 1993 ; Felix 외, *Int. J. Peptide Res.*, 46 : 253-64, 1995; Benhar 외, *J. Biol. Chem.*, 269: 13398-404, 1994; Brumeanu 외, *J Immunol.*, 154: 3088-95, 1995 참조; Caliceti 외. (2003) *Adv. DrugDeliv. Rev.* 55(10):1261-77 및 Molineux (2003) *Pharmacotherapy* 23 (8 Pt 2):3S-SS 참조). PEG화는 생체내 핵산분자의 전달에 사용될 수 있다. 예를 들면, 아테노바이러스의 PEG화는 안정성 및 유전자 전달을 증가시킬 수 있다 (예를 들면, Cheng 외. (2003) *Pharm. Res.* 20(9): 1444-51 참조).

[0343] 히알루로니다아제를 포함한 히알루로난 분해 효소에 부착하기 위한 적합한 폴리머 분자는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 및 PEG 유도체, 예를 들면 메톡시-폴리에틸렌 글리콜(mPEG), PEG-글리시딜 에테르(Epoxy-PEG), PEG-옥시 카보닐이미다졸(CDI-PEG), 분지형 PEGs 및 폴리에틸렌 옥사이드(PEO)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다 (Roberts 외, *Advanced Drug Delivery Review* 2002, 54: 459-476; Harris and Zalipsky, S (eds.) "Poly(ethylene glycol), Chemistry and Biological Applications" ACS Symposium Series 680, 1997; Mehvar 외, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3(1):125-136, 2000; Harris(2003), *Nature Reviews Drug Discovery* 2:214-225; 및 Tsubery(2004), *J Biol. Chem* 279(37):38118-24 참조). 폴리머 분자는 전형적으로 약 3kDa 내지 약 60kDa의 범위의 분자량의 것일 수 있다. 일부 구현예에서, 단백질, 예컨대 히알루로니다아제, 예를 들면 PH20에 컨주게이션된 폴리머 분자는 약 5 내지 60 kDa의 분자량 예컨대 적어도 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 또는 60 kDa 이상의 분자량을 갖는다.

[0344] PEG화 가용성 히알루로난 분해 효소

[0345] 본원에서 방법, 조성물 및 조합물에서 사용된 히알루로난 분해 효소는 PEG화 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 PEG화 가용성 히알루로난 분해 효소일 수 있다. 일 예에서, 이는 PEG화 가용성 히알루로니다아제, 예를 들면 PEG화 PH20이다. PEG 또는 PEG 유도체를 공유적으로 부착(컨주게이션)함으로써 폴리펩티드를 변형하는 다양한 방법(즉, "PEG화")이 당업계에서 알려져 있다 (예를 들면, US 2006/0104968호; US5,672,662호; US6,737,505호; 및 US2004/0235734호 참조). PEG화하는 기술은 특별한 링커 및 커플링 화학(Roberts 외, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54:459-476, 2002 참조), 단일 컨주게이션부위에 복수의 PEG 모이어티의 부착(예컨대 분지 PEG를 사용함으로써; 예컨대 Guiotto 외, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:177-180, 2002 참조), 부위 특이적 PEG화 및/또는 모노PEG화(Chapman 외, *Nature Biotech.* 17:780-783, 1999 참조) 및 위치 지정 효소 PEG화(예를 들면, Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002 참조)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 당업계에서 기술된 방법 및 기술은 단일 단백질 분자에 부착된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10초과의 PEG 또는 PEG 유도체를 갖는 단백질을 생산할 수 있다(예컨대 US2006/0104968호 참조).

[0346] PEG화용 수많은 시약은 당업계에서 기술되어 있다. 이러한 시약은 N-하이드록시숙신이미딜(NHS) 활성화 PEG, 숙신 이미딜 mPEG, mPEG₂-N-하이드록시숙신이미드, mPEG 숙신이미딜 알파-메틸부타노에이트, mPEG 숙신이미딜 프로피오네이트, mPEG 숙신이미딜 부타노에이트, mPEG 카복시메틸 3-하이드록시부탄산 숙신이미딜 에스테르, 호모 2관능성 PEG-숙신이미딜 프로피오네이트, 호모 2관능성 PEG 프로피온 알데히드, 호모 2관능성 PEG 부티르알데히드, PEG 말레이미드, PEG 하이드라지드, p-니트로페닐 카보네이트 PEG, mPEG-벤조트리아졸 카보네이트, 프로피온알데히드 PEG, mPEG 부티르알데히드, 분지형 mPEG₂ 부티르알데히드, mPEG 아세틸, mPEG 피페리돈, mPEG 메틸케톤, mPEG "링커없는" 말레이미드, mPEG 비닐 설펜, mPEG 티올, mPEG 오르쏘피리딜티오에스테르, mPEG 오르쏘피리딜 디설파이드, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, 비닐설펜 PEG-NHS, 아크릴레이트 PEG-NHS, 플루오레세인 PEG-NHS 및 바이오틴 PEG-NHS(예를 들면, Monfardini 외, *Bioconjugate Chem.* 6:62-69, 1995; Veronese 외, *J. Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S.5,672,662호; U.S.5,932,462호; U.S.6,495,659호;

U.S. 6,737,505호; U.S. 4,002,531호; U.S. 4,179,337호; U.S. 5,122,614호; U.S. 5,324,844호; U.S. 5,446,090호; U.S. 5,612,460호; U.S. 5,643,575호; U.S. 5,766,581호; U.S. 5,795,569호; U.S. 5,808,096호; U.S. 5,900,461호; U.S. 5,919,455호; U.S. 5,985,263호; U.S. 5,990,237호; U.S. 6,113,906호; U.S. 6,214,966호; U.S. 6,258,351호; U.S. 6,340,742호; U.S. 6,413,507호; U.S. 6,420,339호; U.S. 6,437,025호; U.S. 6,448,369호; U.S. 6,461,802호; U.S. 6,828,401호; U.S. 6,858,736호; U.S. 2001/0021763호; U.S. 2001/0044526호; U.S. 2001/0046481 호; U.S. 2002/0052430호; U.S. 2002/0072573호; U.S. 2002/0156047호; U.S. 2003/0114647호; U.S. 2003/0143596호; U.S. 2003/0158333호; U.S. 2003/0220447호; U.S. 2004/0013637호; U.S. 2004/0235734호; WO 0500360호; U.S. 2005/0114037호; U.S. 2005/0171328호; U.S. 2005/0209416호; EP1064951 호; EP0822199호; W0010176640호; W00002017호; WO 0249673호; WO 9428024호; 및 WO 0187925호)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0347] 2. 타산(taxane) 및 이의 제형

[0348] 본원에서 제공되는, 조성물, 조합물 및 방법 및 용도를 포함하는 병용치료는 타산(taxane)을 포함한다. 타산은 일반적으로 수용성이 낮는데, 이로 인해 치료적 사용이 제한된다. 본원에서 제공되는 조성물 및 조합물에서, 타산은 수용성을 나타내는 제형으로서 제공된다. 본원에서 제공되는 특정 예에서, 타산은 종양의 기질 또는 세포를 표적으로 하고 및/또는 투과하는 제형으로서 제공된다. 이러한 타산 제형의 예는 알부민-결합 타산이다.

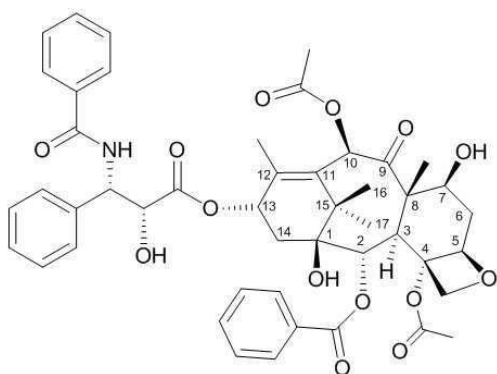
[0349] a. 타산

[0350] 타산은 타서스 속(genus *Taxus*)의 식물로부터 생산되는 디테르펜(diterpene)이다. 타산은 튜불린(tubulin)에 결합하고 미세소관 중합체화를 안정화시키는 작용을 함으로써 미세소관 조립 및 해체와 관련된 정상적 평형을 방해하고 미세소관 기능을 지연시키는 세포분열저지성 제제(antimitotic agent)이다. 타산은 미세소관의 형성을 촉진하면서, 유사분열 방추사의 미세소관을 형성하는 튜불린의 탈중합을 방지한다. 미세소관은 세포 분열을 위해 필수적이며 타산에 노출된 세포는 유사분열 전기 G2 기에 억제되고 분열에 실패한다. 이러한 약물은 따라서 이러한 약물로 처리된 세포가 유사분열에서 정지됨으로써 세포 분열 과정을 방해한다. 이는 성공적이지 못한 유사분열로 인해 궁극적으로 세포사를 유발한다.

[0351] 타산은 또한 처리된 세포에서 O_2 및 H_2O_2 축적을 포함하여 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성한다. ROS의 축적은 파클리탁셀(paclitaxel)을 포함하는 타산의 직접적 세포독성 활성 뿐 아니라 이웃하는 세포들에 대한 방관자 효과(bystander effect)와 관련이 있다(예컨대 Alexandre 외 (2007) *Cancer Res.*, 67:3512 참조).

[0352] 본원에서 제공되는 조성물, 조합물 및 방법에서 사용하기 위한 타산은 튜불린의 탈중합을 억제하는 임의의 디테르펜 화합물을 포함한다. 특히, 이러한 타산은 또한 처리된 세포에서 ROS의 축적을 야기하는 임의의 것을 포함한다. 타산은 천연적으로 생산되는 디테르펜의 정제된 형태 또는 인공적으로 합성되는 것들을 포함한다. 타산은 비-결정형이고 및/또는 무정형인 것들을 포함한다. 타산은 또한 타산의 무수 형태(anhydrous form)를 포함할 수 있다.

[0353] 파클리탁셀(타솔, taxol)은 천연적으로 발생하는 디테르페노이드(diterpenoid)이다. 파클리탁셀의 화학명은 $5\beta, 20$ -에폭시-1,2a,4,7 β ,10 β ,13a-헥사하이드록시타스-11-엔-9-온 4,10-디아세테이트 2-벤조에이트($5\beta, 20$ -epoxy-1,2a,4,7 β ,10 β ,13a-hexahydroxytax-11-en-9-one 4,10-diacetate 2-benzoate)이다. 타솔은 서양 주목(Western Yew), *타서스 브레비폴리아*(*Taxus brevifolia*) 뿐 아니라 *T. 바카타*(*T. baccata*) 및 *T. 커스피다타*(*T. cuspidata*)의 줄기 수피에서 발견된다. 파클리탁셀은 태평양 주목 나무(Pacific yew tree), *타서스 브레비폴리아*의 수피에서 최초로 분리되었다(Wani 외 (1971) *J. Am. Chem. Soc.*, 93:2325). A. 파클리탁셀의 핵심(core) 구조는 4개의 고리(6원의(6-membered) A 고리 및 C 고리, 8원의 B 고리 및 4원의 D 고리)를 포함한다. 이 분류의 약물에 대한 기존의 넘버링 시스템을 사용하여 나타낸 넘버링(numbering)으로 표시한, 파클리탁셀의 구조는 하기에 기재된다.



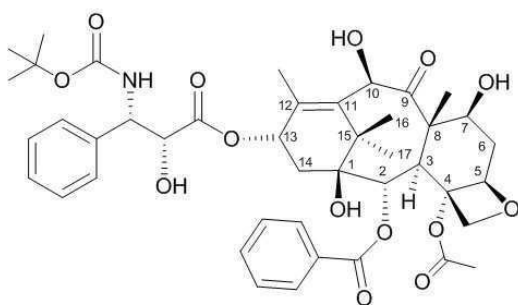
[0354]

[0355]

파클리탁셀은 유럽 또는 히말라야 주목의 침엽 및 잔가지로부터 유래된 바카틴(baccatin)이라고 불리는 전구체 화합물로부터 반-합성적 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 파클리탁셀은 파클리탁셀의 하이드록실기가 될 바카틴의 하이드록실기에 보호기(protecting group)를 부착하여, 전구체 바카틴을 파클리탁셀로 전환시키고, 그 다음 파클리탁셀을 수득하기 위해 하이드록실기로부터 보호기를 제거함으로써 바카틴으로부터 제조될 수 있다. 또한, 파클리탁셀은 최근에 단순한 전구체로부터 합성된 바 있다(예컨대 국제 PCT 공개번호 W093/10076호, W093/16059호; 미국 특허번호 제5,200,534호, 미국 특허번호 제5,015,744호; 미국 특허번호 제4,960,790호; Nicolaou (1993) *Nature* 364: 464-466; Nicolaou, K. C. 외 (1994) *Nature*, 367:630-634; 및 Holton 외 (1994) *J. Am. Chem. Soc.*, 116: 1597-1600 참조).

[0356]

도세탁셀(docetaxel)(탁소테레, taxotere)는 본원에서 제공되는 조합물 및 조성물 내에 사용하기 위한 또 다른 예시적인 타산이다. 도세탁셀은 화합물명 1,7 β ,10 β -트리하이드록시-9-옥소-5 β ,20-에폭시타스-11-엔-2 α ,4,13 α -트리일 4-아세테이트 2-벤조에이트 13-[(2R,3S)-3-[(tert-부톡시카보닐)아미노]-2-하이드록시-3-페닐프로파노에이트(1,7 β ,10 β -trihydroxy-9-oxo-5 β ,20-epoxytax-11-ene-2 α ,4,13 α -triyl 4-acetate 2-benzoate 13-[(2R,3S)-3-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-3-phenylpropanoate)]을 가지며 이 분류의 약물에 대한 기존의 넘버링을 사용하여 보여지는 넘버링으로 표시한 구조가 하기에 기재된다.



[0357]

[0358]

도세탁셀은 유럽 주목 나무 *타스스 바카타(Taxus baccata)*에서 발견된 화합물로부터 유래된 반-합성적, 2세대 타산이다. 도세탁셀은 유럽 주목 나무로부터 추출되는 10-데아세틸 바카틴 III(10-deacetyl baccatin III)의 에스테르화 산물이다. 도세탁셀은 화학적 구조에 있어서 파클리탁셀과 두 위치에서 다르다: 파클리탁셀은 아세테이트 에스테르를 결여하며, 파클리탁셀에서 벤질 아미드 대신에 페닐프로피오네이트 측쇄에 tert-부틸 카바메이트 에스테르(tert-butyl carbamate ester)가 존재한다. 파클리탁셀의 유사체(analog)인 도세탁셀은 *타스스 바카타*의 침엽으로부터 추출된 비-세포독성 전구체인 10-데아세틸 바카틴 III으로부터 반합성적으로 생산되고 화학적으로 합성된 측쇄로 에스테르화된다(Cortes and Pazdur, 1995, *J. Clin. Oncol.* 13(10):2643-55).

[0359]

본원에서 제공되는 조성물, 조합물 및 방법에서 사용하기 위한 타산은 파클리탁셀 또는 도세탁셀의 유사체, 유도체 및 전구체 형태를 포함한다. 이러한 타산 유도체는 파클리탁셀 또는 도세탁셀과 비교하여 개선된 수용성을 나타내는 것들을 포함한다. 예를 들어, 타산 유도체, 유사체 및 전구체 형태는 고리 위치가 변형되거나 유도체 합성된 것들, 및 특히 2'- 및 7 또는 10-위치가 적합한 기(group)로 유도체 합성된 것들을 포함한다(예컨대 Fu 외 (2009) *Current Medicinal Chemistry*, 16:1-13 참조).

[0360]

예를 들어, 타산 유도체, 유사체 또는 전구체 형태는 2'-O-위치에서 다양한치환된 아실(acyl) 기를 갖는 수용성

탁술(예컨대 미국 특허번호 제4,942,184호 참조); 2' 및/또는 7' 하이드록시가 선택된 아미노산 또는 아미노산 모방 화합물로 유도체 합성된 수용성 탁술(예컨대 미국 특허번호 제4,960,790호); 설펜화 2'-아크릴로일, 설펜화 2'-O-아실 산 탁술 및 치환된 2'-벤조일 및 2'7-디벤조일 탁술(예컨대 미국 특허번호 제5,352,805호 및 5,411,984호 참조); 탁술의 2' 및/또는 7-O-에스테르 및 2'- 및/또는 7-O-카보네이트 유도체(예컨대 미국 특허번호 제5,817,840호 참조); 폴리에틸렌 글리콜, 폴리(L-글루탐산)(poly(L-glutamic acid)), 폴리(L-아스파르트산)(poly(L-aspartic acid))과 같은 폴리머와의 컨주게이션에 의해 형성된 탁산 유도체(예컨대 미국 특허번호 제5,977,163호 참조); 탁산의 측쇄의 C-7, C-10 및/또는 2'위치에서 포스포노옥시(phosphonoxy) 기를 갖는 탁산의 프로드러그(prodrug) 형태(예컨대 W09414787호 참조); 2'-석시닐파클리탁셀(2'-succinylpaclitaxel) 및 2'글루타릴파클리탁셀(2'-glutarylpaclitaxel)의 염(Deutch 외 (1989) *J. Med. Chem.*, 32:788-792); 파클리탁셀의 2' 및 7-아미노산 유도체(2' and 7-amino acid derivatives) 및 그 염(Matthew 외 (1992) *J. Med. Chem.*, 35:145-151; 설펜네이트 유도체(sulfonate derivatives)(Zhao 외 (1991) *J. Nat. Prod.*, 54:1607-1611; 7-포스페이트(7-phosphate) 파클리탁셀 유사체(Vyas 외 (1993) *Bioorg. Med. Chem., Lett.*, 3:1357-1360); 파클리탁셀의 2' 및 7-폴리에틸렌 글리콜 에스테르(2' and 7-polyethylene glycol esters)(Greenwald 외 (1995) *J. Org. Chem.*, 60:331-336; Greenwald 외 (1996) *J. Med. Chem.*, 39:424-431); 2' 및 7-포스포녹시페닐-프로피오네이트 파클리탁셀(2' and 7-Phosphonoxyphenyl-propionate paclitaxel)(Ueda 외 (1993) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 3:1761-1766); 파클리탁셀의 2' 및 7-메틸피리디늄 아세테이트 유사체(2' and 7-Methylpyridinium acetate analogues)(Nicolaou 외 (1994) *Angew Chemie*, 106:1672-1675); Paloma 외 (1994) *Chem. Biol.*, 1:107-112); 2' 위치에서 말레인산(maleic acid)을 가진 파클리탁셀의 프로드러그(Damen 외 (2000) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8:427-432); 탁산 특히 탁술의 설펜네이트 염(미국 특허번호 제5,059,699호); 탁산의 지용성을 향상시키기 위해 아실 쇠(acyl chain)가 부착된 유도체(예컨대 미국 특허번호 제6,482,850호 참조); 무수 산물(anhydrous product)보다 더 큰 안정성을 나타내는 도세탁셀의 삼수화물 형태(미국 특허번호 제6,022,985호 및 제6,838,569호); C-10 위치에서 카바메이트(carbamate) 모이어티를 포함하는 것들을 포함하는, C-10 탁산 유도체(미국 특허번호 제8,138,361호); 소수성 탁산 유도체(미국 특허 공개번호 US20090263483호); 및 탁산의 카복실레이트(carboxylate) 유도체를 포함하는 하이드라지드(hydrazide)(예컨대 미국 특허번호 제8,133,888호 참조).

[0361]

b. 종양- 또는 기질- 표적 탁산

[0362]

본원의 조성물 및 조합물에서 제공되는 탁산 화합물은 일반적으로 종양 또는 종양을 둘러싼 기질을 표적화하기 위해 제조된다. 본원에서 제공되는 조성물 및 조합물에서 탁산은 또한 개선된 가용성을 나타내는 가용화된 또는 나노분산된(nanodispersed) 제형으로서 제공된다.

[0363]

천연 또는 반-합성적으로 생산된 파클리탁셀(탁술)은 낮은 수용성 및 비-특이적 표적화 또는 국소화(localization)와 같은 문제로부터 고통받는다. 예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀을 포함하여, 탁산은 수용성이 매우 낮고(10 µg/mL 미만), 결과적으로, 정맥내 투여를 위한 수성 매체로 사실상 제형화될 수 없다. 수용성 문제를 극복하기 위하여, 파클리탁셀의 현재의 제형은 암환자에게 정맥내 투여를 위해 폴리옥시에틸화 피마자유(폴리옥시 35(Polyoxyl 35) 또는 크레모포어®(Cremophor®))를 주된 용매/계면활성제로 하고, 공동 용매로 고농도의 에탄올을 사용한 용액 내에 제형화된다. 파클리탁셀과 마찬가지로, 도세탁셀은 물에서 매우 가용성이 낮다. 현재, 도세탁셀을 용해하기 위해 사용되는 용매/계면활성제는 폴리소르베이트 80(polysorbate 80)(Tween 80)이다(Bissery 외 1991 *Cancer Res.* 51(18):4845-52; Tomiak 외 1992). 기존의 제형 내의 에탄올, 크레모포어 및/또는 트윈은, 심각한 피부 발적(skin rash), 두드러기(hives), 홍조(flushing), 호흡 장애(dyspnea), 빈맥(tachycardia) 및 기타를 포함할 수 있는, 과민반응의 발생과 관련이 있다.

[0364]

더 나아가, 암 조직에 대한 특이성을 증가시킴으로써, 탁산 분자는 감소된 전신적 효과 또는 노출로 인한 독성을 더 적게 나타낸다. 전형적으로, 종양-표적 탁산은 종양 인식 모이어티(tumor recognition moiety)에 대한 링커를 통해 직접적 또는 간접적으로 컨주게이션되거나 연결된 탁산, 유도체, 유사체 또는 프로드러그이다. 종양 인식 모이어티는 정상 세포와 비교하여 암세포에 선택적으로 발현되는 종양-특이적 마커 또는 모이어티를 인식하는 단일클론 항체, 단백질, 펩티드, 지질 또는 거대분자 복합체일 수 있다. 암세포는 탁산을 전달하기 위해 표적화될 수 있는 많은 종양-특이적 마커 또는 수용체를 과발현한다.

[0365]

종양-표적 탁산은 미셀(micelle), 나노입자(nanoparticle), 마이크로스피어(microsphere), 리포솜(liposome) 또는 하이드로겔(hydrogel) 제형으로서 제공될 수 있다. 이러한 제형은 수성 매체 내에서 낮은 가용성을 나타낼 수 있는 탁산과 같은 활성 성분을 캡슐화하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 제형은 당업자에게 잘 알려져 있다. 일부 예에서, 전달 비히클은 종양-표적화 모이어티, 예컨대 거대분자 복합체, 단일클론 항체, 단백질, 펩티드

또는 지질로 코팅 또는 컨주게이션된다. 그러므로, 일부 예에서, 약물 전달 플랫폼은 타산을 캡슐화하고, 그 자체가 종양 표적화를 달성하기 위해 표면에 표적 리간드 또는 기타 폴리머 코팅을 나타낸다.

- [0366] 예시적인 종양-표적 타산 및 이의 제형은 폴리-L-글루타메이트(poly-L-glutamate)와 같은 거대분자인 종양 표적 모이어티(PGA-TXL, Xyotax; Li 외 (1998) *Cancer Res.*, 58:2404-2409); p140 TrkA 또는 p75 수용체와 같은 종양 마커에 대해 특이적인 단일클론 항체(Guillemard and Saragovi (2001) *Cancer Res.*, 61:694) 또는 항-표피 성장 인자 수용체(anti-epidermal growth factor receptor)(즉, 항-EGFR 단일클론 항체, 예컨대 세툽시맙(cetuximab); Safavy 외 (2003) *Bioconjug.*, 14:302-10; Ojima 외 (2002) *J. Med. Chem.*, 45:5620-3), 항-HER2 (허셉틴(Herceptin), 트라스투주맙(trastuzumab), Cirstoiu-Hapca 외 (2010) *J. Control Release*, 144:324-31); 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid)과 같은 다가불포화 지방산 (DHA; Bradley 외 (2001) *Clin. Cancer Research*, 7:3229-38), 리놀렌산(linolenic acid) 또는 리놀레산(linoleic acid) (Kuznetsova 외 (2006) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15:974-7); 세포 표면 봄베신(bombesin)/가스트린(gastrin)-방출 펩티드(BBN/GRP)에 결합하는 BBN[7-13]으로 명명된 7-아미노산 합성 펩티드와 같은 펩티드(Safavy 외 (1999) *J. Med. Chem.*, 42:4919-4924), LRP-1 표적 19 아미노산 펩티드 안지오펩-2(angiopep-2) (Wen 외 (2011) *Molecular Cancer Therapeutics*, 10 (11 Suppl):Abstract B49), 기질 메탈로프로테아제 2(matrix metalloprotease 2)에 의해 절단되는 옥타펩티드(octapeptide)(MMP2; Yamada 외 (2010) *Cancer Biology and Therapy*, 9:192-203), RGD 펩티드 (예컨대 Zhao 외 (2009) *J. Drug Target*, 17:10-8 참조); 바이오틴(biotin)을 포함하는, 비타민 수용체와 같은 종양-특이적 수용체를 표적화하는 단백질(비타민 H 또는 B-7, 폴레이트(folate) 또는 엽산(folic acid), 비타민 B12 또는 리보플라빈(riboflavin)(예컨대 Chen 외 (2010) *Biconjug. Chem.*, 21:979-987, Li 외 (2011) *International Journal of Nanomedicine*, 6:1167-1184 참조); 히알루론산(HA)(Auzenne 외 (2007) *Neoplasia*, 9:479-486); 트랜스페린(transferrin)(Sahoo 외 (2004) *Int. J. Cancer*, 112:335-40); 및 알부민(albumin)을 포함한다.

[0367] 알부민-결합 타산

- [0368] 가용성 폴리머-약물 복합체의 예는 알부민-컨주게이션된 타산이다. 알부민은 내인성 소수성 분자, 예컨대 비타민 또는 호르몬의 천연 담체이다. 담체로서 작용할 뿐 아니라, 알부민은 또한 내피세포의 표면상의 gp60에 결합함으로써 단백질-결합한 혈장 구성요소의 내피 트랜스사이토시스(transcytosis)를 용이하게 하는데, 이는 소포-매개 트랜스사이토시스(caveolae-mediated transcytosis)를 달성한다. 알부민은 또한 많은 종양 세포에 존재하는, 시스테인(cystein)이 풍부한 분비된 단백질(SPARC, 오스테오넥틴(osteonectin)으로도 알려짐)에 결합할 수 있다. 따라서, 알부민은 알부민-결합 약물의 종양 세포 축적을 촉진한다.

- [0369] 알부민은 인간 혈청 알부민(human serum albumin, HSA) 뿐 아니라 비-인간 알부민 예컨대 소 혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA)을 포함한다. HSA는 M_r 65K의 가용성이 높은 구형 단백질이고 585 아미노산(서열번호 211)을 포함한다. HSA는 혈장 내에 가장 풍부한 단백질이며 인간 혈장의 교질 삼투압(colloid osmotic pressure)의 70-80%를 차지한다. HSA의 아미노산 서열은 총 17개의 디설파이드 가교(disulfide bridge), 1개의 자유 티올(thiol)(Cys 34), 및 단일 트립토판(single tryptophan)(Trp 214)을 포함한다.

- [0370] 인간 혈청 알부민(HSA)은 복수 개의 소수성 결합 부위를 갖고(HSA의 내인성 리간드인 지방산에 대해 총 8개) 다양한 세트의 약제학적 제제, 특히 중성 및 음성 전하를 띤 소수성 화합물에 결합하는 것으로 보여진 바 있다(Goodman 외, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th ed., McGraw-Hill New York (1996)). 2개의 친화성이 높은 결합 부위가 HSA의 서브도메인(subdomain) IIA 및 IIIA에 제시되는데, 이는 극성 리간드 특징에 대한 부착 지점으로서 기능하는 표면에 가까운 하전된 라이신(lysine) 및 아르기닌(arginine) 잔기를 갖는 매우 연장된 소수성 포켓(pocket)이다(예컨대 Fehske 외, *Biochem. Pharmacol.*, 30, 687-92 (1981), Vorum, *Dan. Med. Bull.*, 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, *Dan. Med. Bull.*, 37:57-84 (1990), Curry 외, *Nat. Struct. Biol.*, 5, 827-35 (1998), Sugio 외, *Protein. Eng.*, 12, 439-46 (1999), He 외, *Nature*, 358, 209-15 (1992), 및 Carter 외, *Adv. Protein. Chem.*, 45, 153-203 (1994) 참조). 파클리탁셀 및 도세탁셀은 HSA에 결합하는 것으로 보여진 바 있다(예컨대 Paal 외, *Eur. J. Biochem.*, 268(7), 2187-91 (2001), Purcell 외, *Biochim. Biophys. Acta*, 1478(1), 61-8 (2000), Altmayer 외, *Arzneimittelforschung*, 45, 1053-6 (1995), Garrido 외, *Rev. Esp. Anestesiol. Reanim.*, 41, 308-12 (1994); 및 Urien 외, *Invyvest. New Drugs*, 14(2), 147-51 (1996) 참조).

- [0371] 조성물 내의 타산에 대한 알부민의 중량비는 약 20:1 또는 그 미만, 예컨대 19:1, 18:1, 17:1, 16:1, 15:1, 14:1, 13:1, 12:1, 11:1, 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1 또는 그 미만, 및 일반적으로 적어도 약 9:1이다. 아

기되는 산물은 용매 및/또는 계면활성제가 없도록 생성될 수 있다. 탁산은 알부민으로 코팅된다. 탁산/알부민 나노입자는 일반적으로 200 nm를 초과하지 않는 평균 지름, 일반적으로 100 nm 내지 200 nm, 예컨대 130 nm의 평균 지름을 가진다.

[0372] 예를 들어, 알부민-결합 탁산은 알부민-결합(nab-)파클리탁셀(예컨대 아브락산(Abraxane), American Bioscience, Inc. (Santa Monica, CA); 또한 미국 특허번호 제5,439,686호 및 제6,749,868호에 기술됨) 또는 알부민-결합 도세탁셀(예컨대 예를 들어 미국 특허출원 공개번호 제20080161382호, 제20070117744호 및 제20070082838호 참조)을 포함한다. 인간 알부민은 응집을 방지하기 위해 파클리탁셀 나노입자에 전하 및 입체적 안정화를 제공하는 표면-활성 폴리머로서 기능한다. 안정화는 알부민이 파클리탁셀 나노입자의 표면에 흡착하여, 파클리탁셀 입자의 응집을 방지하는 표면-활성 폴리머로서 기능하는 판(sheet)을 생성한다는 사실에 의해 달성된다. 파클리탁셀과 인간 알부민 간의 상호작용은 약하고 두 물질 모두 재구성 후 자유롭게 해리한다. 따라서, 재구성되어 혈류 내로 주사되었을 때, 파클리탁셀 농도는 빠르게 감소하며 알부민 입자는 개별적인 알부민 분자 내로 해리한 후 파클리탁셀이 여전히 부착된 상태로 순환한다고 믿어진다. 특히, 알부민-결합된 파클리탁셀(예컨대 nab-파클리탁셀 또는 아브락산)은 파클리탁셀 및 인간 혈청 알부민이 식염수 용액(0.9% NaCl) 내에 희석된 동결건조된 제형으로부터 유래된 콜로이드 현탁액으로서 사용될 수 있다. 야기되는 약물 입자 복합체는 130 nm의 평균 크기로 안정화된다. 기타 탁산을 포함하는 나노입자, 예컨대 본원의 상기에서 언급된 임의의 나노입자가, 또한 생성되고 사용될 수 있고, 상기 기술된 것과 같은 동일한 특징을 포함할 수 있다.

[0373] 3. 추가적인 화학치료제(예컨대 뉴클레오시드(nucleoside) 유사체)

[0374] 선택적으로, 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 및/또는 탁산 제형의 하나 또는 둘 다와의 공동-투여에 의해 활성이 개선되거나 증가된 추가적인 화학치료제가 본원에서 제공되는 병용치료에 포함될 수 있다. 예를 들어, 1 또는 그 이상의 뉴클레오시드 유사체, 특히 항-대사물질은 본원에서 제공되는 병용치료에 포함될 수 있다. 그들이 세포로 진입한 후에, 뉴클레오시드 유사체는 뉴클레오시드 5'-모노-포스페이트, 디-포스페이트 및 트리-포스페이트로 연속적으로 인산화(phosphorylate)된다. 예를 들어, 일반적으로, 뉴클레오시드 유사체는 뉴클레오시드가 트리포스페이트로 인산화됨으로써 활성 화합물로 전환되는데(예컨대 디포스페이트 키나제에 의해), 이는 그 후 DNA 내로의 통합을 위한 기질(substrate)로서 생리적 뉴클레오시드(예컨대 dCTP)와 경쟁할 수 있다. 따라서, 뉴클레오시드 유사체는 생리적 뉴클레오시드를 모방한다. 일단 통합되면, 상기 유사체는 비효율적인 기질이어서, 복제를 지연시키고 및/또는 연쇄 종결(chain termination)을 야기한다. 뉴클레오시드 유사체의 리뷰를 위해서는 Sampath 외 (2003), *Oncogene*, 22:9063-9074를 참조하라. 뉴클레오시드 유사체가 활성 형태의 전환을 요구하기 때문에, 뉴클레오시드 유사체는 일반적으로 활성 형태로 인산화되어야만 하는 프로드러그이다.

[0375] 본원의 조성물 및 조합물에서 사용하기 위한 뉴클레오시드 유사체는 퓨린(purine) 및 피리미딘(pyrimidine) 뉴클레오시드 유사체 뿐 아니라 이의 유도체 및 프로드러그 형태를 포함한다. 피리미딘 뉴클레오시드 유사체는 플루오로피리미딘 5-플루오로우라실(fluoropyrimidine 5-fluorouracil)(5-FU; fluorouracil), 5-플루오로-2'-데옥시시티딘(5-fluoro-2'-deoxycytidine)(FCdR), 아라비노실사이토신(arabinosylcytosine)(아라-C(ara-C); 또한 사이토신 아라비노사이드(cytosine arbinoside) 또는 시타라빈(cytarabine)으로도 알려짐), 겐시타빈(gemcitabine) (2'-데옥시-2',2'-디플루오로시티딘(2'-deoxy-2',2'-difluorocytidine)), 트록사시타빈(troxacitabine)(베타-L-디옥솔레인 시티딘(beta-L-dioxolane cytidine), BCH-4556), 데시타빈(decitabine)(5-아자-2'-데옥시시티딘(5-aza-2'-deoxycytidine)), 아자시티딘(Azacytidine)((4-아미노-1-β-D-리보퓨라노실-1,3,5-트리아진-2(1H)-온(4-amino-1-β-D-ribofuranosyl-1,3,5-triazin-2(1H)-one)), 슈도이소시타빈(pseudoisocytidine)(psi ICR), 5-아자-2'-데옥시-2',2'-디플루오로시티딘(5-aza-2'-deoxy-2',2'-difluorocytidine); 5-아자-2'-데옥시-2'-플루오로시티딘(5-aza-2'-deoxy-2'-fluorocytidine); 1-β-D-리보퓨라노실-2(1H)-피리미딘온(1-β-D-ribofuranosyl-2(1H)-pyrimidinone)(제불라린(Zebularine)); 2'3'-디데옥시-5-플루오로-3'-티아시티딘(2',3'-dideoxy-5-fluoro-3'-thiacytidine)(엠트리바(Emtriva)); 2'-사이클로시티딘(2'-cyclocytidine)(안시타빈(Ancitabine)); 1-β-D-아라비노퓨라노실-5-아자사이토신(1-β-D-arabinofuranosyl-5-azacytosine)(파자라빈(Fazarabine) 또는 아라-AC(ara-AC)); 6-아자시티딘(6-azacytidine)(6-aza-CR); 5,6-디하이드로-5-아자시티딘(5,6-dihydro-5-azacytidine)(dH-aza-CR); N⁴-펜틸옥시 카보닐-5'-데옥시-5-플루오로시티딘(N⁴-pentylloxycarbonyl-5'-deoxy-5-fluorocytidine)(카페시타빈(Capecitabine)); N⁴-옥타데실-시타라빈(N⁴-octadecyl-cytarabine); 및 엘라딕산 시타라빈(elaidic acid cytarabine), 및 이의 유도체 및 전구체 형태를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 퓨린(purine) 뉴클레오시드 유도체는, 예를 들어

어 플루다라빈(fludarabine), 클라드리빈(cladribine), 클로파라빈(clofarabine), 넬라라빈(nelarabine), 포로데신(forodesine), 펜토스타틴(pentostatin) 및 테자시타빈(tezacitabine), 및 유도체 및 전구체 형태를 포함한다.

[0376] 뉴클레오시드 유사체의 기타 프로드러그 형태는 알려져 있거나 생성될 수 있다. 예를 들어, 기타 프로드러그 형태는 세포적 흡수의 성질 및/또는 탈아미노산 효소(deaminase)에 의한 불활화에 대한 저항성을 변화시키기 위해 변형된 것들을 포함한다(하기에서 논의됨). 예를 들어, 이러한 프로드러그 형태는 개선된 경구 흡수 및/또는 증가된 또는 특이적인 조직 표적화를 허용할 수 있다(Li 외 (2008) *Journal Pharm. Science*, 97:1109-1134).

[0377] 일부 뉴클레오시드 유사체의 항종양 활성은 달성될 수 있는 낮은 세포독성 수준에 의해 제한되어 왔다. 이는 상당 부분 많은 조직에서 발생할 수 있는 효소의 불활화로 인한 것이다. 예를 들어, 일부 뉴클레오시드 유사체의 대사적 불활화는 탈아미노화에 의해 유발될 수 있다. 탈아미노화는 뉴클레오티드-특이적 탈아미노산 효소, 예컨대 아데노신 탈아미노 효소 또는 시티딘 탈아미노 효소(cdA)에 의해 촉매될 수 있다. 따라서, 일부 암 약물은 유기체의 천연적으로 발생하는 효소, 예컨대 아데노신 탈아미노 효소(ADA, EC 3.5.4.4) 및 시티딘 탈아미노 효소(CDA, 또는 사이토신 뉴클레오시드 탈아미노산 효소, 시티딘 아미노하이드롤라제(cytidine aminohydrolase, 또는 EC 3.5.4.5로 명명됨)에 의해 대사된다. 이러한 효소는 인간 및 기타 유기체에서 천연 아미노퓨린 및 아미노피리미딘 뉴클레오시드를 탈아미노화하는 기능을 한다. 이러한 효소는 또한 활성 뉴클레오시드-기반 암 약물을 불활성 대사물질로 전환한다. 예를 들어, CDA는 피리미딘 회수경로(salvage pathway)의 구성요소이다. 이는 가수분해 탈아미노화(hydrolytic deamination)에 의해 시티딘 및 데옥시시티딘을 유리딘(uridine) 및 데옥시유리딘(deoxyuridine)으로 각각 전환한다(Cacciamani 외 (1991) *Arch. Biochem. Biophys.* 290:285-292; Wentworth and Wolfenden (1978) *Methods Enzymol.* 57:401-407; Wisdom and Orsi (1967) *Biochem. J.* 104:7P). 이는 또한 아라-C 및 기타 하기에서 기술되는 것들과 같은 임상적으로 유용한 약물인 다수의 합성 사이토신 유사체를 탈아미노화한다(Eliopoulos 외 (1998) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 42:373-378; Kees 외 (1989) *Cancer Res.* 49:3015-3019; *Antiviral Chem. Chemother.* (1990) 1:255-262). 예를 들어, 내인성 효소 데옥시시티딘 탈아미노 효소에 의한 상응하는 우라실 유도체(dFdU)로의 급속한 탈아미노화로 인해, 혈장 내의 젬시타빈의 반감기는 대략적으로 10분이다(P. G. Johnston 외, *Cancer Chromatography and Biological Response Modifiers*, Annual 16, 1996, Chap. 1, ed. Pinedo H. M. 외).

[0378] 예를 들어, 퓨린 뉴클레오시드 약물 아라비노실아데닌(arabinosyladenine)(플루다라빈(fludarabine), 아라-A)는 ADA에 의해 탈아미노화된다; 부모 아미노기가 하이드록실로 치환된, 야기되는 화합물은 부모 화합물과 비교하여 항종양 제제로서 불활화된다. 유사하게, 약물 아라비노실사이토신(arabinosylcytosine)(또한 시타라빈 아라-C 또는 아라 C로 명명됨); 4-아미노-1-(β-D-아라비노푸라노실)-2(1H)-피리미딘온(4-Amino-1-(β-D-arabinofuranosyl)-2(1H)-pyrimidinone); 사이토신 아라비노사이드(Cytosine arabinoside); 또는 1-(β-D-아라비노푸라노실)사이토신(1-(β-D-Arabinofuranosyl)cytosine)은 CDA에 의해 불활성 아라비노실우라실(arabinosyluracil)로 대사적으로 분해된다. 젬시타빈, 데시타빈, 아자시티딘 및 기타는 또한 유사하게 불활화된다. 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 사이토신 뉴클레오시드 및 그 유사체(예컨대 시타라빈 및 젬시타빈)의 탈아미노화는, 활성 대사물질로서 작용하는 그들의 독성 세포내 트리포스페이트 유도체의 축적을 방지한다.

[0379] 사이토신 화합물의 유리딘 유도체로의 전환은 보통 치료적 활성의 소실 또는 부작용의 부가를 부여한다. 또한 사이토신 유사체 약물에 대해 저항성을 획득한 암이 종종 CDA를 과발현한다고 보여진 바 있다(*Leuk. Res.* 1990, 14, 751-754). 높은 수준의 CDA를 발현하는 백혈병 세포 및 고형 종양은 사이토신 항대사물질에 대해 저항성을 초래하여 이러한 치료제의 항신생물적 활성을 제한할 수 있다(*Biochem. Pharmacol.* 1993, 45:1857-1861). 뉴클레오시드 유사체에 대한 저항성은 증가된 투여량, 지속되는 주입 또는 반복적 투여를 요구할 수 있다. 이러한 효과는 특히 골수억제 및 면역억제와 관련된 심각한 유해한 효과(adverse effect)로 이어질 수 있다.

[0380] 반응성 산소 종(ROS)은 뉴클레오시드 탈아미노산 효소를 포함하는 효소의 불활화와 관련된다. 타산은 종양내 ROS를 유도하는 것으로 알려져 있으며, 따라서 뉴클레오시드 탈아미노산 효소의 활성을 불활화할 수 있다(예컨대 Frese 외 (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269 참조).

[0381] 따라서, 본원의 목적을 위해, 본원에서 제공되는 조합물 및 조성물에서 사용하기 위한 예시적인 뉴클레오시드 유사체는 탈아미노산 효소의 기질이고, 이에 의해 불활화되는 것들이다. 예를 들어, 상기 탈아미노산 효소는 시티딘 탈아미노 효소 또는 아데노신 탈아미노 효소일 수 있다. 이러한 유사체의 종양내 수준 및 활성은 폴리머-컨주게이션된 히알루론산 분해 효소 및 타산 제형으로의 병용치료에서 크게 증가될 수 있다. 이러한 뉴클레오시드 유사체의 예는 플루다라빈, 시타라빈, 젬시타빈, 데시타빈 및 아자시티딘 또는 이의 유사체를 포함하나 이에

제한되지 않는다. 특정 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 방광, 유방, 폐, 난소, 췌장 및 기타 암과 같은 고형 종양을 치료할 수 있는 것이다.

[0382] 본원에서 제공되는 임의의 뉴클레오시드 유사체는 리포좀, 마이크로입자, 나노입자, 또는 폴리머-컨주게이트로 제형화될 수 있다. 예를 들어, 제형은 투여되는 약물의 전달을 조절 및/또는 투여되는 약물의 반감기를 증가시키기 위해서 제조될 수 있다. 예를 들어, 예시적인 리포좀 제형이 알려져 있다(예컨대 미국 특허번호 제 5,736,155호 및 제8,022,279호 참조).

[0383] 예시적인 뉴클레오시드 유사체

[0384] i) 젬시타빈(gemcitabine)

[0385] 젬시타빈(2',2'-디플루오로데옥시시티딘, 2',2'-difluorodeoxycytidine, dFdC)은 데옥시시티딘의 디플루오르화 유사체이고 따라서 뉴클레오시드 유사체 또는 항대사물질이다. 젬시타빈이 세포로 진입한 후, 뉴클레오시드 모노포스페이트 및 디포스페이트 키나제에 의한 세포내 인산화는 5'-디포스페이트(5'-diphosphate, dFdCDP) 및 5'-트리포스페이트(5'-triphosphate, dFdCTP) 유도체를 각각 생산한다. 젬시타빈 트리포스페이트는 DNA 내로의 통합에 대해 dCTP와 경쟁하는 거짓 염기(fraudulent base)이다. DNA 내로 통합되는 경우, DNA 쇠 연장이 정지되기 전에 오직 1개의 추가적인 뉴클레오티드가 통합될 수 있다. DNA 폴리머라제 엡실론(epsilon)은 그 때 젬시타빈 뉴클레오티드를 제거할 수 없으며 성장하는 DNA 가닥을 수선할 수 없다(마스킹(mask)된 쇠 종결).

[0386] 젬시타빈은 동결건조된 분말 제형인 젬자(Gemzar®)로서 판매된다. 주사용 젬시타빈, USP인 젬자®은 2'-데옥시-2',2'-디플루오로시티딘 모노하이드로클로라이드(2',2'-difluorocytidine monohydrochloride)(β-이성질체)인 젬시타빈 HCl을 포함한다. 젬자®은 멸균 동결건조 분말로서 만니톨(mannitol)(각각 200 mg 또는 1 g) 및 소듐 아세테이트(sodium acetate)(각각 12.5 mg 또는 62.5 mg)로 제형화된 젬시타빈 HCl(자유 염기로서 나타남)을 200 mg 또는 1 g 포함하는 정맥내 제형으로서 공급된다. 상기 제형의 pH는 염산 및/또는 수산화나트륨의 첨가에 의해 조정될 수 있다. 젬자®을 제조하는 과정 및 이를 사용하는 방법은 미국 특허번호 제5,464,826호 및 미국 특허번호 제4,808,614호에서 기술된다. 젬자®은 췌장암, 유방암 및 비-소세포 폐암(NSCLC)의 치료에 대해 승인되었으며 난소암에 대하여 평가되고 있다. 또한 젬자®은 HCV의 치료에서 뿐 아니라 면역 기능의 조절자(modulator)로서 사용될 수 있다(미국 특허번호 제6,555,518호 참조). 젬자®은 최대 7주까지 주 1회 투여하고 그 후 1주 동안 치료를 쉬면서, 대략 1000 내지 1250 mg/m²의 용량으로 30분에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다.

[0387] 수 개의 프로드러그 형태를 포함하여, 젬시타빈의 합성 유도체가 알려져 있다(예를 들어, Ishitsuka 외, 국제 공개공보 W003/043631호; Alexander 외 (2003) *J. Med. Chem.*, 46: 4205-4208; 미국 특허번호 제6,303,569호; Guo 외 (2001) *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 48:169-176; 국제 공개번호 W001/21135호; Di Stefano 외 (1999) *Biochem. Pharmacol.*, 57: 793-799; Guo 외 (1999) *J. Org. Chem.*, 64: 8319-8322; 국제 공개번호 W099/33483호; 국제 공개번호 W098/32762호; 국제 공개번호 W098/00173호; 미국 특허번호 제5,606,048호; 미국 특허번호 제5,594,124호; 유럽 특허 출원 번호 EP712860호; 미국 특허번호 제5,521,294호; 미국 특허번호 제5,426,183호; 미국 특허번호 제5,401,838호; 유럽 특허번호 EP0376518호; 유럽 특허 출원 번호 EP577303호; 유럽 특허 출원 번호 EP576230호; Chou 외(1992) *Synthesis*, 565-570; Richardson 외 (1992) *Nucleic Acid Res.*, 20: 1763-1768; Baker 외 (1991) *J. Med. Chem.*, 34: 1879-1884; 국제 공개번호 W091/15498호; 유럽 특허 출원 번호 EP329348호; 유럽 특허 출원 번호 EP272891호 참조).

[0388] 예시적인 개선했던 프로드러그는 젬시타빈 엘라이데이트(gemcitabine elaidate)(또한 9(E)-옥타데세노산 2'-데옥시-2',2'-디플루오로시티딘-5'-일 에스테르(9(E)-Octadecenoic acid 2'-deoxy-2',2'-difluorocytidin-5'-yl ester)로 불림); 2'-데옥시-2',2'-디플루오로-5'-O-[9(E)-옥타데세노일]시티딘(2'-Deoxy-2',2'-difluoro-5'-O-[9(E)-octadecenoyl]cytidine); CP-4126; 또는 CAS 등록번호 제210829-30-4호); 아젤레인산 젬시타빈 에스테르 메글루민염(Azelaic acid gemcitabine ester meglumine salt)(1-[5-O(9-카복시노나노일)-β-D-아라비노퓨라노실] 사이토신 메글루민염(1-[5-O(9-Carboxynonanoyl)-β-D-Darabinofuranosyl] cytosine meglumine salt)으로도 명명됨); 기타 아젤레인산 젬시타빈 에스테르의 염; 및 1-[4-(2-프로필펜탄아미도)-2-옥소-1H-피리미딘-1-일]-2-데옥시-2,2-디플루오로-β-D-리보퓨라노스(1-[4-(2-Propylpentanamido)-2-oxo-1H-pyrimidin-1-yl]-2-deoxy-2,2-difluoro-β-D-ribofuranose)(또한 LY-2334737로도 명명됨)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, CP-4126은 친지성(lipophilic)이고, 젬시타빈의 불포화 지방산 에스테르이다. CP-4126은 친지성으로 인하여 증가된 세포 흡수 및 축적을 나타내어 활성 대사물질로

의 전환 증가를 야기한다.

- [0389] 기타 뉴클레오시드 유사체와 비교하여, 젬시타빈 및 이의 유도체 또는 프로드러그는 특히 고형 종양에 대해, 더 큰 항종양 활성을 나타낸다. 젬시타빈의 항종양 활성은 체장암, 소-세포 및 비-소세포 폐암, 및 방광암에 대해 보여진 바 있다.
- [0390] 상대적으로 친수성 화합물인, 젬시타빈은 수동 확산을 통해 혈장으로 투과하는 데 제한된 능력을 갖는다. 따라서, 증가된 투여량 또는 주입이 요구된다. 젬시타빈 투여는 일부 부작용과 관련되어 있다. 세포독성 수준을 유지하기 위해 투여되는 투여량 또는 더 긴 주입 시간은 골수독성과 관련된 수 있으며, 상승된 간 트랜스아미나아제(liver transaminase) 효소, 오심 및 구토 및 피부 발적과 같은 유해한 효과와 관련될 수 있다.
- [0391] **ii) 시타라빈(Cytarabine)**
- [0392] 시타라빈은 본래 해면(spongy) *크립토테티아 크립타(Cryptotethya crypta)*로부터 분리된 뉴클레오시드 유사체이다. 시타라빈은 아라-CTP(ara-CTP)로 인산화되는데, 이는 dCTP와 경쟁할 수 있다. 아라-CTP는 DNA 내로 통합되어 연쇄 중합(chain polymerization) 및 DNA 수선을 방해할 수 있다. 시타라빈은 시티딘 탈아미노 효소에 의해 불활화될 수 있다.
- [0393] 시타라빈은 혈액암(hematologic cancer)에서 주로 사용되어 왔다. 시타라빈의 합성 유도체가 개발되었고 고형 종양에 대해 효능을 나타내는 것으로 보여진 바 있다. 이는 예를 들어 젬시타빈(상기 참조)을 포함한다. 예를 들어, 시타라빈의 에스테르 유도체가 알려져 있다. 이러한 유도체의 예는 시타라빈의 5'-엘라딕산 에스테르(elaidic acid ester)인 CP-4055이다(예컨대 Bristol 외 (1999) *Cancer Res.*, 59:2944 참조).
- [0394] 세포독성 효과의 충분한 수준을 유지하는 문제로 인하여, 투여되는 투여량 또는 증가된 주입 시간은 골수 억제 및 기타 특정한 조직 손상과 같은 부작용을 유발할 수 있다.
- [0395] **iii) 데시타빈(Decitabine)**
- [0396] 데시타빈(5-아자-2'-데옥시시티딘(5-aza-2'-deoxycytidine), 5-아자-CdR(5-aza-CdR)은 시티딘의 피리미딘 뉴클레오시드 유사체이다. 데시타빈은 피아실글리코실 이소시아나이트(peracylglycosyl isocyanate)의 고리화(cyclization)에 의해 처음에 제조되었다(Pliml and Sorm (1964) *Collect. Czech. Chem. Commun.* 29:2576-2577). 데시타빈의 2가지 이성질체 형태(isomeric form)가 구별될 수 있다. β -이성질체(β -anomer)가 활성 형태이다. 데시타빈은 주사를 위한 멸균 동결건조 분말의 형태로, 상업적으로 판매되는 DACOGEN™ 제품의 활성 성분이다.
- [0397] 세포 내에서, 세포 주기의 S 기 동안 주로 합성되는 데옥시시티딘 키나제에 의해 데시타빈은 먼저 활성 형태인 인산화 5-아자-데옥시시티딘(5-aza-deoxycytidine)으로 전환된다. 데옥시시티딘 키나제의 촉매 부위에 대한 데시타빈의 친화성은 천연 기질인 데옥시시티딘과 유사하다(Momparler 외 (1985) *Pharmacol Ther* 30:287-299). 데옥시시티딘 키나제에 의한 트리포스페이트(triphosphate) 형태로의 전환 후, 데시타빈은 천연 기질인 dCTP의 속도와 유사한 속도로 복제되는 DNA 내로 통합된다(Bouchard and Momparler (1983) *Mol. Pharmacol.* 24:109-114).
- [0398] 데시타빈의 기능 중 하나는 DNA 메틸화를 특이적이고 강력하게 억제하는 능력이다. 사이토신의 5-메틸사이토신으로의 메틸화는 DNA의 수준에서 일어난다. 데시타빈의 DNA 가닥 내로의 통합은 저메틸화 효과(hypomethylation effect)를 갖는다. 분화된 세포의 각 분류는 고유의 뚜렷한 메틸화 패턴을 갖는다. 염색체 복제(chromosomal duplication) 후, 이 패턴의 메틸화를 보존하기 위해서, 부모 가닥 상의 5-메틸사이토신은 상보적인 딸 DNA 가닥 상의 메틸화를 유도하도록 작용한다. 사이토신의 5 위치의 탄소를 질소로 치환하는 것은 이 DNA 메틸화의 정상적 과정을 방해한다. 메틸화의 특정 위치에서 데시타빈으로 5-메틸사이토신의 치환은 아마도 효소와 데시타빈 간에 공유 결합의 형성으로 인해 DNA 메틸트랜스퍼라제의 비가역적 불활화를 유발한다(Juttermann 외 (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11797-11801). 메틸화를 위해 요구되는 효소인 DNA 메틸트랜스퍼라제를 특이적으로 억제함으로써, 종양 억제 유전자의 비정상적 메틸화가 방지될 수 있다.
- [0399] 데시타빈, 특히 β -이성질체를 제조하는 방법은 당업계에 알려져 있다(예컨대 미국 특허번호 제3,350,388호; 미국 특허번호 제3,817,980호; 미국 특허번호 제4,209,613호; 미국 출원 공개번호 US20120046457호; 국제 출원 공개번호 WO2008/101448호; Winkley 외 (1970) *J Org Chem*, 35:491-495; Piskala 외 (1978) *Nucleic Acids Research*, 1:s109-s114; Ben-Hattar 외 (1986) *J Org Chem*, 51:3211-3213 참조). 데시타빈은 당업계에 알려진 표준 방법에 의해 제형화될 수 있다. 상기 제형은 액체 또는 동결건조 제형일 수 있다. 예를 들어, 데시타빈은

중종 완충 염, 예컨대 포타슘 디하이드로진 포스페이트(potassium dihydrogen phosphate), 및 pH 조절제, 예컨대 수산화나트륨과 함께, 주사용 멸균 동결건조 분말로서 통상적으로 공급된다. 예를 들어, 데시타빈은 SuperGen, Inc.에 의해 50 mg의 데시타빈, 일염기(monobasic) 포타슘 디하이드로진 포스페이트, 및 수산화나트륨을 포함하는 20 mL 유리 바이알에 포장된 동결건조된 분말로서 공급된다. 주사를 위해 10 mL의 멸균수로 재구성되었을 때, 각 mL은 5 mg의 데시타빈, 6.8 mg의 KH_2PO_4 , 및 대략 1.1 mg의 NaOH를 포함한다. 야기되는 용액의 pH는 6.5-7.5이다. 재구성된 용액은 차가운 주입 액체, 즉 0.9% 소듐 클로라이드(sodium chloride); 또는 5% 텍스트로스; 또는 5% 글루코스; 또는 락테이트 링거액(Lactated Ringer's)에 1.0 또는 0.1 mg/mL의 농도로 추가적으로 희석될 수 있다. 개봉되지 않은 바이알은 본래 포장 내에서, 전형적으로 냉장 하에(2-8 °C; 36-46 °F) 보관된다. 액체 제형이 또한 알려져 있다(예컨대 미국 특허번호 제6,982,253호 참조).

[0400] 데시타빈은 시티딘 탈아미노 효소에 의해 촉매되는, 데시타빈의 5-아자-2'-데옥시유리딘(5-aza-2'-deoxyuridine)의 탈아미노화로 인해 생체내에서 짧은 반감기를 나타낸다(Chabot 외 (1983) *Biochemical Pharmacology* 22:1327-1328). 데시타빈의 추정된 K_m 은 천연 기질인 데옥시시티딘에 대한 12 μM 의 K_m 과 비교하여 인간 간으로부터 정제된 효소에 대해 250 μM 이었다. 데옥시시티딘의 탈아미노화의 속도는 같은 농도에서 시티딘 탈아미노 효소에 의한 데시타빈의 탈아미노화 속도보다 6배 더 컸다. 짧은 반감기로 인해, 데시타빈은 가장 전형적으로 주사, 예컨대 볼루스 정맥내 주사(bolus I.V. injection), 지속적 정맥내 주입(continuous I.V. infusion), 또는 정맥내 주입(I.V. infusion)에 의해 환자에게 투여된다.

[0401] 정맥내 주입의 길이는 수성 용액 내의 데시타빈의 분해에 의해 제한될 수 있다. 데시타빈의 유도체는 수성 용액 내에서 보다 안정하게 존재한다(예컨대 미국 특허번호 제7,250,416호 참조).

[0402] iv) 아자시티딘(Azacytidine)

[0403] 아자시티딘, AZA, 또는 4-아미노-1- β -D-리보푸라노실-1,3,5-트리아진-2(1H)-온(4-amino-1- β -D-ribofuranosyl-1,3,5-triazin-2(1H)-one)으로도 알려진 5-아자시티딘(국립 서비스 센터 명명 NSC-102816; CAS 등록번호 320-67-2)은 데시타빈의 유사체이다(예컨대 Hanna 외 (1998) *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 63:222-230 참조). 이는 현재 약물 제품 비다자(VIDAZA ®)로서 판매된다. 아자시티딘은 뉴클레오시드 유사체, 보다 자세하게는 시티딘 유사체이다. 이는 천연 뉴클레오시드의 길항체이다. 예를 들어, 아자사이토신과 사이토신의 유일한 구조적 차이점은 아자사이토신에서 사이토신 고리의 위치 5에서 사이토신의 이 위치의 탄소와 비교하여 질소 원자의 존재이다.

[0404] 아자시티딘을 제조하는 방법, 특히 물의 사용을 회피하는 방법이 당업계에 알려져 있다(미국 특허번호 제3,350,388호; 미국 특허번호 제8,058,424호; Winkley and Robins (1970) *J. Org. Chem.*, 35:491; Piskala and Sorm (1978) *Nucl. Acid. Chem.*, 1:435; 및 Vorbrueggen 외 (1981) *Chemische Berichte*, 114:1234-1255 참조).

[0405] 아자시티딘은 시티딘 탈아미노 효소에 대한 기질이다(예컨대 Voytek 외 (1977) *Cancer Res.*, 37:1956-61 참조). 생체내에서 세포독성 효과를 나타내기 위해 고농도 또는 지속적 주입이 요구된다. 부작용은 특히 감소된 백혈구 및 적혈구 및 혈소판 수, 오심, 구토, 피로, 설사 및 기타 효과를 포함한다.

[0406] D. 히알루로난 분해 효소의 핵산 및 암호화 폴리펩티드를 생산하는 방법

[0407] 히알루로난 분해 효소, 예컨대 본원에 기술된, 가용성 히알루로니다아제의 폴리펩티드가 단백질 정제 및 재조합 단백질 발현에 대해 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 수득될 수 있다. 희망하는 유전자를 암호화하는 핵산의 확인을 위해 당업자에게 알려진 임의의 방법이 사용될 수 있다. 당업계에 이용가능한 임의의 방법은 예컨대 세포 또는 조직 기원으로부터 히알루로니다아제를 암호화하는 전장(full length)(즉, 전체 코딩 영역을 포괄하는) cDNA 또는 게놈 DNA 클론을 수득하기 위해 사용될 수 있다. 변형된 또는 변이체 가용성 히알루로니다아제가 예컨대 위치-지정 돌연변이에 의해 야생형 폴리펩티드로부터 조작될 수 있다.

[0408] 폴리펩티드는 핵산분자의 클로닝 및 분리에 대하여 당업계에서 알려진 임의의 이용가능한 방법들을 이용하여 클로닝되거나 분리될 수 있다. 이러한 방법들은 핵산의 PCR 증폭, 및 핵산 혼성화 스크리닝, 항체-기반 스크리닝 및 활성-기반 스크리닝을 포함한, 라이브러리 스크리닝을 포함한다.

[0409] 예를 들어, 중합효소 연쇄 반응(PCR) 방법을 포함한, 핵산의 증폭방법은 원하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 분리하는데 사용될 수 있다. 핵산 포함 재료는 원하는 폴리펩티드-암호화 핵산분자가 분리될 수 있는 출발재료로써 사용될 수 있다. 예를 들어, DNA 및 mRNA 제제, 세포추출물, 조직추출물, 액체시료(예컨대, 혈액,

혈청, 타액), 건강한 대상 및/또는 병에 걸린 대상의 시료가 증폭방법에서 사용될 수 있다. 핵산 라이브러리는 또한 출발재료의 기원으로서 사용될 수 있다. 프라이머는 원하는 폴리펩티드를 증폭하도록 설계될 수 있다. 예를 들어, 프라이머는 원하는 폴리펩티드가 생성되는 발현된 서열을 기초로 설계될 수 있다. 프라이머는 폴리펩티드 아미노산 서열의 역-번역을 기초로 설계될 수 있다. 증폭에 의해 생성되는 핵산분자를 시퀀싱하여 원하는 폴리펩티드를 암호화하는지 확인할 수 있다.

[0410] 벡터, 예를 들어 단백질 발현벡터, 또는 DNA 서열을 코딩하는 핵심 단백질의 증폭을 위하여 설계된 벡터 내로 합성 유전자를 클로닝하기 위한 목적으로 제한 엔도뉴클레아제 부위를 포함하는 링커서열을 포함하는, 추가 뉴클레오티드 서열이 폴리펩티드-암호화 핵산분자에 연결될 수 있다. 더욱이, 기능성 DNA 요소들을 특정하는 추가 뉴클레오티드 서열이 폴리펩티드-암호화 핵산분자에 작동가능하게 연결될 수 있다. 이러한 서열의 예는 세포내 단백질 발현을 용이하게 하도록 설계된 프로모터 서열, 및 단백질 분비를 용이하게 하는 분비서열, 예를 들어 이중(heterologous) 신호 서열을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 서열은 당업자에게 알려져 있다. 추가 뉴클레오티드 잔기 서열, 예컨대 단백질 결합영역을 특정화하는 염기의 서열이 또한 효소-암호화 핵산분자에 연결될 수 있다. 상기 영역은 특정 표적세포 내로 효소 흡수(uptake)를 용이하게 하는 단백질을 촉진하거나 암호화하거나, 또는 그렇지 않으면 합성 유전자 산물의 약동학을 변화시키는 잔기서열을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 효소는 PEG 모이어티(moiety)에 연결될 수 있다.

[0411] 또한, 예를 들어, 폴리펩티드의 검출 또는 친화성 정제(affinity purification)를 돕기 위한 태그 또는 다른 모이어티가 첨가될 수 있다. 예를 들어, 추가 핵산 잔기서열, 예컨대 에피토프 태그 또는 다른 검출가능한 마커를 특정화하는 염기서열이 또한 효소-암호화 핵산분자에 연결될 수 있다. 이러한 서열의 예는 His 태그(예컨대, 6xHis, HHHHHH; 서열번호 54) 또는 Flag 태그(DYKDDDDK; 서열번호 55)를 암호화하는 핵산서열을 포함한다.

[0412] 그다음 확인되고 분리된 핵산이 적절한 클로닝 벡터 내로 삽입될 수 있다. 당해 기술분야에서 알려진 많은 벡터-숙주 시스템들이 이용될 수 있다. 가능한 벡터는 플라스미드 또는 변형된 바이러스를 포함하나, 이에 제한되지 아니하나, 벡터 시스템은 사용된 숙주세포에 적합(compatible)해야만 한다. 이러한 벡터는 람다 유도체와 같은 박테리오파지, pCMV4, pBR322 또는 pUC 플라스미드 유도체, 또는 블루스크립트 벡터(Stratagene, La Jolla, CA)와 같은 플라스미드를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 다른 발현벡터는 본원에서 예시된 HZ24 발현벡터를 포함한다. 클로닝 벡터 내로의 삽입은, 예를 들어 상보성 점착종단(cohesive termini)을 가지는 클로닝 벡터 내로 DNA 절편을 연결(ligation)함으로써 달성될 수 있다. 삽입은 TOPO 클로닝 벡터(INVITROGEN, Carlsbad, CA)를 이용하여 행해질 수 있다. 만약 DNA 단편화에 사용된 상보적 제한부위(restriction sites)가 클로닝 벡터 내에 존재하지 않는다면, DNA 분자의 말단은 효소적으로 변형될 수 있다. 대안적으로, DNA 말단 상에 뉴클레오티드 서열(링커)을 연결함으로써 원하는 임의의 부위가 제조될 수 있다; 이러한 연결된 링커는 제한 엔도뉴클레아제 인식서열을 암호화하는, 특정한, 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 대안적 방법에서, 절단된 벡터 및 단백질 유전자는 호모폴리머 테일링(homopolymeric tailing)에 의해 변형될 수 있다. 재조합 분자는 예를 들어, 형질전환, 형질감염, 감염, 전기천공(electroporation) 및 초음파천공(sonoporation)을 통해 숙주세포 내로 도입되어, 많은 카피(copy)의 유전자 서열을 생성할 수 있다.

[0413] 특정 구현예에서, 분리된 단백질 유전자, cDNA 또는 합성된 DNA 서열을 통합한 재조합 DNA 분자로 숙주세포를 형질전환하는 것은 상기 유전자의 복수카피의 생성을 가능케 한다. 따라서, 형질전환체를 성장시키고, 형질전환체로부터 재조합 DNA 분자를 분리하고, 필요한 경우 분리된 재조합 DNA로부터 삽입된 유전자를 회수함으로써, 상기 유전자가 다량으로 획득될 수 있다.

[0414] 1. 벡터 및 세포

[0415] 하나 이상의 원하는 단백질, 예컨대 본원에서 기술된 임의의 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드의 재조합 발현을 위하여, 상기 단백질을 암호화하는 뉴클레오티드 서열의 전부 또는 일부를 포함하는 핵산이 적절한 발현벡터, 즉 삽입된 단백질 코딩서열의 전사 및 번역에 필수적인 요소를 포함하는 벡터 내로 삽입될 수 있다. 필수 전사 및 번역 신호가 또한 효소 유전자용 본래 프로모터, 및/또는 이들의 인접부위에 의해 제공될 수 있다.

[0416] 또한 효소를 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터가 제공된다. 벡터를 포함하는 세포가 또한 제공된다. 상기 세포는 진핵 및 원핵세포를 포함하며, 벡터는 그안에 사용하기 적합한 임의의 것이다.

[0417] 상기 벡터를 포함하는, 내피세포를 포함하는 원핵 및 진핵세포가 제공된다. 이러한 세포는 박테리아 세포, 효모 세포, 진균세포, 고세포(Archea), 식물세포, 곤충세포 및 동물세포를 포함한다. 암호화된 단백질이 세포에 의해

발현되는 조건하에서 상기-기술된 세포를 성장시키고, 발현된 단백질을 회수함으로써, 상기 세포를 이용하여 이들의 단백질을 생산한다. 본원의 목적을 위하여, 예를 들어, 효소가 배지 내로 분비될 수 있다.

[0418] 고유의 또는 이종의 신호 서열에 연결된, 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드, 일부 경우 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열 뿐만 아니라, 이들의 복수카피를 포함하는 벡터가 제공된다. 세포 내에서 효소 단백질의 발현을 위하여, 또는 상기 효소 단백질이 분비성 단백질로서 발현되도록 벡터를 선택할 수 있다.

[0419] 다양한 숙주-벡터 시스템이 단백질 코딩 서열을 발현하는데 사용될 수 있다. 이들은 바이러스(예컨대, 백신시아바이러스(*vaccinia virus*), 아데노바이러스(*adenovirus*) 및 다른 바이러스)로 감염된 포유류 세포 시스템; 바이러스(예컨대, 배큘로바이러스(*baculovirus*))로 감염된 곤충세포 시스템; 미생물, 예컨대 효모 벡터를 포함하는 효모; 또는 박테리오파지, DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA로 형질전환된 박테리아를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 벡터의 발현요소는 그들의 강도 및 특이성에서 다르다. 사용된 숙주-벡터 시스템에 따라, 다수의 적절한 전사 및 번역요소 중에서 임의의 하나가 사용될 수 있다.

[0420] DNA 단편을 벡터 내로 삽입하기 위한 당업자에 알려진 임의의 방법들이 적절한 전사/번역 조절 신호 및 단백질 코딩 서열을 포함하는 키메라 유전자를 포함하는 발현벡터를 구축하는데 사용될 수 있다. 이러한 방법들은 시험관내 재조합 DNA 및 합성 기법, 및 생체내 재조합체(유전자 재조합)를 포함할 수 있다. 단백질을 암호화하는 핵산서열, 또는 도메인, 유도체, 단편, 또는 이의 동족체(homologs)의 발현이 제2 핵산서열에 의해 조절됨으로써, 이의 유전자 및 단편이 재조합 DNA 분자(들)로 형질전환된 숙주에서 발현될 수 있다. 예를 들어, 단백질 발현은 해당 기술분야에서 알려진 임의의 프로모터/인핸서에 의해 조절될 수 있다. 특정 구현예에서, 프로모터는 원하는 단백질에 대한 유전자에 고유한 것이 아니다. 사용될 수 있는 프로모터는 다음을 포함하나, 이에 제한되지 않는다: SV40 초기 프로모터(early promoter)(Bernoist and Chambon, *Nature* 290:304-310(1981)), 라우스육종(Rous sarcoma) 바이러스의 3' 장 말단반복(long terminal repeat) 내에 포함된 프로모터(Yamamoto 외, *Cell* 22:787-797(1980)), 헤르페스 티미딘 키나제 프로모터(Wagner 외, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1441-1445(1981)), 메탈로티오네인 유전자의 조절서열(Brinster 외, *Nature* 296:39-42(1982)); 원핵생물 발현벡터, 예컨대 β -락타마제 프로모터(Jay 외, (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:5543) 또는 택(tac) 프로모터(DeBoer 외, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:21-25(1983)); 또한 [Scientific American 242:79-94(1980)] 내 "Useful Proteins from Recombinant Bacteria" 참조; 노팔린 합성효소(nopaline synthetase) 프로모터를 포함하는 식물 발현벡터(Herrar-Estrella 외, *Nature* 303:209-213(1984)) 또는 컬리플라워 모자이크(cauliflower mosaic) 바이러스 35S RNA 프로모터(Gardner 외, *Nucleic Acids Res.* 9:2871(1981)), 및 광합성 효소 리불로스 비스포스페이트 카복실라제(ribulose biphosphate carboxylase)의 프로모터(Herrera-Estrella 외, *Nature* 310:115-120(1984)); 효모 및 다른 진균 유래 프로모터 요소, 예컨대 Gal4 프로모터, 알코올 데하이드로지나아제 프로모터, 포스포글리세롤 키나제 프로모터, 알칼라인 포스파타제 프로모터, 및 조직특이성을 보이고 유전자 이식(transgenic) 동물에서 사용되어온 다음의 동물 전사조절부위: 췌장 포상세포(pancreatic acinar cells)에서 활성인 엘라스타제 I 유전자 조절영역(Swift 외, *Cell* 38:639-646(1984); Ornitz 외, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 50:399-409(1986); MacDonald, *Hepatology* 7:425-515(1987)); 췌장 베타세포에서 활성인 인슐린 유전자 조절 영역(Hanahan 외, *Nature* 315:115-122(1985)), 림프계 세포에서 활성인 면역글로불린 유전자 조절 영역(Grosschedl 외, *Cell* 38:647-658(1984); Adams 외, *Nature* 318:533-538(1985); Alexander 외, *Mol. Cell Biol.* 7:1436-1444(1987)), 고환, 유방, 림프계 및 비만세포에서 활성인 마우스 유선암 바이러스 조절 영역(Leder 외, *Cell* 45:485-495 (1986)), 간에서 활성인 알부민 유전자 조절 영역(Pinckert 외, *Genes and Devel.* 1:268-276(1987)), 간에서 활성인 알파-태아단백질(fetoprotein) 유전자 조절영역(Krumlauf 외, *Mol. Cell Biol.* 5:1639-1648(1985); Hammer 외, *Science* 235:53-58(1987)), 간에서 활성인 알파-1 항트립신 유전자 조절 영역(Kelsey 외, *Genes and Devel.* 1:161-171(1987)), 골수세포에서 활성인 베타글로빈 유전자 조절 영역(Magram 외, *Nature* 315:338-340(1985); Kollias 외, *Cell* 46:89-94(1986)), 뇌의 희소돌기아교세포(oligodendrocyte)에서 활성인 수초염기성단백질(myelin basic protein) 유전자 조절영역(Readhead 외, *Cell* 48:703-712(1987)), 골격근에서 활성인 미오신 경쇄-2 유전자 조절영역(Shani, *Nature* 314:283-286(1985)), 및 시상하부의 성선자극세포(gonadotrophs)에서 활성인 성선자극호르몬 분비호르몬(Mason 외, *Science* 234:1372-1378(1986)).

[0421] 특정 구현예에서, 원하는 단백질 또는 도메인, 이들의 단편, 유도체 또는 동족체를 암호화하는 핵산에 작동적으로 연결된 프로모터, 하나 이상의 복제기점 및 선택적으로 하나 이상의 선별마커(예컨대, 항생제 저항성(resistance) 유전자)를 포함하는 벡터가 사용된다. *E. coli* 세포의 형질전환용 플라스미드 벡터의 예는 예를

들어, pQE 발현벡터(Qiagen, Valencia, CA에서 입수가능; 또한 상기 시스템을 설명하는 Qiagen에 의해 공개된 문헌 참조)를 포함한다. pQE 벡터는 *E. coli*에서 엄격하게 조절되는, 재조합 단백질의 고수준 발현을 제공하는 파지 T5 프로모터(*E. coli* RNA 폴리머라제에 의해 인식됨) 및 이중 lac 오퍼레이터 억제모듈, 효율적인 번역을 위한 합성 리보솜 결합부위(RBS II), 6XHis 태그 코딩서열, t₀ 및 T1 전사 터미네이터, ColE1 복제기점, 및 암 피실린 저항성을 부여하는 베타-락타마제 유전자를 가진다. pQE 벡터는 재조합 단백질의 N- 또는 C-말단에 6xHis 태그의 배치를 가능하게 한다. 상기 플라스미드는 세계의 판독프레임 모두를 위한 다중 클로닝 부위(multiple cloning sites)를 제공하고, N-말단 6xHis-태그된 단백질의 발현을 가능하게 하는, pQE 32, pQE 30 및 pQE 31을 포함한다. *E. coli* 세포의 형질전환용 플라스미드 벡터의 다른 예는, 예를 들어, pET 발현벡터(미국특허번호 제4,952,496호 참조; NOVAGEN, Madison, WI에서 입수가능; 또한 상기 시스템을 설명하는 Novagen에서 공개된 문헌 참조)를 포함한다. 상기 플라스미드는 T7lac 프로모터, T7 터미네이터, 유도성 *E. coli* lac 오퍼레이터 및 lac 억제유전자를 포함하는 pET11a; T7 프로모터, T7 터미네이터 및 *E. coli* ompT 분비 신호를 포함하는 pET 12a-c; 및 His 컬럼으로 정제에서 사용하기 위한 His-TagTM 리더서열, 및 컬럼을 통한 정제후 절단을 가능케 하는 트롬빈 절단부위, T7-lac 프로모터 영역 및 T7 터미네이터를 포함하는 pET 15b와 pET19b(NOVAGEN, Madison, WI)를 포함한다.

[0422] 포유류 세포 발현용 벡터의 예는 HZ24 발현벡터이다. HZ24 발현벡터는 pCI 벡터 백본(Promega)로부터 유래되었다. 이는 베타-락타마제 저항성 유전자(AmpR)를 암호화하는 DNA, F1 복제기점, 사이토메갈로바이러스의 극-초기(immediate-early) 인핸서/프로모터 부위(CMV) 및 SV40 후기(late) 폴리아데닐화 신호(SV40)를 포함한다. 상기 발현벡터는 또한 ECMV 바이러스(Clontech)의 내부 리보솜 도입부위(Internal Ribosome Entry Site, IRES) 및 마우스 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 유전자를 가진다.

[0423] 2. 발현

[0424] 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드를 포함한, 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드는 생체내 및 시험관내 방법을 포함한 당업자에게 알려진 임의의 방법들에 의하여 생산될 수 있다. 원하는 단백질은 예컨대 투여 및 치료에 필요한, 상기 단백질의 요구되는 양 및 형태를 생산하기에 적합한 임의의 유기체에서 발현될 수 있다. 발현숙주는 진핵생물 및 원핵생물 유기체, 예컨대 *E. coli*, 효모, 식물, 곤충세포, 인간 세포주 및 유전자 이식 동물을 포함한 포유류 세포를 포함한다. 발현숙주는 그 단백질 생산 수준 뿐만 아니라 발현된 단백질에 존재하는 번역후 변형의 형태에서 상이하다. 발현숙주는 상기 및 기타 요인들, 예컨대 규제 및 안전성 고려사항, 생산비용 및 정제 필요성과 방법에 기초하여 선택될 수 있다.

[0425] 많은 발현벡터들이 이용가능하고, 당업자에게 알려져 있으며, 단백질의 발현을 위해 사용될 수 있다. 발현벡터의 선택은 숙주발현시스템의 선택에 의해 영향받을 것이다. 일반적으로, 발현벡터는 전사 프로모터와 선택적으로 인핸서, 번역 신호, 및 전사와 번역의 종결 신호를 포함할 수 있다. 안정한 형질전환에 사용되는 발현벡터는 형질전환된 세포의 선별 및 유지를 가능케하는 선별마커를 전형적으로 가진다. 일부 경우, 벡터의 카피수를 증폭시키기 위해 복제기점이 이용될 수 있다.

[0426] 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드와 같은 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드는 또한 단백질 융합으로서 활용되거나 발현될 수 있다. 예를 들어, 효소융합은 효소에 추가 기능성을 부가하도록 생성될 수 있다. 효소융합 단백질의 예는 신호 서열, 예컨대 국소화(localization)용 태그, 예를 들어 his₆ 태그 또는 myc 태그, 또는 정제용 태그, 예를 들어 GST 융합, 그리고 단백질 분비 및/또는 막 연합을 지시하는 서열의 융합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0427] a. 원핵세포

[0428] 원핵생물, 특히 *E. coli*는 대량의 단백질을 생산하기 위한 시스템을 제공한다. *E. coli*의 형질전환은 당업자에게 잘 알려진 간단하고 신속한 기술이다. *E. coli*용 발현벡터는 유도성 프로모터를 포함할 수 있고, 이러한 프로모터는 고수준의 단백질 발현 유도 및 숙주세포에 어떤 독성을 나타내는 단백질 발현에 유용하다. 유도성 프로모터의 예는 lac 프로모터, trp 프로모터, 혼성 tac 프로모터, T7과 SP6 RNA 프로모터 및 온도로 조절되는 λ PL 프로모터를 포함한다.

[0429] 단백질, 예컨대 본원에서 제공되는 임의의 것은 *E. coli*의 세포질 환경에서 발현될 수 있다. 상기 세포질은 환원성 환경이고, 일부 분자에 대하여, 이는 불용성 봉입체(inclusion bodies) 형성을 야기할 수 있다. 환원제, 예컨대 디티오트레이톨 및 β-머캅토에탄올 및 변성화제, 예컨대 구아니딘-HCl 및 요소가 단백질을 재용해하는데 사용될 수 있다. 대안적 접근법은 산화성 환경 및 샤페론-유사의 디설파이드 이소머라제(disulfide

isomerases)를 제공하여, 가용성 단백질의 생산을 야기할 수 있는, 박테리아의 주변세포질공간(periplasmic space) 내 단백질 발현이다. 전형적으로, 주변세포질로 단백질을 유도하는 리더서열이 발현되는 단백질에 융합된다. 이어서, 상기 리더는 주변세포질 내 신호 펩티다아제에 의해 제거된다. 주변세포질-표적 리더서열의 예는 펙테이트 리아제 유전자의 *pelB* 리더 및 알칼라인 포스파타제 유전자 유래 리더를 포함한다. 일부 경우, 주변세포질 발현은 배양배지 내로 발현된 단백질의 유출을 허용한다. 단백질의 분비는 배양 상청액으로부터 신속하고 간단한 정제를 가능케 한다. 분비되지 않는 단백질은 삼투압성 용해에 의해 주변세포질로부터 수득될 수 있다. 세포질 발현과 유사하게, 일부 경우 단백질은 불용성이 되며, 재용해 및 재-접힘(refolding)을 촉진하기 위해 변성화제와 환원제를 사용할 수 있다. 유도 및 성장 온도는 또한 발현수준 및 가용성에 영향을 줄 수 있으며, 전형적으로 25℃와 37℃ 사이의 온도가 사용된다. 전형적으로, 박테리아는 탈글리코실화된(aglycosylated) 단백질을 생산한다. 따라서, 만약에 단백질이 기능하는데 글리코실화를 필요로 한다면, 숙주 세포로부터 정제후 시험관내에서 글리코실화가 부가될 수 있다.

[0430] **b. 효모 세포**

[0431] 효모, 예컨대 사카로마이세스 세레비제(*Saccharomyces cerevisiae*), 쉬조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*), 아로위아 리포리티카(*Yarrowia lipolytica*), 클루이베로마이세스 락티스(*Kluyveromyces lactis*) 및 피치아 패스토리스(*Pichia pastoris*)가 단백질, 예컨대 본원에서 기술된 임의의 것의 생산에 사용될 수 있는 잘 알려진 효모 발현숙주이다. 효모는 에피솜 복제 벡터 또는 동종성 재조합에 의한 안정한 염색체 통합에 의해서 형질전환될 수 있다. 전형적으로, 유도성 프로모터는 유전자 발현을 조절하는데 사용된다. 이러한 프로모터의 예는 *GAL1*, *GAL7* 및 *GAL5*, 및 메탈로티오네인 프로모터, 예컨대 *CUP1*, *AOX1* 또는 다른 피치아(*Pichia*), 또는 다른 효모 프로모터를 포함한다. 발현벡터는 종종 형질전환된 DNA의 선별 및 유지를 위한 선별마커, 예컨대 *LEU2*, *TRP1*, *HIS3* 및 *URA3*을 포함한다. 효모에서 발현된 단백질은 종종 가용성이다. 샤페론, 예컨대 *Bip* 및 단백질 디설파이드 이소머라제와 공동-발현은 발현수준 및 가용성을 개선시킬 수 있다. 또한, 효모에서 발현된 단백질은 신호 펩티드 융합, 예컨대 사카로마이세스 세레비제의 효모 교배형 알파-인자 분비 신호, 및 효모 세포표면 단백질, 예컨대 *Aga2p* 교배 부착수용체(mating adhesion receptor) 또는 아르술라 아데니니보란스(*Arxula adeninivorans*) 글루코아밀라제와 융합을 이용하여 분비되도록 유도될 수 있다. *Kex-2* 프로테아제와 같은 프로테아제 절단부위는 분비경로를 탈출시, 발현된 폴리펩티드로부터 융합된 서열을 제거되도록 조작될 수 있다. 효모는 또한 *Asn-X-Ser/Thr* 모티프에서 글리코실화가 가능하다.

[0432] **c. 곤충세포**

[0433] 특히 배콜로바이러스 발현을 이용하는, 곤충세포는 폴리펩티드, 예컨대 히알루로니다제 폴리펩티드의 발현에 유용하다. 곤충세포는 고수준의 단백질을 발현하고, 고등 진핵생물에 의해 이용되는 번역-후 변형 대부분이 가능하다. 배콜로바이러스는 안전성을 개선하고, 진핵발현의 조절 우려(regulatory concerns)를 감소시키는 제한성 숙주범위를 가진다. 전형적인 발현벡터는 고수준 발현을 위한 프로모터, 예컨대 배콜로바이러스의 다각체(polyhedrin) 프로모터를 사용한다. 일반적으로 사용되는 배콜로바이러스 시스템은 배콜로바이러스, 예컨대 오토그라파 칼리포니카(*Autographa californica*) 핵다각체병 바이러스(AcNPV), 및 누에나방(*Bombyx mori*) 핵다각체병 바이러스(BmNPV) 및 곤충세포주, 예컨대 도둑나방(*Spodoptera frugiperda*), 멸강나방(*Pseudaletia unipuncta*)(A7S) 및 제왕나비(*Danaus plexippus*)(DpN1)에서 유래된 Sf9를 포함한다. 고수준의 발현을 위하여, 발현될 분자의 뉴클레오티드 서열이 바이러스의 다각체 개시코돈의 바로 하류에 융합된다. 포유류 분비 신호는 곤충세포에서 정확히 처리되고, 발현된 단백질을 배양배지 내로 분비하기 위하여 이용될 수 있다. 또한, 세포주 멸강나방(*Pseudaletia unipuncta*)(A7S) 및 곤주나비(*Danaus plexippus*)(DpN1)는 포유류 세포 시스템과 유사한 글리코실화 패턴을 가진 단백질을 생산한다.

[0434] 곤충세포에서 대체 발현시스템은 안정하게 형질전환된 세포의 사용이다. 세포주, 예컨대 Schneider 2(S2) 및 Kc 세포(*Drosophila melanogaster*) 및 C7 세포(*Aedes albopictus*)가 발현에 사용될 수 있다. 초파리 메탈로티오네인 프로모터를 이용하여 카드름 또는 구리로 중금속 유도 존재 하 고수준의 발현을 유도하는데 이용될 수 있다. 발현벡터는 선별마커, 예컨대 네오마이신 및 하이그로마이신을 사용하여 전형적으로 유지된다.

[0435] **d. 포유류 세포**

[0436] 포유류 발현 시스템은 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드와 같은 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드를 포함하는, 단백질 발현에 이용될 수 있다. 발현 구축물(constructs)은 아데노바이러스와 같은 바이러스 감염, 또는 리포솜, 갈슘 포스페이트, DEAE-텍스트란과 같은 직접적인 DNA 전달, 및 전기천공과 미세주입과 같은 물리적인

수단에 의해 포유류 세포로 전달될 수 있다. 포유류 세포용 발현벡터는 전형적으로 mRNA 캡 부위, TATA 박스, 번역개시서열(코작(Kozak) 공통서열) 및 폴리아데닐화 요소를 포함한다. IRES 요소가 또한 다른 유전자, 예컨대 선별마커를 이용한 바이시스트로닉(bicistronic) 발현을 가능케 하도록 부가될 수 있다. 상기 벡터는 종종 고수준 발현을 위한 전사 프로모터-인핸서, 예를 들어 SV40 프로모터-인핸서, 인간 사이토메갈로바이러스(CMV) 프로모터 및 라우스육종 바이러스(RSV)의 장 말단반복(long terminal repeat)을 포함한다. 이러한 프로모터-인핸서는 많은 세포 유형에서 활성이다. 조직 및 세포-유형 프로모터 및 인핸서 부위가 또한 발현을 위해 사용될 수 있다. 프로모터/인핸서 영역의 예는 엘라스타제 I, 인슐린, 면역글로불린, 마우스 유선종양 바이러스, 알부민, 알파 태아단백질(fetoprotein), 알파 1 항트립신, 베타글로빈, 수초염기성단백질, 미오신 경쇄 2, 및 성선 자극호르몬 분비호르몬 유전자 조절과 같은 유전자 유래의 것들을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 선별마커는 발현 구축물을 가진 세포를 선별하고 유지하는데 사용될 수 있다. 선별마커 유전자의 예는 하이그로마이신 B 포스포트랜스퍼라제, 아데노신 탈아미노 효소, 잔틴-구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제, 아미노글리코사이드 포스포트랜스퍼라제, 디하이드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 및 티미딘 키나제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 메토틱세이트 존재하에 발현을 수행하여 DHFR 유전자를 발현하는 세포만을 선별할 수 있다. 세포표면 신호 분자, 예컨대 TCR- ζ 및 Fc ϵ RI- γ 와 융합은 세포표면에서 활성상태인 단백질 발현을 지시할 수 있다.

[0437] 마우스, 랫트, 인간, 원숭이, 닭 및 햄스터 세포를 포함한 많은 세포주가 포유류 발현에 이용가능하다. 세포주의 예는 CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, 마우스 NS0(비분비성) 및 다른 골수종(myeloma) 세포주, 하이브리도마 및 헤테로하이브리도마 세포주, 림프구, 섬유아세포, Sp2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 2B8, 및 HKB 세포를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 세포배양 배지로부터 분비된 단백질의 정제를 용이하게 하는 무혈청 배지에 적응된 세포주 또한 이용가능하다. 예는 CHO-S 세포(Invitrogen, Carlsbad, CA, cat# 11619-012) 및 무혈청 EBNA-1 세포주(Pham 외, (2003) Biotechnol. Bioeng. 84:332-42)를 포함한다. 최대발현을 위해 최적화된 특별 배지에서 성장하도록 적응된 세포주가 또한 이용가능하다. 예를 들어, DG44 CHO 세포는 화학적으로 규명된, 동물 산물이 없는 배지 내 현탁 배양물에서 성장하도록 적응되어 있다.

[0438] e. 식물

[0439] 유전자 이식 식물세포 및 식물이 단백질, 예컨대 본원에서 기술된 임의의 것을 발현하는데 이용될 수 있다. 발현 구축물은 전형적으로 미세입자투사법(microprojectile bombardment) 및 원형질체 내로의 PEG-매개 전달과 같은 직접적 DNA 전달을 이용하여, 그리고 아그로박테리움-매개 형질전환으로 식물로 전달될 수 있다. 발현벡터는 프로모터 및 인핸서 서열, 전사종결요소 및 번역조절요소를 포함할 수 있다. 발현벡터 및 형질전환 기술은 보통 쌍자엽식물(dicot) 숙주, 예컨대 애기장대(Arabidopsis)와 담배(tobacco), 및 단자엽식물(monocot) 숙주, 예컨대 옥수수 및 쌀 사이에서 나뉜다. 발현에 이용되는 식물 프로모터의 예는 콜리플라워 모자이크(cauliflower mosaic) 바이러스 프로모터, 노팔린 합성효소 프로모터, 리보스비스포스페이트 카복실라제 프로모터, 및 유비퀴틴 및 UBQ3 프로모터를 포함한다. 선별마커, 예컨대 하이그로마이신, 포스포만노스 이소머라제 및 네오마이신 포스포트랜스퍼라제가 종종 형질전환된 세포의 선별 및 유지를 용이하게 하는데 사용된다. 형질전환된 식물세포는 세포, 응집체(캘러스 조직)로서 배양물 내 유지되거나 전체식물로 재생될 수 있다. 유전자 이식 식물세포는 또한 히알루로니다아제 폴리펩티드를 생산하도록 조작된 조류(algae)를 포함할 수 있다. 식물은 포유류 세포와 다른 글리코실화 패턴을 가지므로, 이는 이들 숙주 내에서 생산되는 단백질 선택에 영향을 미칠 수 있다.

[0440] 3. 정제기술

[0441] 숙주세포로부터, 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드 (예를 들면, 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드) 또는 다른 단백질을 포함하는 폴리펩티드의 정제방법은 선택된 숙주세포 및 발현시스템에 좌우될 것이다. 분비된 분자에 대하여, 단백질은 일반적으로 세포를 제거한 후 배양배지로부터 정제된다. 세포내 발현을 위하여, 세포는 용해되고, 단백질은 추출물로부터 정제될 수 있다. 유전자 이식 유기체, 예컨대 유전자 이식 식물 및 동물이 발현을 위해 사용될 때, 용해된 세포추출물을 만들기 위하여 조직 또는 기관이 출발재료로써 사용될 수 있다. 또한, 유전자 이식 동물 생산은 젖 또는 알에서 폴리펩티드 생산을 포함할 수 있으며, 이는 수집되어, 필요하다면, 상기 단백질이 추출되고, 당해 기술분야의 표준방법을 이용하여 추가 정제될 수 있다.

[0442] 단백질, 예컨대 가용성 히알루로니다아제 폴리펩티드는 SDS-PAGE, 크기분획(size fraction) 및 크기배제(size exclusion) 크로마토그래피, 암모늄 술페이트 침전, 및 이온교환 크로마토그래피, 예컨대 음이온교환 크로마토그래피를 포함하나, 이에 제한되지 않는, 당해 기술분야에 알려진 표준 단백질 정제기술을 이용하여 정제될 수

있다. 친화성 정제기술 또한 제제의 효율 및 순도를 개선시키기 위해 활용될 수 있다. 예를 들어, 항체, 수용체 및 히알루로니다아제 효소에 결합하는 기타 분자가 친화성 정제에서 이용될 수 있다. 발현 구축물은 또한 단백질, 예컨대 myc 에피토프, GST 융합 또는 His₆에 친화성 태그를 부가하도록 조작되고, myc 항체, 글루타치온 레진 및 Ni-레진으로 각각 친화성 정제될 수 있다. 겔 전기영동 및 염색 및 분광광도기술을 포함한, 당해 기술분야에 알려진 임의의 방법에 의해 순도가 평가될 수 있다. 본원에 제공된, 정제된 rHuPH20 조성물은 전형적으로 적어도 70,000 내지 100,000 유닛/mg, 예를 들어 약 120,000 유닛/mg의 비활성을 갖는다. 비활성은 변형, 예컨대 폴리머로의 변형에 따라 다양할 수 있다.

[0443] 4. 히알루로난 분해 효소 폴리펩티드의 PEG화

[0444] 폴리에틸렌 글리콜(PEG)은 PEG가 전형적으로 비면역원성인 생체적합성, 무독성, 및 수용성 폴리머이기 때문에 생체적합재료, 생명공학 및 약물에서 널리 사용되어 왔다 (Zhao and Harris, *ACS Symposium Series* 680: 458-72, 1997). 약물 전달 영역에서 PEG 유도체는 단백질과의 공유적 부착(즉, PEG화)에 널리 사용되어 단백질의 면역원성, 단백질분해 및 신장 클리어런스를 감소시키고 가용성을 개선시킨다(Zalipsky, *Adv. Drug Del. Rev.* 16:157-82, 1995). 마찬가지로, PEG는 저분자량의, 상대적으로 소수성인 약물에 부착되어 가용성을 증가시키고 독성을 감소시키고 생체내분포를 변화시킨다. 일반적으로 PEG화 약물은 용액으로서 주입된다.

[0445] 분해성 및 가용성 약물 담체의 설계에서 사용된 많은 동일한 화학이 분해성 겔의 설계에서도 사용될 수 있기 때문에 약물전달에 사용하기 위한 가교결합된 분해성 PEG망의 합성 또는 제형화에 밀접하게 관련된다(Sawhney 외, *Macromolecules* 26: 581-87, 1993). 고분자간 복합체는 2개의 상보적 폴리머의 용액을 혼합함으로써 형성될 수 있다. 이러한 복합체는 일반적으로 관련 폴리머 사이에 정전기적 상호작용(다가음이온-다가양이온) 및/또는 수소결합(다가산-다가염기) 및/또는 수성 환경에서 폴리머 사이에 소수성 상호작용에 의해 안정화된다(Krupers 외., *Eur. Polym J.* 32:785-790, 1996). 예를 들면, 적당한 조건하에서 다가아크릴산(PAAc)과 폴리에틸렌 옥사이드(PEO)의 혼합용액은 대부분 수소결합에 기초한 복합체를 형성시킨다. 생리적 조건에서 이들 복합체의 해리는 유리 약물(즉, 비-PEG화된 약물)의 전달을 위해 사용되고 있다. 또한, 상보적인 폴리머의 복합체는 호모 폴리머와 코폴리머로부터 형성된 바 있다.

[0446] PEG화용 수많은 시약이 당업계에서 기술되어 있다. 이러한 시약은 N-하이드록시숙신이미드(NHS) 활성화 PEG, 숙신이미드 mPEG, mPEG₂-N-하이드록시숙신이미드, mPEG 숙신이미드 알파-메틸부타노에이트, mPEG 숙신이미드 프로피오네이트, mPEG 숙신이미드 부타노에이트, mPEG 카복시메틸 3-하이드록시부탄산 숙신이미드 에스테르, 호모 2 관능성 PEG-숙신이미드 프로피오네이트, 호모 2관능성 PEG 프로피온 알데히드, 호모 2관능성 PEG 부티르알데히드, PEG 말레이미드, PEG 하이드라지드, p-니트로페닐 카보네이트 PEG, mPEG-벤조트리아졸 카보네이트, 프로피온알데히드 PEG, mPEG 부티르알데히드, 분지 mPEG2 부티르알데히드, mPEG 아세틸, mPEG 피페리돈, mPEG 메틸케톤, mPEG "링커없는" 말레이미드, mPEG 비닐 설편, mPEG 티올, mPEG 오르쏘피리디티오에스테르, mPEG 오르쏘피리디 디설파이드, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, 비닐설편 PEG-NHS, 아크릴레이트 PEG-NHS, 플루오레세인 PEG-NHS 및 바이오틴 PEG-NHS(예를 들면, Monfardini 외, *Bioconjugate Chem.* 6:62-69, 1995; Veronese 외, *J. Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S.5,672,662호; U.S.5,932,462호; U.S.6,495,659호; U.S.6,737,505호; U.S.4,002,531호; U.S.4,179,337호; U.S.5,122,614호; U.S.5,324,844호; U.S.5,446,090호; U.S.5,612,460호; U.S.5,643,575호; U.S.5,766,581호; U.S.5,795,569호; U.S.5,808,096호; U.S.5,900,461호; U.S.5,919,455호; U.S.5,985,263호; U.S.5,990,237호; U.S.6,113,906호; U.S.6,214,966호; U.S.6,258,351호; U.S.6,340,742호; U.S.6,413,507호; U.S.6,420,339호; U.S.6,437,025호; U.S.6,448,369호; U.S.6,461,802호; U.S.6,828,401호; U.S.6,858,736호; U.S. 2001/0021763호; U.S. 2001/0044526호; U.S. 2001/0046481 호; U.S. 2002/0052430호; U.S. 2002/0072573호; U.S. 2002/0156047호; U.S. 2003/0114647호; U.S. 2003/0143596호; U.S. 2003/0158333호; U.S. 2003/0220447호; U.S. 2004/0013637호; U.S. 2004/0235734호; WO 0500360호; U.S. 2005/0114037호; U.S. 2005/0171328호; U.S. 2005/0209416호; EP01064951 호; EP0822199호; WO 00176640호; WO 0002017호; WO 0249673호; WO 9428024호; 및 WO 0187925호)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0447] 일 예에서, 폴리에틸렌글리콜은 약 3 kD 내지 약 50 kD, 전형적으로 약 5 kD 내지 약 30 kD의 범위의 분자량을 갖는다. 약물에 PEG의 공유적 부착(PEG화라고 알려진)은 공지의 화학적 합성기술에 의해 달성될 수 있다. 예를 들면, 단백질의 PEG화는 적합한 반응조건하에서 NHS-활성화된 PEG와 단백질을 반응시킴으로써 달성될 수 있다.

[0448] 수많은 반응은 PEG화에 대해 기재되어 있지만, 일반적으로 적용할 수 있는 것은 방향성을 제공하고 온화한 반응조건을 이용하고 독성 촉매 또는 부산물을 제거하기 위한 광범위한 하류처리는 필요로 하지 않는다. 예를 들

면, 모노메톡시 PEG(mPEG)는 단지 하나의 반응성 말단 하이드록실을 가지므로 그 이용은 얻어진 PEG 단백질 산물 혼합물의 일부의 불균질물을 제한한다. 친핵성 공격에 민감한 유도체합성된 PEG를 만들 목적으로 말단 메톡시기와 반대의 폴리머의 말단에서 하이드록실기의 활성화가 일반적으로 효율적인 단백질 PEG화를 달성하기 위해 필수적이다. 공격성 친핵체는 보통 라이실잔기의 엡실론-아미노기이지만 국소조건이 바람직하다면 다른 아민이 반응할 수 있다(예를 들면, 히스티딘의 N-말단 알파 아민 또는 고리 아민). 더욱 유도된 부착은 단일 라이신 또는 시스테인을 포함하는 단백질에서 가능하다. 후자의 잔기는 티올 특이적 변형에 대한 PEG-말레이미드에 의해 표적이 될 수 있다. 또한, PEG 하이드라이드는 과요오드산(periodate) 산화된 히알루로난 분해 효소와 반응하고 NaCNBH₃의 존재하에서 환원된다. 보다 구체적으로, PEG화 CMP 당은 적절한 글리코실 트랜스퍼라제의 존재 하에서 히알루로난 분해 효소와 반응할 수 있다. 하나의 기술은 문제의 폴리펩티드에 많은 폴리머 분자가 결합되는 "PEG화" 기술이다. 이 기술을 사용하면 면역 시스템은 항체의 형성을 담당하는 폴리펩티드 표면에 에피토프를 인지하는 데에 어려움을 가지며 이에 의해 면역반응을 감소시킨다. 특별한 생리적 효과를 제공하기 위해 인체의 순환계에 직접적으로 도입된 폴리펩티드(즉 약제학적 제제)에 대해, 전형적인 가능한 면역반응은 IgG 및/또는 IgM 반응이지만 호흡계를 통해 흡입된 폴리펩티드(즉, 산업용 폴리펩티드)는 IgE 반응(즉 알러지)을 일으킬 수 있다. 감소된 면역반응을 설명하는 이론 중 하나는 중합성 분자가 항체 형성을 야기하는 면역반응을 담당하는 폴리펩티드의 표면의 에피토프를 차폐하는 것이다. 다른 이론 또는 적어도 부분적인 인자는 컨주게이트가 무거울수록 감소된 면역반응이 얻어진다는 것이다.

[0449] 전형적으로, PEG화 히알루로니다아제를 포함하는 본원에서 제공된 PEG화 히알루로난 분해 효소를 제조하기 위해, PEG화 모이어티는 폴리펩티드에 공유적 부착을 통해 부착된다. PEG화 기술은 특별한 링커 및 커플링 화학(예를 들면 Roberts 외, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54:459-476, 2002 참조), 단일 컨주게이션부위에 다중 PEG 모이어티를 부착(예를 들면 분지 PEG를 사용하여; 예컨대 Guitto 외., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:177-180, 2002), 부위 특이적 PEG화 및/또는 모노PEG화(Chapman 외, *Nature Biotech.* 17:780-783, 1999 참조), 및 위치-지정 효소 PEG화(예컨대 Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002 참조)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 종래에 기재된 방법 및 기술은 단일 단백질 분자에 부착된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 10 초과 PEG 또는 PEG 유도체를 갖는 단백질을 생산할 수 있다(예컨대 U.S. 2006/0104968호 참조).

[0450] PEG화 히알루로난 분해 효소, 예를 들면 PEG화 히알루로니다아제를 제조하기 위한 PEG화 방법의 예시로서, PEG 알데히드, 숙신이미드 및 카보네이트는 PEG 모이어티, 전형적으로 숙신이미드 PEG를 rHuPH20에 컨주게이션하는 데 적용되어 왔다. 예를 들면, rHuPH20은 mPEG-숙신이미드 프로피오네이트(mPEG-SPA), mPEG-숙신이미드 부타노에이트(mPEG-SBA), 및 ("분지"PEG 부착용)mPEG-N-하이드록시숙신이미드를 포함하는 예시의 숙신이미드 모노 PEG(mPEG) 시약과 컨주게이션되어 있다. 이들 PEG화 숙신이미드 에스테르는 PEG기와 활성화 가교 링커 사이에 다른 길이의 탄소골격, 및 단일 또는 분지 PEG기 중의 어느 하나를 포함한다. 이러한 차이는, 예를 들면 컨주게이션처리 중 다른 반응역학을 가능하게 하고 rHuPH20에 PEG 부착에 이용가능한 부위를 잠재적으로 제한하는데 사용될 수 있다.

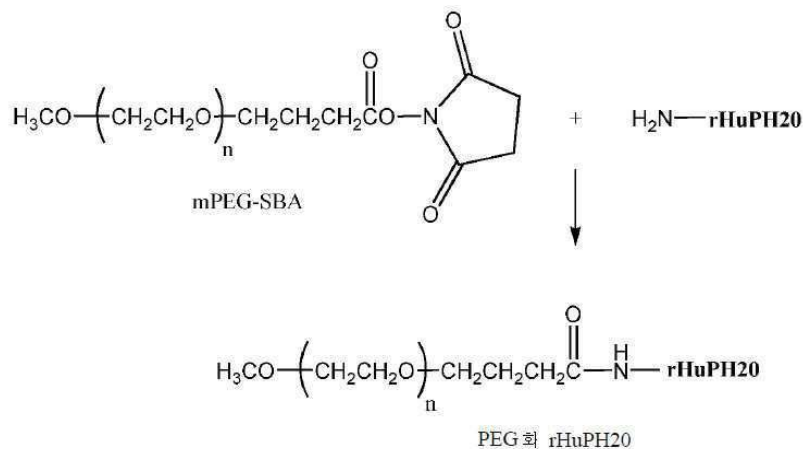
[0451] (상기 기재된)전형 또는 분지 PEG 중 어느 하나를 포함하는 숙신이미드 PEG는 rHuPH20에 컨주게이션될 수 있다. PEG는 히알루로니다아제 당 평균 약 3개 내지 6개의 PEG 분자를 갖는 분자의 조합물을 포함하는 rHuPH20을 재생산적으로 생성시키는데 사용될 수 있다. 이러한 PEG화 rHuPH20 조성물은 용이하게 정제되어 대략 25,000 또는 30,000 유닛/mg 단백질 히알루로니다아제 활성의 비활성도를 갖고 실질적으로 비-PEG화 rHuPH20가 없는(5% 비 PEG화 미만) 조성물을 생산할 수 있다.

[0452] 각종 PEG 시약을 사용하여, 히알루로난 분해 효소의 예시 버전, 특히 가용성 인간 재조합 히알루로니다아제(예를 들면, rHuPH20)는 예를 들면 mPEG-SBA (30 kD), mPEG-SMB (30 kD), 및 mPEG2-NHS (40 kD), mPEG2-NHS (60 kD)에 기초한 분지형을 사용하여 제조할 수 있다. rHuPH20의 PEG화 형태는 NHS 약물 및 카보네이트 및 알데히드를 사용하고 하기의 각각의 시약을 사용하여 제조되고 있다: mPEG2-NHS-40K 분지형, mPEG-NHS-10K 분지형, mPEG-NHS-20K 분지형, mPEG2-NHS-60K 분지형; mPEG-SBA-5K; mPEG-SBA-20K; mPEG-SBA-30K; mPEG-SMB-20K; mPEG-SMB-30K; mPEG-부티르알데히드; mPEG-SPA-20K; mPEG-SPA-30K; 및 PEG-NHS-5K-바이오틴. PEG화 히알루로니다아제는 Dowpharma의 p-니트로페닐 카보네이트 PEG(30kDa) 및 프로피온알데히드 PEG(30kDa)로 PEG화된 히알루로니다아제를 포함하는 Dow Chemical Corporation의 사업부인 Dowpharma로부터 시판된 PEG화 시약을 사용하여 제조되었다.

[0453] 일 예에서, PEG화는 mPEG-SBA, 예를 들면 mPEG-SBA-30K(약 30Kda의 분자량을 갖는) 또는 다른 PEG 부탄산 유도체의 숙신이미드 에스테르의 가용성 히알루로니다아제에 대한 컨주게이션을 포함한다. PEG 부탄산 유도체의 숙

신이미딜 에스테르, 예를 들면 mPEG-SBA-30K는 단백질의 아미노기에 용이하게 결합한다. 예를 들면, m-PEG-SBA-30K 및 rHuPH20의 공유적 컨주게이션(크기가 대략 60KDa임)은 하기 반응식 1에서 나타난 rHuPH20와 mPEG 사이의 안정한 아미드 결합을 제공한다.

반응식 1:



전형적으로 mPEG-SBA-30K 또는 다른 PEG를 히알루로난 분해 효소, 일부 예에서, 히알루로니다아제에, 적합한 완충액, 예를 들면 pH 6.8에서 130 mM NaCl/10mM HEPES 또는 70 mM 포스페이트 완충액, pH 7 중에서 10:1의 PE G:폴리펩티드 몰비로 첨가하고, 이어서 멸균화, 예를 들면 멸균여과를 실시하고, 예를 들면 밤새동안 4℃에서 냉장실에서 교반하면서 계속된 컨주게이션을 실시한다. 일 예에서, 컨주게이션된 PEG-히알루로난 분해 효소는 농축되고 완충액-교환된다.

다른 PEG 부탄산 유도체의 숙신이미딜 에스테르, 예를 들면 mPEG-SBA-30K를 결합하는 방법은 당업계에 알려져 있다(예컨대 U.S.5,672,662호; U.S.6,737,505호; 및 U.S.2004/0235734호 참조). 예를 들면, 폴리펩티드, 예를 들면 히알루론산 분해 효소(예를 들면, 히알루로니다아제)는 봉산 완충액(0.1M, pH 8.0) 중에서 4℃에서 1시간 동안 반응하여 NHS 활성화된 PEG 유도체에 결합될 수 있다. 야기되는 PEG화된 단백질은 초여과에 의해 정제될 수 있다. 대안적으로, 소 알칼라인 포스파타제의 PEG화는 4℃에서 30분간 0.2M 소듐 포스페이트와 0.5M NaCl(pH 7.5)를 포함하는 완충액중에서 포스파타제를 mPEG-SBA와 혼합함으로써 달성될 수 있다. 미반응된 PEG는 초여과에 의해 제거될 수 있다. 다른 방법은 폴리펩티드를, 트리에틸아민을 첨가하여 pH를 7.2-9로 상승시킨 탈이온수 중에서 mPEG-SBA와 반응시킨다. 야기되는 혼합물은 수시간동안 실온에서 교반하여 PEG화를 완성한다.

히알루로난 분해 폴리펩티드의 PEG화를 위한 방법은 예를 들어 동물-유래 히알루로니다아제 및 박테리아 유래 히알루로난 분해 효소를 포함하여, 당업자에게 알려져 있다. 예를 들어, 소 고환 히알루로니다아제 및 콘드로이틴 ABC 리아제(chondroitin ABC lyase)를 기술하는 유럽 특허번호 EP0400472호를 참조하라. 또한, 미국 공개번호 제2006014968호는 인간 PH20으로부터 유래된 인간 히알루로니다아제의 PEG화를 기술한다. 예를 들어, PEG화된 히알루로난-분해 효소는 분자 당 일반적으로 적어도 3개의 PEG 모이어티를 포함한다. 예를 들어, 히알루로난-분해 효소는 5:1 내지 9:1, 예컨대 7:1의 단백질에 대한 PEG의 물비를 가질 수 있다.

E. 약제학적 조성물 및 제형

본원에서 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 탁산 제형의 조성물 또는 조합물이 제공된다. 예를 들어, 본원에서 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 및 종양-표적 탁산 제형의 조성물 또는 조합물이 제공된다. 탁산 제형은 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물과 공동-제형화 또는 공동-투여될 수 있다. 예를 들어, 이러한 조합물 및 조성물은 본원에서 기술되는 바와 같이 고형 종양을 포함하는 암의 치료에서 사용될 수 있다. 일부 예에서, 히알루로난-분해 효소와 같은 항-히알루로난 제제는 별개로 투여되는 별개의 조성물의 조합물로서 제공될 수 있다. 다른 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및 탁산은 동일한 조성물 내에 제공될 수 있고 함께 투여될 수 있다. 조성물 또는 조성물의 조합물은 비경구적 전달 (즉 전신적 전달을 위해)을 위해 제형화될 수 있다. 예를 들어, 조성물 또는 조성물의 조합물은 피하 전달 또는 정맥내 전달을 위해 제형화된다.

또한 본원에서 암을 치료하기 위한 추가적인 화학치료제인 제3제제, 예컨대 뉴클레오시드 유사체 또는 기타 항

대사물질(예컨대 젤시타빈 또는 유도체 또는 기타 뉴클레오시드 유사체)을 포함하는 조합물 및 조성물이 제공된다. 이러한 제제의 예는 상기 및 본원의 다른 곳에서 기술된다. 추가적인 화학치료제, 예컨대 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소를 포함하는 조성물, 및/또는 종양-표적화 탄산을 포함하는 조성물과 공동-제형화되거나 공동-투여될 수 있다. 예를 들어, 추가적인 화학치료제, 예를 들어 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소 및 탄산의 조합물 및 조성물로부터 별개의 조성물로서 제공될 수 있다. 다른 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예를 들어 히알루로난-분해 효소, 및 탄산의 하나 또는 둘 다와 공동-제형화될 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및 종양-표적 탄산과 공동-제형화되고, 종양-표적 탄산은 별개의 조성물로서 제공된다. 또 다른 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 종양-표적 탄산과 공동-제형화되고 항-히알루로난 제제, 예를 들어 히알루로난-분해 효소는 별개의 조성물로서 제공된다. 추가적인 예로서, 뉴클레오시드 유사체, 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 탄산은 동일한 조성물 내에 함께 공동-제형화된다. 조성물 또는 조성물의 조합물은 비경구적 전달(즉, 전신적 전달을 위해)을 위해 제형화될 수 있다. 예를 들어, 조성물 또는 조성물의 조합물은 피하 전달을 위해 또는 정맥내 전달을 위해 제형화된다.

[0462] 조성물은 단일 투여량 투여를 위해 또는 다중 투여량 투여를 위해 제형화될 수 있다. 제제는 직접 투여를 위해 제형화될 수 있다. 조성물은 액체 또는 동결건조된 제형으로서 제공될 수 있다.

[0463] 상기 화합물은 적절한 약제학적 제제, 예컨대, 경구 투여를 위한, 용액, 현탁액, 정제, 분산정(dispersible tablets), 환제(pills), 캡슐, 분말, 지연방출 제형 또는 엘릭시르(elixirs) 뿐만 아니라, 경피전달 패치 제제 및 건조분말 흡입제로 제형화될 수 있다. 전형적으로, 상기 화합물은 당해 기술분야에서 잘 알려진 기술 및 절차를 이용하여 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다(예컨대, Ansel *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, Fourth Edition, 1985, 126 참조). 일반적으로, 제형화 방식은 투여 경로의 함수이다. 상기 조성물은 공동-제형화되거나, 별개의 조성물로서 제공될 수 있다.

[0464] 일반적으로, 조성물은 동결건조 또는 액체 형태로 제형화된다. 조성물이 동결건조된 형태로 제공되는 경우, 이들은 사용 직전에 적당한 완충액, 예를 들어 멸균 식염수 용액에 재구성될 수 있다. 상기 조성물은 함께 또는 따로 제공될 수 있다. 본원의 목적을 위해, 상기 조성물들은 전형적으로 별개로 제공된다. 히알루로난 분해 효소, 예컨대, 가용성 히알루로니다아제와 같은 항-히알루로난 제제, 종양-표적 탄산 및/또는 추가적인 화학치료제가 순차적으로 또는 간헐적으로 투여하기 위한 별개의 조성물로서 포장될 수 있다. 조합물은 키트로서 포장될 수 있다.

[0465] 조성물은 근육내, 정맥내, 진피내, 병변내, 복강내 주사, 피하, 종양내, 경막외(epidural), 비강, 경구, 질, 직장, 국소(topical), 국부(local), 귀, 흡입, 구강(예컨대, 설하), 및 경피 투여 또는 임의의 경로를 포함한, 당업자에게 알려진 임의의 경로로 투여하기 위하여 제형화될 수 있다. 기타 투여 방식이 또한 고려된다. 투여는 치료 위치에 따라 국부, 국소 또는 전신일 수 있다. 치료가 필요한 지역에 국소투여는 예컨대, 수술중 국소주입, 국소적용, 예를 들어, 수술후 상처드레싱과 함께, 주사에 의해, 카테터에 의해, 좌약에 의해, 또는 이식물에 의해 달성될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 조성물은 또한 다른 생물학적으로 활성인 작용제와 순차적으로, 간헐적으로 또는 동일한 조성물내에 투여될 수 있다. 투여는 또한 제어방출 제형 및 예컨대 펌프에 의한 장치로 제어되는 방출을 포함하는 제어방출 시스템을 포함할 수 있다.

[0466] 임의의 주어진 사례에 있어 가장 적절한 경로는 다양한 요인, 예컨대 질환의 성질, 질환의 진행, 질환의 중증도, 사용되는 특정 조성물에 좌우된다. 본원의 목적을 위하여, 히알루로난 분해 효소, 예컨대 가용성 히알루로니다아제와 같은 항-히알루로난-제제, 종양-표적 탄산 및/또는 추가적인 화학치료제는 약제학적으로 이용가능한 양 또는 수준이 혈장 내에 존재하도록 투여되는 것이 바람직하다. 예를 들어, 조성물은 예컨대 정맥내 투여를 통해 전신으로 투여될 수 있다. 정맥내 투여와 비교하여 등가의 생체이용률을 보장하기 위해서 증가된 흡수 시간이 필요할 수 있음에도 불구하고, 피하 방법 또한 이용될 수 있다. 히알루로난 분해 효소, 종양-표적 탄산 및/또는 추가적인 화학치료제(예컨대 뉴클레오시드 유사체)와 같은 제제들은 상이한 투여 경로로 투여될 수 있다. 약제학적 조성물은 각 투여 경로에 적합한 투여 형태로 제형화될 수 있다.

[0467] 투여 방법은 히알루로난 분해 효소, 예컨대, 가용성 히알루로니다아제 및 다른 분자의 분해적 과정, 예컨대 단백질분해적 소화, 및 항원성 및 면역원성 반응을 통한 면역학적 개입에 대한 노출을 감소시키기 위하여 채택될 수 있다. 상기 방법의 예는 항-히알루로난 제제의 치료 부위에 국소 투여 또는 지속적 주입을 포함한다.

[0468] 1. 제형화

- [0469] 약제학적으로 허용되는 조성물은 동물 및 인간에서의 사용을 위해 일반적으로 인식되는 약전에 따라 제조되는, 규제 기관 또는 기타 기관에 대한 승인을 고려하여 제조된다. 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 정제, 환제, 캡슐, 분말 및 지연 방출 제형의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 전통적인 결합제 및 담체, 예컨대 트리글리세리드를 가지는 좌약으로서 제형화될 수 있다. 경구제형은 표준 담체, 예컨대 약제학적 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트 및 다른 기타 제제를 포함할 수 있다. 상기 제형은 투여방식에 부합해야 한다.
- [0470] 약제학적 조성물은 효소 또는 활성화제와 같이 투여되는 담체, 예컨대 희석제, 어쥬번트, 부형제 또는 비히클을 포함할 수 있다. 적절한 약제학적 담체의 예는 E. W. Martin에 의한 "Remington's Pharmaceutical Sciences"에 기술되어 있다. 이러한 조성물은 환자에게 적절하게 투여하기 위한 형태를 제공하기 위하여 치료적 유효량의 화합물을, 일반적으로 정제된 형태로, 적절한 양의 담체와 함께 포함할 것이다. 이러한 약제학적 담체는 물 및 석유, 동물, 채소 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 낙화생유, 대두유, 팥유 및 참기름을 포함한, 오일과 같은 멸균액체일 수 있다. 물은 상기 약제학적 조성물이 정맥내로 투여될 때 전형적인 담체이다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스와 글리세롤 용액이 또한 특히 주사용액을 위한 액체담체로서 활용될 수 있다. 조성물은 활성 성분과 함께 다음을 포함할 수 있다: 희석제, 예컨대 락토오스, 수크로스, 디칼슘 포스페이트, 또는 카복시메틸 셀룰로오스; 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트 및 탈크; 및 결합제, 예컨대 전분, 천연 검(gums), 예컨대 검 아카시아, 젤라틴, 글루코스, 당밀, 폴리비닐피롤리딘, 셀룰로오스 및 이들의 유도체, 포비돈, 크로스포비돈 및 당업자에게 알려진 다른 그와 같은 결합제. 적절한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토오스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크(chalk), 실리카겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 소듐 클로라이드, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물 및 에탄올을 포함한다. 조성물은, 원한다면, 또한 적은 양의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제, 예를 들어, 아세테이트, 소듐 시트레이트, 사이클로텍스트린 유도체, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 소듐 아세테이트, 트리에탄올아민 올레이트, 및 다른 그와 같은 제제를 포함할 수 있다.
- [0471] 일 예에서, 약제학적 제제는 액체형태, 예를 들어, 용액, 시럽 또는 현탁액일 수 있다. 이러한 액체 제제는 약제학적으로 허용가능한 첨가제, 예컨대 현탁화제(예컨대, 소르비톨 시럽, 셀룰로오스 유도체 또는 수소첨가 식용지방); 유화제(예컨대, 레시틴 또는 아카시아); 비수성 비히클(예컨대, 아몬드유, 유성 에스테르 또는 분획된(fractionated) 식물성 오일); 및 보존제(예컨대, 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르빈산)와 함께 통상적인 수단에 의해 제조될 수 있다. 또다른 예에서, 약제학적 제제는 사용전 물 또는 다른 적절한 비히클과 재구성하기 위한 동결건조된 형태로 제공될 수 있다.
- [0472] 약제학적 및 치료적 활성인 화합물 및 그의 유도체는 전형적으로 단위 투여량 제형(unit dosage form) 또는 다중 투여량 제형(multiple dosage form)으로 제형화 되고 투여된다. 각각의 단위 용량(unit dose)은, 필요한 약제학적 담체, 비히클 또는 희석제와 함께, 원하는 치료 효과를 제공하기에 충분한 예정된 양의 치료용 활성 화합물을 포함한다. 단위 제형은 정제, 캡슐, 환제, 분말, 과립, 멸균 비경구 용액 또는 현탁액, 및 경구용 용액 또는 현탁액, 및 적당량의 화합물 또는 약제학적으로 허용되는 그의 유도체를 포함하는 유수 에멀전(oil water emulsion)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 단위 용량 형태는 앰플 및 시린지 또는 개별 포장된 정제 또는 캡슐을 포함한다. 단위 용량 형태는 분획으로 또는 그의 복수로 투여될 수 있다. 다중 용량 형태는, 분리된 단위 용량 형태로 투여될 단일 용기에 포장되어 있는 여러개의 동일한 단위 투여량 형태이다. 다중 용량 형태의 예는 바이알, 정제 또는 캡슐의 병, 또는 파인트(pint) 또는 갤론(gallon)의 병이 포함된다. 이에 따라, 다중 용량 형태는 포장에서 분리되어 있지 않은 여러개의 단위 투여량이다. 일반적으로, 무독성 담체로 균형을 맞추어, 0.005% 내지 100% 범위의 활성 성분을 포함하는 투여량 형태 또는 조성물이 제조될 수 있다.
- [0473] 약제학적 조성물은 각 투여 경로에 적절한 제형으로 제형화될 수 있다.
- [0474] **a. 주사제, 용액 및 에멀전**
- [0475] 일반적으로 주사를 특징으로 하는, 피하, 근육내, 종양내, 정맥내 또는 진피내(intradermally) 중 어느 하나의 비경구 투여가 본원에서 고려된다. 주사제(injectables)는 통상적인 형태, 액체 용액 또는 현탁액, 주사전에 액체내 용해 또는 현탁하기 적합한 고체 형태로써, 또는 에멀전으로써 제조될 수 있다. 적절한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 추가로, 원한다면, 투여되는 약제학적 조성물은 또한 용매, 예컨대 pH 완충제, 금속이온염 또는 다른 그와 같은 완충액의 형태로 활성화제를 포함할 수 있다. 약제학적 조성물은 또한 다른 소량의 비-독성 보조물질, 예컨대 습윤제 또는 유화제, pH 완충제, 안정화제, 가용성 향상제, 및 다른 그와 같은 제제, 예컨대 소듐 아세테이트, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올

레이트 및 사이클로 텍스트린을 포함할 수 있다. 일정수준의 복용량이 유지되는, 서방(slow-release) 또는 지연-방출(sustained-release) 시스템(예컨대, 미국특허번호 제3,710,795호 참조)의 이식이 또한 본원에서 고려된다. 상기 비경구 조성물에 포함된 활성 화합물의 백분율은 이들의 특이적 본질 뿐만 아니라 화합물의 활성 및 대상체의 요구에 크게 좌우된다.

[0476] 예를 들면, 본원에 제공되는 폴리머-컨주게이션된 가용성 히알루로니다아제와 같은 폴리머-컨주게이션된 히알루로난 분해 효소의 표준 안정화 제형은 EDTA, NaCl, CaCl₂, 히스티딘, 락토오스, 알부민, 플루로닉(Pluronic)® F68, 트윈(TWEEN)® 및/또는 다른 계면활성제 또는 다른 유사한 제제 중 어느 하나로 제형화된다. 예를 들면, 본원에 제공된 조성물은 하나 이상의 pH 완충액(예를 들면, 히스티딘, 포스페이트 또는 다른 완충액) 또는 산성 완충액(예를 들면, 아세트이트, 시트레이트, 피루베이트, Gly-HCl, 숙시네이트, 락테이트, 말레이트 또는 다른 완충액), 탄성조절제(예를 들면, 아미노산, 폴리알코올, NaCl, 트레할로스, 다른 염 및/또는 당), 안정화제, 킬레이트제, 예를 들면 에틸렌디아민테트라아세트산, 에틸렌디아민테트라아세트이트, 또는 칼슘 EDTA; 탈산소제, 예를 들면 메티오닌, 아스코르브산/아스코베이트, 시트르산/시트레이트 또는 알부민; 및/또는 보존제, 예를 들면 방향족 고리(예를 들면 페놀 또는 크레졸)를 포함하는 보존제 중 하나 이상을 포함한다. 히알루로난 분해 효소를 포함하는 조성물에 유용한 예시적인 안정화제로는 폴리소르베이트 등의 계면활성제 및 인간 혈청 알부민 등의 단백질을 포함한다. 본원에서 조성물에 유용한 혈청 알부민의 예시적인 농도로는 0.1 mg/mL 내지 1 mg/mL, 예컨대 적어도 약 0.1 mg/mL, 0.2 mg/mL, 0.3 mg/mL, 0.4 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.6 mg/mL, 0.7 mg/mL, 0.8 mg/mL, 0.9 mg/mL 또는 1 mg/mL를 포함하지만, 그 이상 또는 미만일 수 있다. 폴리소르베이트는 또한 예를 들면 약 0.001 % 내지 0.1%의 농도, 예컨대 적어도 약 0.001%, 0.002%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.006%, 0.007%, 0.008%, 0.009%, 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09% 또는 0.1%의 농도로 상기 조성물에 존재할 수 있다. 칼슘 EDTA(CaEDTA) 등의 금속 킬레이트제는, 예컨대 대략 0.02 mM 내지 20 mM, 예를 들면 적어도 약 0.02 mM, 0.04 mM, 0.06 mM, 0.08 mM, 0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM, 0.5 mM, 0.6 mM, 0.7 mM, 0.8 mM, 0.9 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM 이상의 농도로 존재할 수 있다. 조성물의 pH 및 오스몰 농도는 조성물의 원하는 활성 및 안정성에 대한 조건을 최적화하도록 당업자에 의해 조정될 수 있다. 일부 예에서, 본원에서 제공된 조성물은 100 mOsm/kg 내지 500 mOsm/kg, 예컨대 적어도 약 100 mOsm/kg, 120 mOsm/kg, 140 mOsm/kg, 160 mOsm/kg, 180 mOsm/kg, 200 mOsm/kg, 220 mOsm/kg, 240 mOsm/kg, 260 mOsm/kg, 280 mOsm/kg, 300 mOsm/kg, 320 mOsm/kg, 340 mOsm/kg, 360 mOsm/kg, 380 mOsm/kg, 400 mOsm/kg, 420 mOsm/kg, 440 mOsm/kg, 460 mOsm/kg, 500 mOsm/kg 이상의 오스몰 농도 및 약 6 내지 8, 예컨대 6 내지 7.4, 예를 들어 약 6, 6.2, 6.4, 6.6, 6.8, 7, 7.2, 7.4, 7.6, 7.8 또는 8의 pH를 갖는다.

[0477] 일반적으로 NaCl은 본원의 히알루로난-분해 효소를 포함하는 제형에서, 예를 들면 약 100 mM 내지 150mM 이상인 양으로 제공된다. 예를 들면, 예시의 제형은 약 10mM 히스티딘 및/또는 약 또는 130 mM NaCl을 포함할 수 있다. 다른 제형은 부가적으로 또는 대안적으로 락토오스를, 예를 들면 약 13 mg/ml로 포함할 수 있다. 또한, 티오메살(thiomersal)을 포함하나 이에 제한되지 않는 항균제 또는 항진균제가 제형에 존재할 수 있다. 제형은 알부민, Pluronic® F68, TWEEN® 및/또는 다른 계면활성제를 더 포함할 수 있다. 제형은 약 6.0 내지 7.4, 예컨대 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3 또는 7.4의 pH, 일반적으로 약 6.5의 pH에서 제공된다. 본원에서 사용하는 변형된 가용성 히알루로니다아제의 농축된 제형은 적절한 염농도를 유지하기 위해 투여전에 일반적으로 식염수 용액 또는 다른 염 완충용액에서 희석된다.

[0478] 주사제는 국소 및 전신투여를 위하여 설계된다. 본원의 목적을 위해, 국소투여는 히알루로난 축적 또는 과잉과 관련된, 병에 걸린 간질에 대해 직접 투여가 바람직하다. 비경구 투여를 위한 제제는 주사용으로 준비된 멸균 용액; 진피하정(hypodermic tablets)을 포함한, 사용직전 용매와 결합되도록 준비된 멸균 건조 가용성 제품, 예컨대 동결건조 분말; 주사용으로 준비된 멸균 현탁액; 사용직전에 비히클과 결합되도록 준비된 멸균 건조 불용성 제품; 및 멸균 에멀전을 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다. 정맥내로 투여된다면, 적절한 담체는 생리식염수 또는 인산완충식염수(PBS), 및 가용화제와 증점제(thickening agents), 예컨대 글루코스, 폴리 에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜, 및 이의 혼합물을 포함한 용액을 포함한다.

[0479] 비경구 제제에서 사용되는 약제학적으로 허용가능한 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 항미생물제, 등장화제, 완충액, 항산화제, 국소마취제, 현탁화제 및 분산제, 유화제, 봉쇄제(sequestering agents) 또는 킬레이트제, 및 다른 약제학적으로 허용가능한 물질을 포함한다. 수성 비히클의 예는 소듐 클로라이드 주사액, 링거 주사액, 등장 텍스트로스 주사액, 멸균수 주사액, 텍스트로스 및 락테이트 (Lactated) 링거 주사액을 포함한다. 비수성 비경구 비히클은 채소 기원의 고정유(fixed oils), 면실유, 옥수수유, 참기름 및 낙화생유를 포함한다. 항미생물제는 정균(bacteriostatic) 또는 정진균(fungistatic) 농도로 다중-용량 용기로 포장된 비경

구 제제에 첨가될 수 있고, 페놀 또는 크레졸, 수은제(mercurials), 벤질알코올, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-하이드록시벤조산 에스테르, 티메로살, 벤잘코늄 클로라이드 및 벤제토늄 클로라이드를 포함한다. 등장화제는 소듐 클로라이드 및 텍스트로스를 포함한다. 완충액은 포스페이트 및 시트레이트를 포함한다. 항산화제는 소듐 비술파가트(중황산나트륨, sodium bisulfate)를 포함한다. 국소마취제는 프로카인 하이드로클로라이드를 포함한다. 현탁화제 및 분산제는 소듐 카복시메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리소르베이트 80(TWEEN 80)을 포함한다. 금속이온의 봉쇄제 또는 킬레이트제는 EDTA를 포함한다. 약제학적 담체는 또한 수-혼화성(water miscible) 비히클로 에틸알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜과, pH 조절을 위한 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 젖산을 포함한다.

[0480] 정맥내로 투여된다면, 적절한 담체는 생리 식염수 또는 포스페이트 완충 식염수 (PBS), 및 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜과 같은 증점제 및 가용화제, 및 이들의 혼합물을 포함하는 용액을 포함한다.

[0481] 주사가 원하는 약리학적 효과를 나타내는 유효량을 제공하도록 약제학적으로 활성인 화합물의 농도가 조정된다. 정확한 용량은 당업자에게 알려진 바와 같이 환자 또는 동물의 연령, 체중 및 상태에 좌우된다. 단위-용량 비경구 제제는 앰플, 바이알 또는 니들(needle)이 있는 시린지 내에 포장된다. 약제학적으로 활성인 화합물을 포함하는, 액체 용액 또는 재구성된 분말 제제의 부피는 치료할 질환과 포장을 위해 선택된 특정 제조품의 함수이다. 당업계에 알려지고 실행되는 바와 같이, 비경구 투여를 위한 모든 제제는 멸균되어야 한다.

[0482] b. 동결건조된 분말(Lyophilized powder)

[0483] 용액, 에멀전 및 다른 혼합물로서 투여를 위해 재구성될 수 있는 동결건조 분말이 본원의 관심이 된다. 이들은 또한 고체 또는 겔로서 재구성되고 제형화될 수 있다. 동결건조된 분말은 상기 기술된 임의의 용액으로부터 제조될 수 있다.

[0484] 멸균되고 동결건조된 분말은 완충용액 내에 가용성 히알루로니다아제와 같은, 히알루로난-분해 효소인 항-히알루로난 제제의 화합물 및/또는 제2 제제를 용해시켜 제조될 수 있다. 완충용액은 안정성을 개선하는 부형제 또는 분말 또는 분말로부터 조제된, 재구성된 용액의 다른 약리학적 성분을 포함할 수 있다. 그 다음 용액의 멸균 여과후, 당업자에게 알려진 표준 조건하에 동결건조하여 원하는 제형을 제공한다. 요약하면, 동결건조된 분말은 적절한 완충액, 예컨대 시트레이트, 소듐 포스페이트 또는 포타슘 포스페이트, 또는 당업자에게 알려진 기타 이러한 완충액에 부형제, 예컨대 텍스트로스, 소르비톨, 과당, 옥수수 시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스, 또는 기타 적절한 제제를 용해시켜 조제된다. 그 다음, 선택된 효소를 생성된 혼합물에 첨가하고, 용해될까지 교반한다. 생성된 혼합물을 멸균여과하거나, 미립자를 제거하고 무균성을 보장하기 위해 처리하여, 동결건조를 위한 바이알 내로 배분한다. 각각의 바이알은 화합물의 단일 투여량(1mg 내지 1g, 일반적으로 1 내지 100mg, 예를 들어 1 내지 5mg) 또는 다중 투여량을 포함할 것이다. 동결건조된 분말은 적절한 조건, 예컨대 약 4℃ 내지 실온에서 보관될 수 있다.

[0485] 완충용액과 상기 동결건조된 분말의 재구성은 비경구 투여로 사용하기 위한 제형을 제공한다. 정확한 양은 치료되는 적응증 및 선택된 화합물에 좌우된다. 상기 양은 경험적으로 결정될 수 있다.

[0486] c. 국소 투여 (Topical administration)

[0487] 국소 혼합물은 상기 국소 및 전신투여를 위해 기술된 바와 같이 제조된다. 생성된 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀전 등일 수 있고, 크림, 겔, 연고제, 에멀전, 용액, 엘릭시르(elixirs), 로션, 현탁액, 토크제, 페이스트, 폼(foams), 에어로졸, 관류액(irrigations), 스프레이, 좌약, 붕대(bandage), 피부 패치(dermal patch) 또는 국소투여에 적절한 임의의 다른 제형으로서 제형화된다.

[0488] 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 유도체는 흡입제와 같은, 국소적용을 위한 에어로졸로서 제형화될 수 있다(예를 들어, 미국특허번호 제4,044,126호; 제4,414,209호; 및 제4,364,923호 참조, 염증성 질환, 특히 천식 치료에 유용한 스테로이드 전달을 위한 에어로졸을 기술하고 있음). 기도(respiratory tract)로 투여하기 위한 이러한 제형은 분무기용 에어로졸 또는 용액의 형태, 또는 흡입(insufflation)을 위한 초미립자(microfine) 분말로, 단독으로 또는 락토오스와 같은 불활성 담체와 조합될 수 있다. 이러한 경우에, 제형의 입자는 전형적으로 50 마이크론 미만, 바람직하게는 10 마이크론 미만의 직경일 것이다.

[0489] 화합물은 국부(local) 또는 국소(topical) 적용을 위하여, 예컨대 피부 및 눈(eye) 안 과 같은 점막으로의 국소 투여를 위하여, 겔, 크림 및 로션의 형태로, 그리고 눈으로의 적용을 위하여, 또는 수조내(intracisternal) 또는 척수내 적용을 위하여 제형화될 수 있다. 경피전달용, 및 또한 눈 또는 점막 투여용, 또는 흡입치료용 국소

투여가 고려된다. 활성 화합물 단독 또는 다른 약제학적으로 허용가능한 부형제와 조합한 비강용액이 또한 투여될 수 있다.

[0490] 경피투여에 적절한 제형이 제공된다. 이들은 임의의 적절한 포맷, 예컨대 연장된 시간 동안 수여자의 표피와 긴밀한 접촉을 유지하도록 적응된 별개의 패치로써 제공될 수 있다. 상기 패치는 활성 화합물과 관련하여, 예를 들어 0.1 내지 0.2M 농도의 선택적으로 완충화된 수성용액 내에 활성 화합물을 포함한다. 경피투여에 적절한 제형은 또한 이온영동법(iontophoresis)에 의해 전달될 수 있고(예를 들어, *Pharmaceutical Research* 3(6),318(1986) 참조), 전형적으로 활성 화합물의 선택적으로 완충화된 수성용액의 형태를 취한다.

[0491] **d. 투여의 기타 경로를 위한 조성물**

[0492] 치료되는 상태에 따라, 다른 투여경로, 예컨대 국소적용, 경피패치, 경구 및 직장투여가 또한 본원에서 고려된다. 예를 들어 직장투여를 위한 투여량 형태(dosage forms)는 진신적 효과를 위한 직장좌제, 캡슐 및 정제이다. 직장좌제는 체온에서 녹거나 부드러워지면서 하나 이상의 약리학적 또는 치료적 활성성분을 방출하는, 직장내로 삽입을 위한 고체 바디(body)를 포함한다. 직장좌제에 이용되는 약제학적으로 허용가능한 물질은 기제(bases) 또는 비히클 및 녹는점을 높이는 제제이다. 기제의 예는 코코아 버터(테오브로마 오일), 글리세린-젤라틴, 카보왁스(폴리옥시에틸렌 글리콜) 그리고 지방산의 모노-, 디- 및 트리글리세리드의 적당한 혼합물을 포함한다. 다양한 기제의 조합물이 사용될 수 있다. 좌제의 녹는점을 높이는 제제는 경랍(spermaceti) 및 왁스를 포함한다. 직장좌제는 압축법 또는 몰딩 중 하나에 의해 제조될 수 있다. 직장좌제의 전형적인 중량은 약 2 내지 3mg이다. 직장투여를 위한 정제 및 캡슐은 동일한 약제학적으로 허용가능한 물질을 이용하여, 경구투여를 위한 제형화와 동일한 방법에 의해 제조된다.

[0493] 직장투여에 적절한 제형은 단위 투여량 좌제로써 제공될 수 있다. 이들 제형은 활성 화합물을 하나 이상의 통상적인 고체 담체, 예를 들어 코코아 버터와 혼합한 다음, 생성된 혼합물을 성형함으로써 제조될 수 있다.

[0494] 경구투여를 위하여, 약제학적 조성물은 예를 들어, 약제학적으로 허용가능한 부형제, 예를 들어, 결합제(예를 들어, 전젤라틴화된 옥수수 전분(pregelatinized maize starch), 폴리비닐 피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스); 충전제(예를 들어, 락토오스, 미세결정성 셀룰로오스 또는 칼슘 하이드로진 포스페이트); 윤활제(예를 들어, 마그네슘 스테아레이트, 탈크 또는 실리카); 붕해제(예를 들어, 감자전분 또는 소듐 전분 글리콜레이트); 또는 습윤제(예를 들어, 소듐 라우릴 술페이트)를 이용하여 통상적인 수단으로 제조된 정제 또는 캡슐의 형태를 취할 수 있다. 정제는 당업자에 잘 알려진 방법으로 코팅될 수 있다.

[0495] 구강(설하)투여에 적절한 제형은, 예를 들어 맛이 나는 기제, 보통 수크로스나 아카시아 또는 트래거캔스(tragacanth) 내에 활성 화합물을 포함한 로젠지(lozenges); 및 불활성 기제, 예컨대 젤라틴과 글리세린 또는 수크로스와 아카시아 내에 화합물을 포함하는 캔디(pastilles)를 포함한다.

[0496] 약제학적 조성물은 또한 제어방출 제형 및/또는 전달장치에 의해 투여될 수 있다(예를 들어 미국특허번호 제 3,536,809호; 제3,598,123호; 제3,630,200호; 제3,845,770호; 제3,847,770호; 제3,916,899호; 제4,008,719호; 제4,687,660호; 제4,769,027호; 제5,059,595호; 제5,073,543호; 제5,120,548호; 제5,354,566호; 제5,591,767호; 제5,639,476호; 제5,674,533호 및 제5,733,566호).

[0497] 리포솜 내 캡슐화(encapsulation), 미세입자, 미소캡슐, 화합물을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 엔도사이토시스, 및 레트로바이러스 전달시스템과 같은 가용성 히알루로니다아제 또는 다른 제제를 암호화하는 핵산분자의 전달과 같은, 그러나 여기에 제한되지 않는, 다양한 전달시스템이 알려져 있으며, 선택된 조성물을 투여하는데 이용될 수 있다.

[0498] 따라서, 어떤 구현예에서, 리포솜 및/또는 나노입자가 또한 본원의 조성물의 투여와 함께 이용될 수 있다. 리포솜은 수성 매체 내 분산된 인지질로부터 형성되고, 자발적으로 다층 동심 이중층 소포(multilamellar concentric bilayer vesicles)(다층소포(MLV)로도 불림)를 형성한다. MLV는 일반적으로 25nm 내지 4μm의 직경을 가진다. MLV의 초음파처리되는 중심에 수성용액을 포함하는 200 내지 500옹스트롬(angstrom) 범위의 직경을 갖는 작은 단층소포(SUV) 형성을 유발한다.

[0499] 인지질은, 물에 분산됐을 때, 물에 대한 지질의 몰비에 따라 리포솜 외에 다양한 구조를 형성할 수 있다. 낮은 비율에서, 리포솜이 형성된다. 리포솜의 물리적 특성은 pH, 이온강도 및 이가(divalent) 양이온의 존재에 좌우된다. 리포솜은 이온 및 극성 물질에 낮은 투과성을 보일 수 있으나, 상승된 온도에서 이들의 투과성을 현저하게 변화시키는 상전이를 겪는다. 상전이는 겔 상태로 알려진 가깝게 뭉쳐진 정돈된(ordered) 구조로부터 유체(fluid) 상태로 알려진 느슨하게 뭉쳐진 덜 정돈된 구조로의 변화를 포함한다. 이는 특유의 상-전이 온도에서

일어나고, 이온, 당 및 약물에 대한 투과성 증가를 유발한다.

[0500] 리포솜은 상이한 기전들: 세망내피계(reticuloendothelial system)의 탐식세포(phagocytic cells), 예를 들어 대식세포 및 호중구에 의한 엔도사이토시스; 비특이적이고 약한 소수성 또는 정전기적 힘, 또는 세포-표면 구성 요소와의 특이적인 상호작용 중 어느 하나에 의한 세포표면에 대한 흡착; 세포질 내 리포솜 내용물의 동시 방출을 수반하는, 원형질막 내로 리포솜의 지질 이중층 삽입에 의한 원형질막과의 융합; 및 리포솜 내용물의 연계없이, 리포솜 지질의 세포 또는 세포하(subcellular) 막으로 이동, 또는 그 반대에 의하여 세포와 상호작용한다. 하나 이상이 동시에 작동할 수 있지만, 리포솜 제형을 달리함으로써 작동하는 기전을 바꿀 수 있다. 나노캡슐은 일반적으로 안정하고 재현가능한 방법으로 화합물을 포집할 수 있다. 세포내 폴리머의 과부하(overloading)로 인한 부작용을 회피하기 위하여, 상기 초미립자(약 0.1 μm 크기)는 생체내에서 분해될 수 있는 폴리머를 사용하여 설계되어야 한다. 본원의 용도로 상기 요건을 충족시키는 생분해성 폴리알킬-시아노아크릴레이트 나노입자가 고려되며, 상기 입자는 쉽게 제조될 수 있다.

[0501] 2. 배합량 (Formulation amounts)

[0502] 조성물은 단일 투여량 투여를 위해 또는 다중 투여량 투여를 위해 제형화될 수 있다. 상기 제제는 직접 투여를 위해 제형화될 수 있다.

[0503] 항-히알루로난제가 히알루로난-분해 효소 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소인 본원에서 제공되는 조성물 또는 조성물의 조합물에서, 상기 폴리머-컨주게이션된 히알루로난 분해 효소는 약 0.5 μg 내지 50 mg, 예컨대 100 μg 내지 1 mg, 1 mg 내지 20 mg, 100 μg 내지 5 mg, 0.5 μg 내지 1450 μg , 1 μg 내지 1000 μg , 5 μg 내지 1250 μg , 10 μg 내지 750 μg , 50 μg 내지 500 μg , 0.5 μg 내지 500 μg 또는 500 μg 내지 1450 μg 의 범위에서 직접 투여를 위한 양으로 제형화된다. 예를 들어, 상기 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소는 용량(dose) 당 약 15 유닛(Units, U) 또는 150 유닛(U) 내지 60,000 유닛, 300 U 내지 30,000 U, 500 U 내지 25,000 U, 500 U 내지 10,000 U, 150 U 내지 15,000 U, 150 U 내지 5000 U, 500 U 내지 1000 U, 5000 U 내지 45,000 U, 10,000 U 내지 50,000 U 또는 20,000 U 내지 60,000 U, 예를 들어 적어도 약 15 U, 50 U, 100 U, 200 U, 300 U; 400 U; 500 U; 600 U; 700 U; 800 U; 900 U; 1,000 U; 1250 U; 1500 U; 2000 U; 3000 U; 4000 U; 5,000 U; 6,000 U; 7,000 U; 8,000 U; 9,000 U; 10,000 U; 20,000 U; 30,000 U; 40,000 U; 또는 50,000 U의 양으로 제형화된다. 상기 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소는 약 50 U/mL 내지 15,000 U/mL, 예컨대 10 U/mL 내지 500 U/mL, 1000 U/mL 내지 15,000 U/mL, 100 U/mL 내지 5,000 U/mL, 500 U/mL 내지 5,000 U/mL 또는 100 U/mL 내지 400 U/mL, 예를 들어 적어도 약 50 U/mL, 100 U/mL, 150 U/mL, 200 U/mL, 400 U/mL, 500 U/mL, 1000 U/mL, 2000 Units/mL, 3000 U/mL, 4000 U/mL, 5000 U/mL, 6000 U/mL, 7000 U/mL, 8000 U/mL, 9000 U/mL, 10,000 U/mL, 11,000 U/mL, 12,000 U/mL, 또는 12,800 U/mL에서 저장 용액(stock solution)으로서 제공될 수 있다. 조성물의 부피는 0.5 mL 내지 1000 mL, 예컨대 0.5 mL 내지 100 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 500 mL, 1 mL 내지 10 mL, 예컨대 적어도 약 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL, 9 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL 또는 그 이상일 수 있다. 조성물은 일반적으로 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소가 약 50 mL을 초과하는 부피로 투여되지 않도록 제형화되고, 전형적으로 5-30 mL의 부피, 일반적으로 약 10 mL를 초과하지 않는 부피로 투여된다. 더 큰 부피에 대해서, 주입의 시간은 더 큰 부피의 전달을 용이하게 하기 위해 조절될 수 있다. 예를 들어, 주입 시간은 적어도 1 분, 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 40 분, 50 분, 1 시간 또는 그 이상일 수 있다.

[0504] 본원에서 제공되는 조성물 또는 조성물의 조합물에서, 종양-표적 탁산, 예컨대 알부민-결합 탁산, 예를 들어 알부민-결합 파클리탁셀은, 약 10 mg 내지 1000 mg, 예컨대 20 mg 내지 500 mg, 10 mg 내지 250 mg, 75 mg 내지 400 mg, 100 mg 내지 200 mg, 150 mg 내지 400 mg, 200 mg 내지 800 mg, 50 mg 내지 200 mg 또는 50 mg 내지 150 mg의 범위에서 탁산의 직접 투여를 위한 양으로서 제형화된다. 조성물은 추후 재구성을 위한 동결건조된 형태 또는 액체 제형으로서 제공될 수 있다. 예를 들어, 액체 제형의 재구성은 물 또는 0.9% 소듐 클로라이드 또는 기타 생리적 용액으로 이루어질 수 있다. 액체 제형으로서 재구성 또는 제공되었을 때, 조성물은 약 0.01 mg/mL 내지 100 mg/mL, 예컨대 1 mg/mL 내지 50 mg/mL, 2.5 mg/mL 내지 25 mg/mL, 5 mg/mL 내지 15 mg/mL 또는 10 mg/mL 내지 100 mg/mL, 예를 들어 적어도 약 5 mg/mL의 저장 용액으로서 종양-표적 탁산 제형 내에 탁산을 포함하여 제공될 수 있다. 조성물의 부피는 0.5 mL 내지 1000 mL, 예컨대 0.5 mL 내지 100 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1 mL 내지 500 mL, 1 mL 내지 10 mL, 예컨대 적어도 약 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL, 9 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL 또는 그 이상일 수 있다. 전체 바이알 내용물이 투여를 위해 인출되거나 다중 투여를 위해 복수의 투여량으로 나누어질 수 있다. 더 큰 부피에 대해, 주입의 시간은 더 큰 부피의 전달을 용이하게 하기 위해 조절될 수 있다. 예를 들어, 주입 시간은 적어도 1

분, 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 40 분, 50 분, 1 시간 또는 그 이상일 수 있다. 탁산의 제형이 담체, 폴리머, 지질 및 기타 부형제를 포함하는 기타 구성요소를 포함할 수 있다는 것이 이해된다. 상기에서 제공되는 투여량은 활성 성분인 탁산 성분에 관한 것이다.

[0505] 예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀인 아브락산®(Abraxane®)은 파클리탁셀이 안정한 입자 또는 약 130 nm의 크기를 형성하기 위한 알부민으로만 복합체를 이룬 파클리탁셀의 무-용매 제형으로서 제형화된다. 각 아브락산®의 50 mL 바이알은 100 mg의 파클리탁셀 및 대략 900 mg의 인간 알부민을 멸균, 동결건조된 케이크(cake)로서 포함한다. 각 바이알은 20 mL의 0.9% 소듐 클로라이드 주사, USP로 재구성되어 5 mg/mL의 파클리탁셀을 포함하는 현탁액을 생산한다. 재구성된 아브락산 현탁액은 30분에 걸쳐 정맥내로 260 mg/m²의 권장 용량으로 주입된다.

[0506] 본원에서 제공되는 조성물 또는 조성물의 조합물에서, 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 젬시타빈 또는 이의 유도체는 약 100 mg 내지 5000 mg, 예컨대 500 mg 내지 5000 mg, 500 mg 내지 2500 mg, 1000 mg 내지 2500 mg, 2000 mg 내지 5000 mg 또는 1500 mg 내지 2500 mg, 일반적으로 적어도 약 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg 또는 1000 mg의 범위에서 직접 투여를 위한 양으로서 제형화된다. 조성물은 추후 재구성을 위한 동결건조 형태로서 또는 액체 제형으로서 제공될 수 있다. 예를 들어, 액체 제형의 재구성은 물 또는 0.9% 소듐 클로라이드 또는 기타 생리적 용액으로 이루어질 수 있다. 액체 제형으로서 재구성되거나 제공되었을 때, 조성물은 뉴클레오시드 유사체를 약 1 mg/mL 내지 500 mg/mL, 예컨대 5 mg/mL 내지 100 mg/mL, 10 mg/mL 내지 50 mg/mL, 25 mg/mL 내지 200 mg/mL 또는 20 mg/mL 내지 100 mg/mL, 예를 들어 적어도 약 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL 또는 40 mg/mL, 및 불완전한 용해를 최소화하기 위해 일반적으로 40 mg/mL을 초과하지 않도록 포함하는 저장 용액으로서 제공될 수 있다. 조성물의 부피는 0.5 mL 내지 1000 mL, 예컨대 0.5 mL 내지 100 mL, 0.5 mL 내지 10 mL, 1mL 내지 500 mL, 1mL 내지 10 mL, 예컨대 적어도 약 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL, 9 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL 또는 그 이상일 수 있다. 전체 바이알 내용물이 투여를 위해 인출될 수 있거나, 다중 투여를 위해 복수의 투여량으로 나누어질 수 있다. 더 큰 부피에 대하여, 주입의 시간은 더 큰 부피의 전달을 용이하게 하기 위해 조정될 수 있다. 예를 들어, 주입 시간은 적어도 1 분, 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 40 분, 50 분, 1 시간 또는 그 이상일 수 있다. 투여를 위한 약물의 양의 인출에 있어서, 제형은 희망되는 경우 추가적으로 희석될 수 있는데, 예를 들어 물, 식염수(예컨대 0.9%) 또는 기타 생리적 용액 내에 희석될 수 있다. 뉴클레오시드 유사체(예컨대 젬시타빈 또는 유도체)의 제형이 담체, 폴리머, 지질 및 기타 부형제를 포함하는 기타 구성요소를 포함할 수 있다는 것이 이해된다. 상기 제공되는 투여량은 활성 성분인 뉴클레오시드 유사체 구성요소에 대한 것이다.

[0507] 예를 들어, 주사용 젬시타빈인 젬자®는 200 mg 또는 1000 mg의 활성 제제를 바이알 당 포함하는 동결건조된 제형으로서 제공된다. 각 바이알은 0.9% 소듐 클로라이드 주사, USP의 각각 5 mL 또는 25 mL로 재구성되어 젬시타빈 40 mg/mL을 포함하는 현탁액(동결건조된 분말의 이동 부피를 차지하는 재구성된 농도는 약 38 mg/mL일 수 있음)을 생산하도록 제공된다. 투여 전에, 약물의 적절한 양이 0.9% 소듐 클로라이드 또는 기타 생리적 용액으로 추가적으로 희석될 수 있다.

[0508] 3. 포장(Packaging) 및 제조품(Articles of Manufacture)

[0509] 또한, 포장 재료, 본원에서 제공되는 임의의 약제학적 조성물 또는 조합물, 및 조성물 및 조합물이 기질 중앙 압 또는 고형 중앙 압과 같은 압의 치료에 사용되기 위한 것임을 지시하는 라벨을 포함하는 제조품이 제공된다. 제조품의 예는 단일 챔버 및 이중 챔버 용기를 포함하는 용기이다. 용기는 튜브, 병 및 시린지를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 용기는 추가로 피하 투여용 니들을 포함할 수 있다.

[0510] 한 예에서, 약제학적 조성물을 포함하는 제조품은 추가적인 제제 또는 치료 없이 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소 및 중앙-표적화 탁산을 포함한다. 다른 예에서, 제조품은 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소, 중앙-표적 탁산 및 추가적인 화학치료제(예컨대 뉴클레오시드 유사체)를 포함한다. 상기 예에서, 제제들은 제조품으로써 포장을 위하여 함께 또는 별도로 제공될 수 있다.

[0511] 본원에서 제공되는 제조품은 포장재료를 포함한다. 약제학적 제품을 포장하는데 사용되는 포장재료는 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 각각이 본원에서 전체로 통합되는 미국특허번호 제5,323,907호, 제5,052,558호 및 제5,033,252호 참조. 약제학적 포장재료의 예는 블리스터 팩, 병, 튜브, 흡입기, 펌프, 백, 바이알, 용기, 시린지, 병, 그리고 선택된 제형과 의도된 투여 및 치료방식에 적절한 임의의 포장재료를 포함하나, 이에 제한

되지 않는다.

[0512] 포장의 선택은 제제, 및 이러한 조성물이 함께 또는 별도로 포장될 것인지 여부에 좌우된다. 일반적으로, 포장 은 포장 내의 조성물과 비-반응성이다. 다른 예에서, 일부 구성요소는 혼합물로서 포장될 수 있다. 다른 예에서, 모든 구성요소는 별도로 포장될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 구성요소는 투여 직전에 혼합하여 함께 직접적으로 투여될 수 있는, 별개의 조성물로서 포장될 수 있다. 대안적으로, 구성요소들은 별도로 투여되기 위한 별개의 조성물로서 포장될 수 있다.

[0513] 구성요소들은 용기 내에 포장될 수 있다. 구성요소들은 동일한 용기 내에 별도로 포장된다. 일반적으로, 이러한 용기의 예는 폴리머-컨주게이션된 히알루로난-분해 효소를 포함하는 밀봉된, 구별된 공간, 및 다른 구성요소들 또는 구성요소를 포함하는 별개의 밀봉된, 구별된 공간을 포함하며, 이어지는 공간들은 쉽게 제거될 수 있는 막 으로 분리되어 있어, 막을 제거시 구성요소들이 혼합되도록 허용하거나, 구성요소들이 별도로 투여되도록 허용 한다. 제제들이 투여 전 다른 구성요소들로부터 분리되는 한, 임의의 용기 또는 제조품이 고려된다. 적합한 구 현예를 위해서 예컨대 미국 특허번호 제3,539,794호 및 제5,171,081호를 참조하라.

[0514] 이의 제조품을 포함하는 선택된 조성물은 또한 키트로서 제공될 수 있다. 키트는 본원에서 기술되는 약제학적 조성물 및 제조품으로서 제공되는 투여를 위한 물품을 포함할 수 있다. 상기 키트는, 선택적으로 투여량, 투여 요법 및 투여 방식에 대한 지침을 포함하는 투여에 대한 지침서를 포함할 수 있다. 키트는 또한 본원에서 기술 되는 약제학적 조성물 및 진단을 위한 물품을 포함할 수 있다.

[0515] **F. 활성, 생체 이용률(BIOAVAILABILITY) 및 약동학(PHARMACOKINETICS)의 평가방법**

[0516] 본원의 조성물의 상기 제제는 성질 및 활성에 대해 평가될 수 있다. 상기 성질 및 활성은 생물학적 활성 및/또 는 중앙형성 활성과 관련될 수 있다. 상기 검정은 시험관 내 또는 생체 내에서 수행될 수 있다. 이러한 검정은 조직 또는 중앙 생검에서의 히알루로난 또는 혈장 내 가용성 히알루로난의 양의 측정, 또는 혈액 또는 뇨 내 히 알루로난 이화물의 측정, 혈장 내 히알루로니다아제 활성의 측정, 간질액 압력, 중앙에 있어서의 혈관 부피 또 는 물 함량의 측정을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 검정은 용량의 효과 및 투여의 경로를 포 함하는, 제제의 효과를 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0517] **1. 시험관 내(In Vitro) 검정**

[0518] **a. 히알루로난 분해 효소의 히알루로니다아제 활성**

[0519] 히알루로난 분해 효소의 활성은 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 히알루로니 다아제에 대한 USP XXII 검정은 효소를 30분 동안 37℃에서 HA와 반응시킨 후 남은 분해되지 않은 히알루론산, 또는 히알루로난, (HA) 기질의 양을 측정함으로써 활성을 간접적으로 결정한다(USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 미국 약전 협회(United States Pharmacopeia Convention, Inc), 미국 메릴랜드주 락빌 소재). 히알루로니 다아제 표준품 (USP) 또는 국가 의약품집 (NF) 표준 히알루로니다아제 용액이 임의의 히알루로니다아제의 활성 을, 단위로, 확인하기 위한 검정에서 사용될 수 있다. 일 예에서, 활성은 미세탁도 검정을 사용하여 측정된다. 이는 히알루론산이 혈청 알부민과 결합시 불용성 침전물의 형성함을 기초로 한다. 상기 활성은 히알루로니다아 제를 나트륨 히알루로네이트 (히알루론산)와 설정된 시간 동안 (예를 들어, 10분) 배양한 후 소화되지 않은 나 트륨 히알루로네이트를 산성화된 혈청 알부민의 첨가에 의해 침전시켜 측정된다. 생성된 시료의 탁도는 추가 전 개 기간 후 640 nm에서 측정된다. 나트륨 히알루로네이트 기질에 대한 히알루로니다아제 활성에 의해 유발된 탁 도의 감소는 히알루로니다아제 효소 활성의 척도이다. 다른 예에서, 히알루로니다아제 활성은 히알루로니다아제 와 배양 후 잔류 비오틴화된 히알루론산을 측정하는 미세역가 검정을 이용하여 측정된다(예를 들어, Frost 및 Stern (1997) *Anal. Biochem.* 251:263-269, 미국 특허 공개 번호 제20050260186호 참조). 히알루론산의 글루쿠 론산 잔기 상의 유리 카르복실기를 비오틴화시키고, 비오틴화된 히알루론산 기질을 미세역가 플레이트에 공유 결합으로 커플링시킨다. 히알루로니다아제와의 배양 후, 잔류 비오틴화된 히알루론산 기질을 아비딘-퍼옥시다제 반응을 이용하여 검출하고, 공지된 활성의 히알루로니다아제 표준과의 반응 후 얻어지는 것과 비교한다. 히알루 로니다아제 활성을 측정하기 위한 다른 검정이 또한 당업계에 공지되어 있고, 본원의 방법에서 사용될 수 있다 (예를 들어, Delpech 외., (1995) *Anal. Biochem.* 229:35-41; Takahashi 외., (2003) *Anal. Biochem.* 322:257-263 참조).

[0520] 산포제 또는 확산제로서 작용하는 히알루로난 분해 효소, 예컨대 변형된 가용성 히알루로니다아제 (예를 들어, PEG화 rHuPH20)의 활성은 또한 평가될 수 있다. 예를 들어, 트립판 블루 염료는 히알루로난 분해 효소와 함께 또는 히알루로난 분해 효소 없이 예컨대 피하로 또는 피부내로 누드 마우스의 각 측면 상의 각측 피부로 주사될

수 있다. 그 후, 산포제로서 작용하는 히알루로난 분해 효소의 활성을 결정하기 위하여 염료 면적을 예컨대 마이크로캘리퍼스로 측정한다(예를 들어, 미국 공개 특허 번호 제20060104968호 참조). 제제의 약동학적 및 약력학적 성질에 있어서 다른 제제, 예컨대 화학 치료와 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제의 병용-투여의 효과는 또한 동물 모델 및/또는 인간 대상을 사용하는 생체 내에서, 예컨대 설정된 임상 실험에서 상기 논의되고 하기 실시예 1에 입증된 바와 같이 평가될 수 있다. 히알루로니다아제가 아닌 히알루로난 분해 효소의 기능적 활성은 임의의 이러한 검정을 이용하여 히알루로니다아제와 비교될 수 있다. 이것은 히알루로난 분해 효소의 기능적으로 동등한 양을 결정하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, 산포제 또는 확산제로서 작용하는 히알루로난 분해 효소 활성은 트립판 블루와 함께 그것을 마우스의 가죽 피부에 주사(예컨대 피하로 또는 피부내로) 함으로써 평가될 수 있고, 예를 들면 100 유닛의 히알루로니다아제 기준 표준과 동일한 양의 확산을 달성하기 위해 필요한 양이 결정될 수 있다. 그러므로, 필요한 히알루로난 분해 효소의 양은 100 히알루로니다아제 유닛과 기능적으로 동등하다. 변형된 히알루로난 분해 효소, 예컨대 변형된 히알루로니다아제의 처리 전 및 후에, 예를 들어 종양에서의 수리 전도도(hydraulic conductivity, K)가 또한 변형된 히알루로난 분해 효소 제형의 활성을 평가하기 위해 측정될 수 있다.

[0521] 상기 기술된 임의의 하나 이상의 히알루로난-관련 질환 및 상태와 관련된 마커, 또는 임의의 다른 관련 마커 또는 표현형에 영향을 주는, 변형된 히알루로난 분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제를 포함하는 변형된 히알루로니다아제의 활성은 상기 기술된 임의의 하나 이상의 검정을 이용하여 평가될 수 있다. 예를 들어, 히알루로난 수준 또는 함량, 할로(halos)의 형성 또는 크기, 간질액 압력, 물 함량 및/또는 혈관 부피를 감소시키는, 변형된 히알루로난 분해 효소, 예컨대 변형된 히알루로니다아제의 활성은 상기 시험관 내, 생체 외 및/또는 생체 내의 임의의 하나 이상의 검정을 이용하여 평가될 수 있다. 일 예에서, 변형된 히알루로니다아제는 종양을 가진 대상 또는 적절한 동물 모델에 투여될 수 있고 히알루로난 수준, 할로(halos)의 형성 또는 크기, 간질액 압력, 물 함량 및/또는 혈관 부피에 대한 효과가 평가될 수 있고 변형된 히알루로니다아제가 투여되지 않은 대상 또는 동물 모델과 비교될 수 있다. 일부 예에서, 변형된 히알루로니다아제는 다른 제제, 예컨대 화학 치료제와 함께 투여될 수 있다.

[0522] HA 합성 또는 분해에 대한 효과를 포함하는, 히알루로니다아제 활성을 평가하는 다른 검정 다양한 검정은 당업자에게 공지되어 있고, 예컨대 본원에 기술되거나 당업계에 공지된 임의의 것에 제한되지 않고, 예를 들어, 히알루로난 분해를 측정하는 시험관 내 검정 (예를 들어, Frost 및 Stern (1997) *Anal. Biochem.* 137 251:263-269 참조), 예컨대 HA-결합 단백질 또는 기타 항-HA 시약을 이용하는 HA에 대한 조직 또는 기타 시료의 염색(예를 들어, Nishida 외. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274:21893-21899 참조), 입자 배제 검정(Nishida 외. 1999; Morohashi 외. (2006) *Biochem Biophys. Res. Comm.*, 345:1454-1459); has 유전자에 대한 HAS mRNA 발현 측정 또는 분석(Nishida 외. 1999)을 포함한다.

[0523] b. 탁산 활성

[0524] 표준 생리적, 약리학적 및 생화학적인 절차가 튜블린 연관 억제에 대한 원하는 생물학적 활성을 갖는 그들을 식별하기 위하여 화합물들을 시험하는데 이용가능하다. 시험관 내 및 생체 내 검정은 생물학적 활성, 예컨대 세포 독성 및 튜블린 중합을 평가하는데 사용될 수 있다(예컨대 Hidaka 외. (2012) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 76:349-352 참조).

[0525] 예를 들어, 본원에서 제공되는 탁산 화합물은 미세소관 안정화 검정에서 시험될 수 있다(Barron 외., (2003) *Anal. Biochem.*, 315:49-56). 튜블린 조립 또는 이의 억제는 흡광도 또는 형광형에서의 튜블린 중합 검정에서 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 광학 밀도 기반 튜블린 중합 검정은 미세소관 중합체의 농도가 미세소관에 의해 산란되는 빛의 정도에 비례하기 때문에, 사용될 수 있다. 이러한 검정의 예시는 튜블린 중합 HTS 검정이다(카탈로그 번호. BK004P 또는 BK006P; Cytoskeleton, Denver, CO). 중합 후 미세소관으로의 형광 리포터의 합체에 기인하는 형광 향상이 일어나는 형광 기반 검정 또한 사용될 수 있다(카탈로그 번호. BK011P, Cytoskeleton, Denver). 이러한 검정에서, 튜블린은 탁산 화합물, 예컨대 파클리탁셀, 빈플라스틴 또는 도셀레탁셀과 배양될 수 있고, 중합은 시간에 걸쳐 측정될 수 있다. 예를 들어, 형광 검정에서, 중합은 360 nm에서의 여기 및 420 nm에서의 발광의 형광 변화를 모니터링함으로써 측정될 수 있다. 튜블린 조립은 또한 350 nm에서의 겔보기 흡수와 비슷한, 광 분산에 의해 모니터링될 수 있다. 상기 검정에서, 소 혈청 알부민(BSA)은 일반적으로 응집을 예방하기 위해 사용된다. 또한, 튜블린 중합 촉진제인 글리세롤은 신호 대 잡음비를 증가시키기 위해 제외된다. 대조군으로서, 튜블린을 안정화시키고 해중합(depolymerization)에 영향을 끼치지 않는 미세소관 불안정화 약물, 빈플라스틴이 사용될 수 있다.

c. 항암 활성

히알루로난-분해 효소, 종양-타산 표적 및/또는 다른 화학 치료제(예를 들어, 뉴클레오시드 유사체) 및 이의 제형을 포함하는, 본원에서 기술되는 화합물 및 제제의 항암 활성은 시험관 내에서, 예를 들어, 유도체와 함께 암 세포 배지를 배양하고 그 후 배지에서 세포 성장 억제를 평가함으로써, 검사될 수 있다. 이러한 시험에 적합한 세포는 췌장 P388 백혈병, B16 흑색종 및 루이스 폐 암 세포, 뿐만 아니라 인간 유선 MCF7, 난소 OVCAR-3, A549 폐 암 세포, MX-1 (인간 유방 종양 세포), HT29 (결장 암 세포주), HepG2 (간 암 세포주), 및 HCT116 (결장 암 세포)를 포함한다.

2. 생체 내(In Vivo) 동물 모델

동물 모델은 히알루로난 수준 또는 함량, 간질액 압력, 물 함량, 혈관 부피, 및 종양 크기, 부피 또는 성장에 대한 본원에서 제공되는 조성물 또는 조합물의 효과를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 동물 모델은 조성물 또는 조합물의 약동학 또는 내약성을 평가하기 위해 사용될 수 있다.

동물 모델에는 마우스, 랫트, 토끼, 개, 기니피그 및 사이노몰거스 원숭이 또는 히말라야 원숭이(rhesus macaques)와 같은 비-인간 영장류 모델이 있으나 이에 제한되지 않는다. 동물 모델은 이중이식 모델 뿐만 아니라 유전적 모델을 포함하는 것이다. 예를 들어, 이중이식 모델은, 제제를 시험하기 전에, 적합한 시험 동물, 예를 들어, 누드 마우스에서 종양이 확립할 수 있는 것들을 포함한다. 일부 예에서, 누드마우스나 SCID 마우스와 같은 면역결핍 마우스에 예컨대 히알루로난 관련 암으로부터 얻은 종양 세포주를 이식하여 암에 대한 동물 모델을 확립할 수 있다. 히알루로난 관련 암유래를 포함하는 세포주는 예시적으로 PC3 전립선암 세포, BxPC-3 췌장 선암 세포, MDA-MB-231 유방암 세포, MCF-7 유방 종양 세포, BT474 유방 종양 세포, Tramp C2 전립선 종양 세포 및 Mat-LyLu 전립선암 세포, 및 히알루로난과 관련된 것으로 본원에서 기술된, 예컨대 히알루로난 수준이 증가되어 있는 기타 세포주를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 췌장 암 동물 종양 모델의 예시는 BxPC-3 췌장 선암 세포를 이용한 동물에서 종양의 생성을 포함한다(예컨대 Von Hoff 외. (2011) *J. Clin. Oncol.*, 29:4548-54 참조).

종양의 생성 또는 형성을 초래하도록 하나 또는 그 이상의 유전자가 결핍되도록 만들어진 동물인 유전적 모델이 또한 사용될 수 있다. 이러한 유전적으로 설계된 마우스 모델(GEMM)은 질환의 분자 및 임상적 특성을 개괄할 수 있다. 예를 들어, 예시적인 췌장 암 유전적 모델은 결절 표현형을 나타내는 돌연변이 마우스에서 일어나는, 내생 돌연변이 *Kras* 및 *Trp53* 형질의 췌장 특이적 발현을 포함한다(용어 KPC 마우스; LSL-*Kras*^{G12D}, LSL-*Trp53*^{R172H}, Pdx-1-Cre). KPC 마우스는 뉴클레오시드 유사체 쥘시타빈에 대한 저항성을 포함하는, 인간 질환에 유사한 특성을 나타내는 일차 췌장 종양을 발달시킨다(예컨대 Frese 외. (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269 참조).

본원에서 제공되는 조성물 또는 조합물은 질환에 미치는 영향을 평가하기 위해 마우스에 투여될 수 있다. 예를 들어, 히알루로난 수준은 평가되거나 측정될 수 있다. 다른 실시예에서, 종양 성장 또는 종양 세포 억제에 대한 효과는 평가될 수 있다. 예를 들어, ED₅₀ 값, 즉, 동물에서 종양 성장의 50% 억제를 달성하는데 필요한 제제(들)의 양이 결정될 수 있다. 생존율 또한 결정될 수 있다.

3. 약동학 및 내약성(tolerability)

약동학 및 내약성 연구는 동물 모델을 사용하여 수행될 수 있거나 본원에서 제공되는 조합물 및 조성물의 효과를 평가하기 위해 환자와 함께하는 임상적 연구 동안에 수행될 수 있다. 동물 모델은 마우스, 랫트, 토끼, 개, 기니피그 및 비인간 영장류 모델, 예컨대 사이노몰거스 원숭이 또는 히말라야 원숭이가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 일부 예에서, 약동학 및 내약성 연구는 건강한 동물을 사용하여 수행된다. 다른 실시예에서, 연구는 본원의 조합물 또는 조성물로의 치료가 고려되는 질환의 동물 모델, 예컨대 암 동물 모델을 사용하여 수행된다.

본원에서 제공되는 조합물 또는 조성물의 약동학적 특성은 투여 이후 최대(피크) 화학 치료제 농도 (C_{max}), 피크 시간(즉, 최대 화학 치료제 농도가 발생할 때; T_{max}), 최소 화학 치료제 농도(즉, 화학 치료제의 투여 사이의 최소 농도; C_{min}), 제거 반감기(T_{1/2}) 및 곡선 하 면적(즉, 시간대 농도를 플롯팅하여 생성된 곡선하 면적; AUC)과 같은 매개변수를 측정함으로써 평가될 수 있다. 화학 치료제가 피하로 투여되는 경우, 제제의 절대 생체 이용률은, 정맥 전달(AUC_{iv}) 후 화학 치료제의 AUC와 피하 전달 (AUC_{sc}) 후 화학 치료제의 곡선 하 면적을 비교함으로써 결정될 수 있다. 절대 생체 이용률(F)은 식: $F = ([AUC]_{sc} \times \text{용량}(\text{dose})_{sc}) / ([AUC]_{iv} \times \text{용량}(\text{dose})_{iv})$ 를 이용하여 계산될 수 있다. 피하 투여 후 혈장에서의 화학 치료제의 농도는 혈액 시료에서 화학 치료제의 농도를

평가하기 위해 적합한 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0536] 다양한 투여량 및 다른 투여 빈도 투여가 병용-투여 제제(예컨대, 뉴클레오시드 유사체)의 증가 또는 감소 농도의 효과를 평가하기 위한 약동학적 연구에 있어서 투여될 수 있다. 피하로 투여된 화학 치료제의 약동학적 성질, 예컨대 생체 이용률은 또한 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소 및/또는 종양-표적 타산의 병용투여와 함께 또는 이를 제외하고 평가될 수 있다. 예를 들어, 개, 예컨대 비글에 하나 이상의 투여 경로를 이용하여, 화학 치료제(예를 들어, 뉴클레오시드 유사체 예컨대 젬시타빈)와 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소 및/또는 종양-표적 타산을 조합하여, 또는 화학 치료제 단독으로 투여될 수 있다. 이러한 연구는 화학 치료제의 약동학적 성질, 예컨대 생체 이용률에 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로니다아제와 병용-투여의 효과를 평가하기 위해 수행될 수 있다.

[0537] 안정성 및 내약성을 평가하는 연구는 또한 당업계에 공지되어 있고 본원에서 사용될 수 있다. 본원의 조합물 및 조성물의 투여 후, 임의의 유해한 반응의 발생은 모니터링될 수 있다. 유해한 반응은 주사 부위 반응, 예컨대 부종 또는 붓기, 두통, 발열, 피로, 오한(chills), 홍조, 현기증, 두드러기, 천명 또는 흉부 압박, 구역질, 구토, 오한(rigors), 허리 통증, 가슴 통증, 근육 통증, 발작 또는 경련, 혈압의 변화 및 과민증(anaphylactic) 또는 중증의 과민 반응을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 전형적으로, 다양한 투여량 및 다른 투여 빈도는 안전성 및 내약성 연구에서 투여량에 있어서의 화학 치료제 및/또는 항-히알루로난제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난 분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산의 증가 또는 감소 농도의 효과를 평가하기 위하여 투여된다.

[0538] G. 병용 치료의 방법 및 용도

[0539] 본원에서 제공되는 조합물 및 조성물은 암, 특히 고형 종양 암을 치료하는 치료 방법에 사용될 수 있다. 상기 방법에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난 분해 효소(예컨대, PH20와 같은 히알루로니다아제, 예를 들어 PEGPH20) 및 타산 제형(예컨대, 알부민-결합 타산 제형)의 병용 치료는 고형 종양을 가진 대상에 투여된다. 일부 예에서, 추가의 뉴클레오시드 유사체 제제, 특히 고형 종양을 위한 치료 및/또는 아미노기 이탈에 의해 억제에 영향받기 쉬운 뉴클레오시드 유사체(예컨대, 젬시타빈 또는 이의 유사체) 또한 투여될 수 있다. 본원에서 발견된 바와 같이, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난 분해 효소 및 타산 제형과의 병용 요법에서의 뉴클레오시드 유사체의 종양내 양, 및 이의 세포독성 효과는 뉴클레오시드 유사체가 오직 하나의 제제(즉, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소 또는 타산 제형)와 함께 투여될 때의 효과를 훨씬 초과한다. 예를 들어, 상기 효과는 상승적 효과가 될 수 있다. 본원에서 제공되는 병용 치료에서 관찰되는 뉴클레오시드 유사체 종양내 활성의 함량 및 수준은 기존 치료 요법을 능가하는 증가된 효능 및 생존을 포함하는, 기존 치료로 지금까지는 달성할 수 없는 결과를 달성한다.

[0540] 1. 암

[0541] 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 타산 제형 및/또는 뉴클레오시드 유사체의 병용 치료는 암세포, 신생물, 종양 및 전이의 치료를 위해 사용될 수 있다. 본원에서 제공되는 병용 치료는 항종양 효능을 나타내고 종양 성장의 감속 또는 감소, 종양 부피의 감소를 일으키고 일부의 경우에 종양의 제거 또는 근절을 일으킨다. 병용 치료는 단일 또는 이중 병용 치료로서 동일한 제제로 치료되는 대상과 비교하여 대상의 증가된 생존을 유발한다. 치료되기 어려운 췌장암과 같은 암에서, 병용 치료는 기존의 방법에 비해 중요한 이점을 제공한다.

[0542] 예를 들어, 병용 치료는 고형 종양, 예컨대 폐 및 기관지, 유방, 결장 및 직장, 신장, 위, 식도, 간 및 간내 담관, 방광, 뇌 및 다른 신경계, 두경부, 구강 및 인두, 자궁 경부, 자궁 체부, 갑상선, 난소, 고환, 전립선, 악성 흑색종, 담관암종(cholangiocarcinoma), 흉선종, 비-흑색종 피부 암, 뿐만 아니라 혈액 종양 및/또는 혈액 악성종양, 예컨대 소아 백혈병 및 림프종, 다발성 골수종, 호킨스 질환, 림프구성 및 피부의 기원의 림프종, 급성 및 만성 백혈병 예컨대 급성 림프구성, 급성 골수성 또는 만성 골수성 백혈병, 형질 세포 종양, 림프의 신생물 및 AIDS와 관련된 암의 치료에 사용될 수 있다. 전형적으로, 병용 치료는 고형 종양, 예를 들어, 고형 종양 기질조직 암의 치료를 위해 사용될 수 있다. 예시적인 종양은, 예를 들어, 췌장 종양, 난소 종양, 폐 종양, 결장 종양, 전립선 종양, 자궁 종양 및 유방 종양을 포함한다.

[0543] 특히, 상기 암은 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소에 의해 표적화되기에 적합한 히알루로난-풍부 암이 될 수 있다. 몇몇의 히알루로난-풍부 암이 확인되었다. 히알루로난-풍부 종양은 전립선, 유방, 결장, 난소, 위, 두경부 및 다른 종양 및 암을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부의 경우에, 히알루로난 수준은 불량한 예후, 예를 들어 감소된 생존율 및/또는 재발-없는 생존율, 전이, 혈관형성, 다른 조직/영역으로의 암

세포 침윤, 및 불량한 예후의 다른 지표와 상관관계가 있다. 이러한 상관관계는 예를 들어, 히알루로난-풍부 종양, 예를 들어 난소암, SCC, ISC, 전립선암, 비소세포 폐암(NSCLC)을 포함하는 폐암, 유방암, 결장암 및 췌장암에서 관찰되었다(예를 들어, Anttila 외, (2000) *Cancer Research*, 60:150-155; Karvinen 외, (2003) *British Journal of Dermatology*, 148:86-94; Lipponen 외, (2001) *Eur. Journal of Cancer*, 849-856; Pirinen 외, (2001) *Int. J. Cancer*, 95:12-17; Auvinen 외., (2000) *American Journal of Pathology*, 156(2):529-536; Ropponen 외, (1998) *Cancer Research*, 58:342-347 참조). 그러므로, 히알루로난-풍부 암은 암의 하나 이상의 증상을 치료하기 위해 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로니다아제의 투여에 의해 치료될 수 있다.

[0544] 히알루로난-풍부 암을 치료하는 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소는 그 자체에 의해 치료적으로 작용할 수 있고/있거나 다른 병용-투여 또는 병용 치료의 활성을 강화할 수 있다. 예를 들어, 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제는 종양에 주사되는 경우 직접적인 항발암 효과를 가진다. 히알루로니다아제는 마우스에 이식된 종양의 성장을 막고(De Maeyer 외., (1992) *Int. J. Cancer* 51:657-660) 발암물질에 노출시 종양 형성을 억제한다(Pawlowski 외. (1979) *Int. J. Cancer* 23:105-109) 히알루로니다아제는 뇌 암(신경교종)의 치료에 유일한 치료제로서 효과가 있다(국제 공개 공보 번호 W0198802261호 참조).

[0545] 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로니다아제를 포함하는 히알루로난 분해 효소는, 또한 종양에 화학 치료제의 전달을 증가시키기 위해 사용될 수 있다. 히알루로난 분해 효소는 하나 이상의 다른 화학 치료 또는 다른 항암제 또는 치료와 병용하여, 예를 들어, 동시에 또는 그 전에 투여될 수 있다(예컨대, 탁산 제형을 이용한 치료 및/또는 뉴클레오시드 유사체를 이용한 치료). 일부의 경우에, 효소는 종래의 화학 치료에 저항성이 있는 종양의 감도를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 히알루로니다아제를 포함하는 히알루로난 분해 효소, 예컨대 rHuPH20은 종양 부위 주변에 확산을 증가시키기 위해(예컨대 종양 부위 및 주변에 화학 치료제의 순환 및/또는 농도를 촉진하기 위해), 종양 세포 운동성, 예컨대 히알루론산 분해에 의한 것을 억제시키기 위해, 및/또는 종양 세포 자연사(apoptosis) 임계점을 낮추기 위한 유효량으로 환자에게 투여될 수 있다. 이것은 화학 치료제의 작용에 더 민감한 종양 세포를 만드는, 아노이키스(anoikis)의 상태로 종양 세포(들)을 가져올 수 있다. 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제의 투여는 종래의 화학 치료-저항 종양인 췌장, 위, 결장, 난소, 및 유방의 반응을 유도할 수 있다(Baumgartner 외. (1988) *Reg. Cancer Treat.* 1:55-58; Zanker 외. (1986) *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 27:390). 히알루로난 분해 효소, 예컨대 히알루로니다아제는 전형적으로 고형 종양에 화학 치료제 또는 다른 항암제의 침투를 향상시켜 질환을 치료한다.

[0546] 치료를 위한 대상체의 선택

[0547] 이 방법들은 히알루로난-관련 종양 또는 암을 갖는 치료를 위한 대상을 선택하기 위한 단계를 포함한다. 이러한 방법들은 히알루로난-관련 질환 마커를 검출하기 위한 방법을 포함하는데, 이는 대상이 히알루로난 관련 질환을 갖는지, 대상이 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소에 의한 치료에 반응할 것 같은지, 및/또는 대상으로부터의 시료, 예컨대 조직, 세포 또는 체액이 상승된 히알루로난 발현을 포함하는지에 대한 임의의 지표들을 포함한다. 마커의 검출을 위한 예시적인 검정들은 하기와 같이 기술되며, 대상으로부터의 시료 내의 HA 수준 및/또는 상대적 HA 수준을 측정하기 위한 검정, 대상으로부터의 시료에 있어서 히알루로난-분해 효소의 효과를 분석하기 위한 검정, 및 특정한 히알루로난-관련 질환/상태와 관련된 일반적인 판독(readouts), 예컨대 낮은 히알루로니다아제 발현 또는 활성, 높은 간질액 압력, 혈관 부피 및 물 함량을 측정하기 위한 검정을 포함한다. 일반적으로, 대상의 시료에서 단백질 또는 핵산을 검출하거나 시험관 내에서 세포/조직에서의 치료 효과를 평가하기 위한 임의의 공지된 검정이 사용될 수 있다.

[0548] 본원에서 제공되는 방법들에 있어서 치료를 위해 선택된 대상은, 질환 또는 상태를 갖고 있지 않은 대상 또는 HA 발현이 상승되거나 비정상적이거나 측정되지 않은 정상 조직 또는 시료와 비교하여, 상승되거나 비정상적이거나 측정된 히알루로난 수준을 갖는 대상을 포함한다. 대상으로부터 임의의 시료 또는 조직은 시험될 수 있거나 정상 시료 또는 조직과 비교될 수 있다. 히알루로난 수준은 조직(예컨대 생검(biopsy))유래, 종양, 세포 또는 혈액, 혈청, 뇨 또는 다른 체액 유래의 임의의 공급원으로부터 측정될 수 있다. 예를 들어, 본원의 다른 부분에 기술된 바와 같이, 고형 종양에서의 HA 축적 프로파일(profiles of HA deposition)은 일반적으로 세포주위 또는 기질로 분류된다. 증가된 혈장 수준의 HA는 빌름즈 종양(Wilm's tumor), 중피종 및 간 전이가 있는 환자에서 가장 현저하게 관찰되었다. 따라서, 질환 또는 상태에 의존하여, 다른 시료는 히알루로난 수준에 대해 측정될 수 있다. 시료의 선택은 당업자의 수준 내의 일이다.

[0549] 히알루로니다아제 기질 수준을 측정하기 위해 사용되는 검정은 질환 또는 상태와 상관관계이고 특정한 질환 또는 상태에 기초하여 선택될 수 있다. 당업자는 히알루로난을 검출하기 위한 방법들에 익숙한데, 여기에는 면역

조직화학적 방법, 또는 ELISA 방법이 있으나 이에 제한되지 않는다.

- [0550] 일 예에서, 예를 들어, 대상이 히알루로난-분해 효소로 치료될 수 있을 히알루로난-관련 상태 또는 질환을 갖는지 여부를 결정하기 위해, 마커를 검출하기 위한 단계가 대상 치료 전에 수행된다. 이 예에서, 마커가 검출되면 (예를 들어 환자유래의 세포, 조직 또는 체액이 상승된 히알루로난 발현을 함유하고 있는지 또는 히알루로난 분해 효소에 반응하는지 여부가 결정되면), 치료 단계가 수행될 수 있는데, 여기서 히알루로난 분해 효소가 대상에 투여된다. 일 예에서, 마커가 검출되지 않으면(예를 들어 환자유래의 세포, 조직 또는 체액이 정상 또는 비-상승된 히알루로난 발현을 함유하고 있는지 또는 히알루로난 분해 효소에 반응하지 않는지 여부가 결정된다면), 다른 치료 옵션이 선택될 수 있다.
- [0551] 다른 예에서, 마커를 검출하기 위한 단계는, 예를 들어, 항-히알루로난 제제를 이용한 치료가 질환 또는 상태의 치료에 대한 효과를 가지는지 여부를 결정하기 위해, 대상을 치료한 후에, 또는 대상의 치료 과정 중에 수행된다(예를 들어 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소(예를 들어 가용성 변형된 히알루로니다아제)를 처리(병용-투여되는 약물과 함께 또는 병용-투여되는 약물 없이)). 이러한 예에서, 마커가 검출되지 않거나 치료 전 양/수준과 비교하여, 또는 다른 시료와 비교하여 감소된 양 또는 상대적 수준으로 검출될 때, 치료를 계속하고, 다른 차례(주기)의 치료가 수행되고, 또는 다른 치료, 예컨대 병용 치료가 개시된다. 이러한 다른 예에서, 마커가 치료 전 또는 다른 시료와 동일한 수준으로 검출된다면, 다른 치료 옵션을 선택할 수 있다.
- [0552] 히알루로난-관련 질환 및 상태의 마커를 검출하기 위한 검정은 대상체의 조직, 세포 및/또는 체액, 예를 들어 종양 내의 히알루로난 및/또는 히알루로니다아제 발현의 양 (예를 들어, 상대적 양)을 측정하기 위한 검정을 포함한다. 이러한 검정 중에서 특히, HA 발현, 히알루로난 생성 효소 1 (Hyaluronan synthase 1, HAS1) 발현, 히알루로난 생성 효소 2 (HAS2) 발현, 히알루로난 생성 효소 3 (HAS3) 발현, HALO (히알루로난을 포함하는 프로테오글리칸이 풍부한 세포주위 매트릭스 영역)의 존재, 및 히알루로난-분해 효소, 예를 들어, 대상 유래 시료 내 예컨대 히알루로니다아제의 존재를 검출할 수 있는 검정이 포함된다.
- [0553] 단백질 및 핵산 수준을 검출하기 위한 검정은 당업계에 익히 공지되어 있고, 본원의 방법에서 히알루로난, 히알루로난 생성 효소 또는 다른 단백질 및/또는 핵산 발현을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 검정에는 ELISA, SDS-PAGE, 웨스턴 블롯, PCR, RT-PCR, 면역조직화학, 조직학 및 유동세포계측법이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 대상 유래의 시료, 예컨대 조직 시료(예를 들어, 환자 또는 동물 모델로부터의 종양의 생검, 기질 시료), 유체(예를 들어, 혈액, 뇨, 혈장, 타액 또는 다른 시료), 세포 또는 세포의 시료, 또는 추출물, 또는 기타 시료는 예를 들면 조직학적 염색, 예컨대 조직 또는 시료 내의 히알루로난의 존재 및 양을 결정하기 위한 고정된 또는 동결된 조직 절편의 면역조직화학적 염색 또는 면역 형광세포 염색, 풀-다운(pull-down) 검정 및 유동세포계측법을 이용하여 항-HA 항체 또는 HA 결합 단백질로 염색될 수 있다. 다른 예에서, 시료, 예를 들어 생검은 HA mRNA의 양을 평가하기 위해 RT-PCR에 의해 분석될 수 있다.
- [0554] 암 내의 히알루로난-발현을 검출하기 위한 공지된 방법에는 방광암을 갖는 대상의 뇨 또는 방광 조직 추출물 내의 HA 수준을 측정하기 위한, Lokeshwar 외., *Cancer Res.* 57:773-777 (1997)에 기술된 ELISA-유사 검정이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 검정을 위해, 뇨 또는 추출물을 마이크로웰 플레이트 (표준으로서 사용된 제대 HA 또한 코팅됨) 상에 코팅한 후, 본원에 기술된 바와 같은 표지된 (예를 들어, 비오틴화된) HA 결합 단백질과 함께 배양하고 (예를 들어, 16시간, 실온), 세척하고, 웰에 결합된 HA-결합 단백질을 아비딘-바이오틴 검출제 기질을 사용하여 정량한다. 이러한 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다. 일 예에서, HA-관련 방광암을 갖는 대상 유래의 뇨는 정상적인 환자 (건강한 대상 또는 다른 위-비뇨기 질환 또는 상태를 갖는 대상)유래의 뇨/추출물과 비교하여 2 내지 9배 상승된 HA 수준을 함유하였으며; 그러므로, 마커는 뇨 내의 HA 수준이 정상적인 대상과 비교하여 상승된 경우, 예를 들어 정상적인 대상과 비교하여 약 2배 내지 약 9배 사이, 예를 들어 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9배 상승된 경우 검출될 것이다.
- [0555] 추가 예에서, 종양 세포 내의 시험관 내 히알루로난 발현 및 생성은 상기 기술된 임의의 방법 중 하나를 사용하여 평가될 수 있다. 유사하게, 세포에 의한 시험관 내, 생체 외 또는 생체 내 히알루로난 생성 효소 생성(예를 들어, HAS1, HAS2 또는 HAS3) 및/또는 발현은 또한 예를 들어, ELISA, SDS-PAGE, 웨스턴 블롯, PCR, RT-PCR, 면역조직화학, 조직학 또는 유동세포 계측법에 의해 검정될 수 있다.
- [0556] 다른 예에서, 대상 유래의 시료, 예컨대 혈액 또는 혈장 내의 히알루로니다아제 활성의 양은 예를 들어, 탁도 검정에 의해 결정된다.
- [0557] 다른 예에서, 환자 유래의 세포 또는 다른 조직, 예컨대 종양 세포가 분리되고, 치료에 대해 반응하여 상기 세

포 또는 조직이 시험관 내에서 히알루로난 분해 효소의 처리에 반응성인지 여부를 결정하기 위한, 예를 들면, 세포 또는 조직, 예컨대 종양 세포의 성장, 증식 및/또는 생존을 측정하기 위한 클론원성 검정 또는 임의의 다른 검정을 사용하는 연구에 사용된다. 예를 들어, 대상 유래의 암 세포는 표면, 예컨대 세포의 매트릭스 또는 단백질 혼합물, 예컨대 상표명 마트리겔®(Matrigel®)(비디 바이오사이언시스(BD Biosciences))로 시판되는 혼합물 상에 접종될 수 있다. 이 예에서, 히알루로난-관련 마커는 히알루로난 분해 효소의 투여에 대한 상기 세포 또는 조직의 민감성이다. 이 예에서, 세포의 임의의 성질, 예컨대 증식, 성장 또는 생존이 히알루로난 분해 효소의 첨가에 의해 억제되거나 차단되는 경우, 대상은 히알루로난 분해 효소 함유 조성물에 의한 치료에 잘 반응하는 것으로 판단된다.

[0558] 히알루로난 발현 수준을 결정하기 위한 검정뿐 아니라, 치료 대상을 선택하기 위해서, 및/또는 치료 효능 및/또는 지속 기간을 평가하기 위해서 다른 검정이 사용될 수 있다. 간질액 압력 (IFP)은 적절한 프로브 또는 기구를 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 변환기-장착된 카테터는 암 조직 또는 관심있는 다른 조직 내의 IFP를 측정하기 위해 사용될 수 있다. 카테터를 수술용 바늘의 내부 구멍을 통해 통과시킨 다음, 종양의 중심에 삽입한다. 카테터를 제자리에서 유지시키면서 바늘을 회수한다. 그 후, IFP (mmHg)는 적절한 데이터 획득 단위 (Ozerdem 외. (2005) *Microvasc. Res.* 70:116-120)를 사용하여 측정될 수 있다. IFP를 측정하기 위한 다른 방법에는 바늘-중심식(wick-in-needle) 방법 (Fadnes 외. (1977) *Microvasc. Res.* 14:27-36)이 포함된다.

[0559] 혈관 부피는 예를 들어, 초음파 영상화에 의해 측정될 수 있다. 이 방법은 검출되는 강한 초음파 반사율을 제공하는 과다-에코 마이크로버블(hyper-echoic microbubbles)을 적용한다. 마이크로버블은, 예컨대 정맥내로 대상 또는 동물 모델에 주사되는 경우 그의 크기로 인해 혈관 공간을 통해 이동한다. 조직 물 함량, 예컨대 종양 조직 물 함량을 평가하기 위한 검정은 또한 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 종양 유래의 시료를 수확하고, 블러팅하고, 중량측정하고, 동결건조 전에 순간 동결할 수 있다. 그 후, 물 중량을 건조 (즉, 동결건조된) 중량에 대한 조직 습윤 중량의 비로서 보고한다.

[0560] 세포주위 매트릭스 (HALO)를 형성하는 종양 세포의 능력은 입자 배제 검정 을 사용하여 시험관 내에서 평가될 수 있다. 작은 입자(포르말린-고정된 적혈구)를 예를 들어, 큰 응집 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸인 어그리칸(aggrecan)의 존재하에 종양 세포의 저밀도 배양물에 첨가할 수 있다. 입자가 침강한 후, 임의의 할로가 종양 세포에 의해 형성되었는가를 결정하기 위하여 배양물을 400x 확대로 관찰할 수 있다. 이는 입자가 배제된 세포 주변의 구역으로서 시각화될 수 있다.

[0561] 임의의 검출 방법에 대하여, 마커의 검출이 전형적으로 대조 시료와 비교하여 판독 결과가 증가되거나 감소된 것을 결정하는 것을 포함하도록, 마커(예를 들어, HA 발현, 히알루로난 분해 효소에 대한 반응성, HA-생성 효소 발현 또는 히알루로니다아제 활성)는 전형적으로 대조 시료와 비교된다.

[0562] 예를 들어, 대조 시료는 기타 조직, 세포 또는 체액, 예를 들어 정상 조직, 세포 또는 체액이 될 수 있고, 예를 들어, 시험될 시료와 유사하나 상이한 대상, 예컨대 정상적인 대상(즉, 질환 또는 상태를 갖지 않은 대상, 또는 시험될 대상이 갖는 유형의 질환 또는 상태를 갖지 않은 대상)으로부터 분리된 조직, 세포 또는 체액이 될 수 있고, 예를 들어 히알루로난-관련 질환 또는 상태를 갖지 않는 대상, 또는 유사한 질환 또는 상태를 갖고 있거나 그 질환이 중증은 아니고/아니거나 히알루로난과 관련되어 있지 않거나 상대적으로 적은 히알루로난을 발현하여 적은 등급의 히알루로난-관련도인 다른 대상으로부터의 유사 조직일 수 있다. 예를 들어, 시험될 세포, 조직 또는 체액이 암을 갖는 대상인 경우, 이는 덜 중증인 암, 예컨대 초기 암, 분화 또는 다른 유형의 암을 갖는 대상으로부터의 조직, 세포 또는 체액과 비교될 수 있다. 다른 예에서, 대조 시료는 공지된 양 또는 상대적 양의 HA를 갖는 체액, 조직, 추출물 (예를 들어, 세포 추출물 또는 핵 추출물), 핵산 또는 펩티드 제형, 세포주, 생검, 표준 또는 다른 시료, 예컨대 상대적으로 낮은 수준의 HA를 발현하는 것으로 공지된 시료, 예를 들어 종양 세포주, 예컨대 낮은 수준의 HA를 발현하는 본원에서 기술된 예시적인 종양 세포주, 예를 들어, HCT 116 세포주, HT29 세포주, NCI H460 세포주, DU145 세포주, Capan-1 세포주, 및 이러한 세포주를 사용하여 생성된 종양 모델로부터의 종양이다.

[0563] HA의 특정 변화, 예를 들어 증가 또는 감소는 사용된 검정에 의존한다는 것이 이해된다. 예를 들어, ELISA에서, 단백질의 특정 과장에서의 흡광도 또는 양의 몇 배 증가 또는 감소 (예를 들어, 표준 곡선을 사용하여 결정됨)는 대조군에 대해 상대적인 것으로 표시될 수 있다. PCR 검정, 예컨대 RT-PCR에서, 당업자에게 공지된 방법을 사용하여, 예컨대 표준을 사용하여 대조군의 발현 수준과 비교될 수 있다 (예를 들어, 몇 배(fold) 변화로서 표시됨).

[0564] 예를 들어, 대상 유래의 시료 내의 히알루로난의 양을 시험하는 경우, 마커의 검출은 대상으로부터의 시료 (예

를 들어, 암성 세포, 조직 또는 유체) 내의 HA의 양이 대조 시료, 예컨대 이전 단락에 기술된 대조 시료와 비교하여 상승되었는가를 결정할 수 있다. 일 예에서, 암은 조직, 세포 또는 체액 내의 HA의 양이 대조 시료와 비교하여 약 0.5 배, 1 배, 2 배, 3 배, 4 배, 5 배, 6 배, 7 배, 8 배, 9 배, 10 배, 11 배, 12 배, 13 배, 14 배, 15 배, 20 배 또는 그 이상으로 상승된 경우 히알루로난-풍부 암인 것으로 결정되고, 대조 시료는 예를 들어, 체액, 조직, 추출물(예를 들어, 세포 추출물 또는 핵 추출물), 핵산 또는 펩티드 제형, 세포주, 생검, 표준 또는 다른 시료일 수 있으나, 이에 제한되지 않고, HA의 공지된 양 또는 상대적 양을 갖는 예컨대 시료, 예를 들어, HA를 상대적으로 낮은 수준으로 발현하는 것으로 공지된, 종양 세포주, 예컨대 HA를 낮은 수준으로 발현하는 본원에서 기술된 예시적인 종양 세포주, 예를 들어, HCT 116 세포주, HT29 세포주, NCI H460 세포주, DU145 세포주, Capan-1 세포주, 및 이러한 세포주를 사용하여 생성된 종양 모델로부터의 종양일 수 있다.

[0565] 또한, 이러한 방법에서, 세포-관련 히알루로난의 수준을 저, 중 또는 고로 점수화할 수 있다. 예를 들어, 종양 면적의 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 또는 그 이상이 지속된 HA 신호를 나타낸 경우, HA 발현은 고 또는 중으로 고려된다. 전형적으로, 적어도 중 내지 고 HA를 갖는 대상의 치료가 본원에서 고려된다.

[0566] 2. 투여량 및 투여

[0567] 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소, 및 종양-표적 타산, 및 선택적으로 뉴클레오시드 유사체와의 추가적인 조합물을 포함하는 본원에서 제공되는 병용 치료는 치료적으로 유용한 효과를 낼 수 있는 충분한 양으로 투여된다. 전형적으로, 활성제는 치료될 대상의 바람직하지 않은 부작용을 유발하지 않는, 또는 상기 제제 중 하나를 갖는 단일 치료에 요구되는 투여량 및 용량과 비교하여 관찰되는 부작용을 최소화하거나 감소시키는 양으로 투여된다. 예를 들어, 본원의 다른곳에서 기술된 바와 같이, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소와 종양-표적 타산과의 병용 치료는 증가된 종양내 전달 및 병용-투여된 뉴클레오시드 유사체, 예를 들어, 젬시타빈의 증가된 종양내 반감기를 유발하는 것으로 본원에서 발견된다. 따라서, 본원에서 제공되는 병용 치료에서 투여될 수 있는 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈)의 양은, 종래의 방법(예를 들어, 젬시타빈 단일치료 또는 다른 제제와 함께 이중 치료)을 이용하여 투여되는 뉴클레오시드 유사체의 양과 비교하여, 실질적으로 동일 또는 개선된 치료적 효능을 달성하는 동시에 감소된다. 투여되는 감소된 투여량 덕분에, 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈) 투여와 관련된 부작용, 예컨대 면역억제 또는 골수억제는 감소, 최소화 또는 회피된다.

[0568] 대상에 투여하기 위해 항-히알루로난 제제, 예를 들어 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 종양-표적 타산, 및 선택적으로 뉴클레오시드 유사체를 포함하는, 활성제의 정확한 양을 결정하는 것은 당업자의 수준 내이다. 예를 들어, 이러한 제제 및 질환 및 상태, 예컨대 암 및 고형 종양을 치료하는 용도는 당업계에 익히 공지되어 있다. 따라서, 조성물 또는 병용 치료에서의 이러한 제제의 투여량은 주어지는 투여 경로 하에서 그 제제에 대한 표준 투여 요법에 기반을 두어 선택될 수 있다.

[0569] 정확한 투여량 및 치료 지속기간은 치료될 조직 또는 종양과 상관관계가 있고 공지된 시험 프로토콜을 사용하여 또는 생체 내 또는 시험관 내 시험 데이터로부터 추론에 의해 경험적으로 결정될 수 있고 및/또는 특정 제제의 공지된 투여 요법으로부터 결정될 수 있다고 이해된다. 농도 및 투여량 값은 또한 치료되는 개인의 연령, 개인의 체중, 투여 경로 및/또는 질환의 범위 또는 중증도 및 숙련된 의사가 고려할 수준 내의 다른 요인에 따라 다양할 수 있다는 점이 언급된다. 일반적으로, 투여 요법은 독성을 제한하기 위해 선택된다. 담당의사는 독성, 또는 골수, 간 또는 신장 또는 다른 조직 기능장애에 따라 어떻게 그리고 언제 치료를 종결, 중단 또는 투여량을 낮추도록 치료를 조정할 지에 대해 알 것이라고 언급되어야 한다. 반대로, 담당의사는 또한 임상적 반응이 적절하지 않다면(독성 부작용을 막으면서) 어떻게 또는 언제 더 높은 수준으로 치료를 조정할 지에 대해 알 것이다. 임의의 특정한 대상에서, 특이적인 투여 요법은 개인적 필요 및 제형의 투여를 투여하거나 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 시간에 걸쳐 조절되어야 하고 여기서 서술된 농도 범위는 단지 예시이며 그 범위를 제한하기 위한 것이 아니라는 것으로 또한 이해될 것이다.

[0570] 예를 들어, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 예컨대 PH20 (예를 들어, PEGPH20)과 같은 히알루로니다아제가 종양-관련 히알루로난을 분해하거나 전달하기에 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 질환 또는 상태, 예를 들어 암 또는 HA-풍부 종양과 같은 고형 종양의 치료를 위해 투여되는 히알루로난 분해 효소 예컨대 가용성 히알루로니다아제의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 또한, 시험관 내 검정 및 동물 모델은 최적의 투여량 범위를 확인하는데 도움이 되도록 이용될 수 있다. 경험적으로 결정될 수 있는, 정확한 투여량은 특정 효소, 투여 경로, 치료될 질환의 종류 및 질환의 중증도에 의존적일 수 있다. 예시적인 투여량 범위는 약 50 유닛 내지 50,000,000 유닛의 폴리머에 콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 또는 폴리머에 콘주게이트된 다

른 히알루로난 분해 효소의 기능적으로 동등한 양이다. 활성의 유닛은 표준 활성, 예를 들어 히알루로니다아제 활성을 검정하는 미세탁도 검정에서 측정되는 활성에 대하여 정규화되는 것으로 본원에서 이해된다.

[0571] 따라서, 예를 들어, 폴리머에 콘주게이트된 히알루로난 분해 효소, 예컨대 PH20과 같은 히알루로니다아제, 예를 들어, PEG는 약 10 내지 50,000,000 유닛, 10 내지 40,000,000 유닛, 10 내지 36,000,000 유닛, 10 내지 12,000,000 유닛, 10 내지 1,200,000 유닛, 10 내지 1,000,000 유닛, 10 내지 500,000 유닛, 100 내지 100,000 유닛, 500 내지 50,000 유닛, 1000 내지 10,000 유닛, 5000 내지 7500 유닛, 5000 유닛 내지 50,000 유닛, 또는 1,000 내지 10,000 유닛으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소는 대 상에 약 0.01 $\mu\text{g/kg}$ 내지 25 mg/kg, 예컨대 0.0005 mg/kg (0.5 $\mu\text{g/kg}$) 내지 25 mg/kg, 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 내지 10 mg/kg, 0.02 mg/kg 내지 1.5 mg/kg, 0.01 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 $\mu\text{g/kg}$, 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 내지 10 $\mu\text{g/kg}$, 0.75 $\mu\text{g/kg}$ 내지 7.5 $\mu\text{g/kg}$ 또는 1.0 $\mu\text{g/kg}$ 내지 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 의 양으로 투여된다. 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소는 예를 들어, 전형적으로 약 70 kg 내지 75 kg의 체중인 평균 성인 대상에게 한번의 투여량으로 적어도 약 0.0005 mg/kg (대상의), 0.0006 mg/kg, 0.0007 mg/kg, 0.0008 mg/kg, 0.0009 mg/kg, 0.001 mg/kg, 0.0016 mg/kg, 0.002 mg/kg, 0.003 mg/kg, 0.004 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.006 mg/kg, 0.007 mg/kg, 0.008 mg/kg, 0.009 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.016 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.30 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.40 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.55 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1.0 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 3.5 mg/kg, 4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 5 mg/kg, 5.5 mg/kg, 6 mg/kg, 6.5 mg/kg, 7 mg/kg, 7.5 mg/kg, 8 mg/kg, 8.5 mg/kg, 9 mg/kg, 9.5 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 20 mg/kg, 21 mg/kg, 22 mg/kg, 23 mg/kg, 24 mg/kg, 25 mg/kg, 또는 그 이상으로 투여될 수 있다.

[0572] 본원에서 제공되는, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 예컨대 PEG화 히알루로니다아제(예컨대 PEGPH20)는 투여되는 대상 질량의 약 1 유닛/kg 내지 800,000 유닛/kg, 예컨대 10 내지 800,000 유닛/kg, 10 내지 750,000 유닛/kg, 10 내지 700,000 유닛/kg, 10 내지 650,000 유닛/kg, 10 내지 600,000 유닛/kg, 10 내지 550,000 유닛/kg, 10 내지 500,000 유닛/kg, 10 내지 450,000 유닛/kg, 10 내지 400,000 유닛/kg, 10 내지 350,000 유닛/kg, 10 내지 320,000 유닛/kg, 10 내지 300,000 유닛/kg, 10 내지 280,000 유닛/kg, 10 내지 260,000 유닛/kg, 10 내지 240,000 유닛/kg, 10 내지 220,000 유닛/kg, 10 내지 200,000 유닛/kg, 10 내지 180,000 유닛/kg, 10 내지 160,000 유닛/kg, 10 내지 140,000 유닛/kg, 10 내지 120,000 유닛/kg, 10 내지 100,000 유닛/kg, 10 내지 80,000 유닛/kg, 10 내지 70,000 유닛/kg, 10 내지 60,000 유닛/kg, 10 내지 50,000 유닛/kg, 10 내지 40,000 유닛/kg, 10 내지 30,000 유닛/kg, 10 내지 20,000 유닛/kg, 10 내지 15,000 유닛/kg, 10 내지 12,800 유닛/kg, 10 내지 10,000 유닛/kg, 10 내지 9,000 유닛/kg, 10 내지 8,000 유닛/kg, 10 내지 7,000 유닛/kg, 10 내지 6,000 유닛/kg, 10 내지 5,000 유닛/kg, 10 내지 4,000 유닛/kg, 10 내지 3,000 유닛/kg, 10 내지 2,000 유닛/kg, 10 내지 1,000 유닛/kg, 10 내지 900 유닛/kg, 10 내지 800 유닛/kg, 10 내지 700 유닛/kg, 10 내지 500 유닛/kg, 10 내지 400 유닛/kg, 10 내지 300 유닛/kg, 10 내지 200 유닛/kg, 10 내지 100 유닛/kg, 16 내지 600,000 유닛/kg, 16 내지 500,000 유닛/kg, 16 내지 400,000 유닛/kg, 16 내지 350,000 유닛/kg, 16 내지 320,000 유닛/kg, 16 내지 160,000 유닛/kg, 16 내지 80,000 유닛/kg, 16 내지 40,000 유닛/kg, 16 내지 20,000 유닛/kg, 16 내지 16,000 유닛/kg, 16 내지 12,800 유닛/kg, 16 내지 10,000 유닛/kg, 16 내지 5,000 유닛/kg, 16 내지 4,000 유닛/kg, 16 내지 3,000 유닛/kg, 16 내지 2,000 유닛/kg, 16 내지 1,000 유닛/kg, 16 내지 900 유닛/kg, 16 내지 800 유닛/kg, 16 내지 700 유닛/kg, 16 내지 500 유닛/kg, 16 내지 400 유닛/kg, 16 내지 300 유닛/kg, 16 내지 200 유닛/kg, 16 내지 100 유닛/kg, 160 내지 12,800 유닛/kg, 160 내지 8,000 유닛/kg, 160 내지 6,000 유닛/kg, 160 내지 4,000 유닛/kg, 160 내지 2,000 유닛/kg, 160 내지 1,000 유닛/kg, 160 내지 500 유닛/kg, 500 내지 5000 유닛/kg, 1000 내지 100,000 유닛/kg 또는 1000 내지 10,000 유닛/kg으로 투여될 수 있다. 일부 예에서, 히알루로난-분해 효소, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 예컨대 PEG화 히알루로니다아제 (예를 들어 PEGPH20)는 약 1 유닛/kg 내지 1000 유닛/kg, 1 유닛/kg 내지 500 유닛/kg 또는 10 유닛/kg 내지 50 유닛/kg로 투여될 수 있다.

[0573] 일반적으로, PEG화 히알루로니다아제의 특정 활성은 대상의 질량당 약 10,000 U/mg 내지 80,000 U/mg, 예컨대 20,000 U/mg 내지 60,000 U/mg 또는 18,000 U/mg 내지 45,000 U/mg, 일반적으로 약 1 유닛/kg (U/kg), 2 U/kg, 3 U/kg, 4 U/kg, 5 U/kg, 6 U/kg, 7 U/kg, 8 U/kg, 8 U/kg 10 U/kg, 16 U/kg, 32 U/kg, 64 U/kg, 100 U/kg, 200 U/kg, 300 U/kg, 400 U/kg, 500 U/kg, 600 U/kg, 700 U/kg, 800 U/kg, 900 U/kg, 1,000 U/kg, 2,000 U/kg, 3,000 U/kg, 4,000 U/kg, 5,000 U/kg, 6,000 U/kg, 7,000 U/kg, 8,000 U/kg, 9,000 U/kg, 10,000 U/kg,

12,800 U/kg, 20,000 U/kg, 32,000 U/kg, 40,000 U/kg, 50,000 U/kg, 60,000 U/kg, 70,000 U/kg, 80,000 U/kg, 90,000 U/kg, 100,000 U/kg, 120,000 U/kg, 140,000 U/kg, 160,000 U/kg, 180,000 U/kg, 200,000 U/kg, 220,000 U/kg, 240,000 U/kg, 260,000 U/kg, 280,000 U/kg, 300,000 U/kg, 320,000 U/kg, 350,000 U/kg, 400,000 U/kg, 450,000 U/kg, 500,000 U/kg, 550,000 U/kg, 600,000 U/kg, 650,000 U/kg, 700,000 U/kg, 750,000 U/kg, 800,000 U/kg 또는 그 이상이 투여된다. 예를 들어, 60,000 U; 70,000 U; 80,000 U; 90,000 U; 100,000 U; 200,000 U; 300,000 U; 400,000 U; 500,000 U; 600,000 U; 700,000 U; 800,000 U; 900,000 U; 1,000,000 U; 1,500,000 U; 2,000,000 U; 2,500,000 U; 3,000,000 U; 3,500,000 U; 4,000,000 U 또는 그 이상이 투여된다.

[0574] 본원의 예에서, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 종양내 전달을 달성하기에 충분한 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 일부 예에서, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 치료가 부존재하는 경우와 비교하여 종양내 탈아미노 효소(deaminase)(예를 들어, 시티딘 탈아미노 효소(deaminase)) 단백질 수준을 예컨대 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상까지 감소 또는 저하시키기 위해 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 특정 예에서, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 치료가 부존재하는 경우와 비교하여 병용-투여된 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 유도체)의 종양내 수준을 증가시키기에 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 예를 들어, 종양내 젬시타빈은 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상까지 증가된다. 질환 또는 상태 예를 들어 암 또는 고형 종양 예컨대 HA-풍부 종양의 치료를 위해 투여되는 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 또한, 시험관 내 검정 및 동물 모델은 최적 투여량 범위를 확인하는데 도움이 되도록 사용될 수 있다. 경험적으로 결정될 수 있는, 정확한 투여량은 특정 타산, 특정 제형(예를 들어 나노입자 또는 리포솜 제형), 투여 경로, 치료될 질환 유형 및 질환의 중증도에 의존적일 수 있다.

[0575] 전형적으로, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 대상의 체표면적(BSA; m²)에 관하여 대상에 약 1 mg/m² 내지 1000 mg/m², 예컨대 약 10 mg/m² 내지 500 mg/m², 50 mg/m² 내지 400 mg/m², 25 mg/m² 내지 300 mg/m², 및 일반적으로 적어도 약 20 mg/m², 30 mg/m², 40 mg/m², 50 mg/m², 60 mg/m², 70 mg/m², 80 mg/m², 90 mg/m², 100 mg/m², 150 mg/m², 200 mg/m², 250 mg/m², 300 mg/m² 가 투여된다. 일부의 경우에, 기존의 제형 또는 투여 요법과 비교하여, 적은 투여량의 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)이 대상에 투여될 수 있다. 예를 들어, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 적어도 약 50 mg/m² 또는 100 mg/m² 그러나 260 mg/m², 200 mg/m² 또는 150 mg/m²보다 적은 양으로 대상에 투여된다. 다른 예에서, 투여당 투여되는 투여량은 기존의 투여량 및 투여 요법과 동일하지만, 투여 스케줄은 투여의 주기당 적은 양의 뉴클레오시드 유사체가 투여되도록 감소된다. 다른 경우, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 기존의 제형 또는 투여 요법에 비해 대상에 높은 투여량으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 종양-표적 타산, 예컨대 알부민-결합 타산(예를 들어, 알부민-결합 파클리탁셀)은 적어도 약 300 mg/m², 예컨대 약 300 mg/m² 내지 1000 mg/m²의 양으로 대상에 투여된다. 대상의 키 및 체중에 기초하여 mg/kg 으로 상응하는 투여량을 전환시키거나 결정하는 것은 당업자의 수준 내이다. 예를 들어, BSA는 식 (키 (cm) x 체중 (kg)/3600)^{1/2}에 의해 결정된다. 평균 어른의 BSA는 1.73 m²이다.

[0576] 본원의 예에서, 병용 치료는 선택적으로 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 유도체 또는 다른 유사체)의 추가적인 투여를 포함한다. 젬시타빈은 종양내 전달을 달성하기에 충분한 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 특정의 예에서, 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 유도체 또는 다른 유사체)는 단독으로 투여되는 경우의 종양내 수준과 비교하여 적어도 1.5-배, 2-배, 3-배, 4-배, 5-배 10-배 또는 그 이상 증가된 종양내 수준을 달성하기 위한 양으로 본원의 병용 치료에서 병용-투여된다. 질환 또는 상태, 예를 들어 암 또는 HA-풍부 종양과 같은 고형 종양의 치료를 위해 투여되는 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈, 이의 유도체 또는 본원에서 기술된 다른 유사체)의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 또한, 시험관 내 검정 및 동물 모델은 최적 투여량 범위를 확인하는데 도움이 되도록 사용될 수 있다. 경험적으로 결정될 수 있는 정확한 투여량은 특정 뉴클레오시드 유사체, 특정 제형, 투여 경로, 치료될 질환의 유형 및 질환의 중증도에 의존적일 수 있다.

[0577] 전형적으로, 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 이의 유도체 또는 다른 유사체)는 대상의 체표면적(BSA; m²)에 관하여 약 100 mg/m² 내지 2500 mg/m², 예컨대 약 500 mg/m² 내지 2000 mg/m², 750 mg/m² 내지

1500 mg/m², 1000 mg/m² 내지 1500 mg/m², 또는 500 mg/m² 내지 1500 mg/m², 및 일반적으로 적어도 약 500 mg/m², 600 mg/m², 700 mg/m², 800 mg/m², 900 mg/m², 1000 mg/m², 1250 mg/m², 1500 mg/m², 1750 mg/m², 2000 mg/m² 또는 그 이상으로 대상에 투여된다. 일부 경우에, 기존의 제형 또는 투여 요법과 비교하여 적은 투여량의 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 이의 유도체 또는 다른 탁산)가 대상에 투여될 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체(예를 들어, 젬시타빈 또는 이의 유도체 또는 다른 탁산)가 적어도 약 200 mg/m² 또는 500 mg/m², 그러나 1000 mg/m² 또는 1250 mg/m²보다 적은 양으로 대상에 투여된다. 다른 경우에, 투여당 투여되는 투여량은 기존의 투여량 및 투여 요법과 동일하지만, 투여 스케줄은 투여의 주기당 적은 양의 뉴클레오시드 유사체가 투여되도록 감소된다. mg/kg로 상응하는 투여량을 결정하는 것은 당업자의 수준 내이다.

[0578] 본원에서 제공되는 제제는 정맥내, 피하, 종양내, 피부내, 경구 또는 다른 투여 경로로 투여될 수 있다. 특정 경로는 투여되는 제제 간에 다르거나 동일할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상, 또는 모든 제제는 피하로 투여될 수 있다. 특정 예에서, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소는 피하로 투여될 수 있는 것으로 본원에서 고려된다. 이러한 예에서, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소는 동시 정맥내 투여 요법만큼 유사한 종양 활성을 유발하기 위하여 혈류내 생체이용가능한 효소를 달성하기 위한 1-8 시간, 예컨대 1-2 시간 흡수를 허용하는 투여 요법으로 투여된다. 본원의 예에서, 종양-표적 탁산 및/또는 뉴클레오시드 유사체는 또한 피하로 투여될 수 있다. 특정 피하 제형 또는 하나 이상의 제제의 공동-제형은 제제의 충분한 생체이용률을 달성하기 위해 그리고 주사 부위 반응을 최소화하기 위해 제공된다.

[0579] 다른 예에서, 하나 이상 또는 모든 제제는 정맥내로 투여될 수 있다. 이러한 예에서, 하나 이상 또는 모든 제제는 푸시에 의해 또는 주입에 의해 투여될 수 있다. 푸시 또는 주입시간은 1 분 내지 60 분일 수 있고, 일반적으로 약 10 분 내지 40 분일 수 있고 60 분을 넘지 않는다. 상기 제제는 동시 주입에 의해 또는 이후의 주입에 의해 투여될 수 있다. 일 예에서, 본원에서 제공되는 병용 치료의 두 개의 제제 또는 세 개의 투여된 모든 제제는 동시에 주입된다. 이러한 예에서, 투여된 제제는 동일한 포장 내에 함께 주입을 하기 위한 동일한 조성물로 제공된다. 다른 경우에, 투여되는 제제는 별개의 조성물로 제공되지만, 주입 바로 전에 하나의 주입액(infusate)으로서 단일 포장으로 조합된다. 추가의 예에서, 투여되는 제제는 동시에 또는 거의 동시에 주입 또는 이어서 주입되고 별개의 주입을 위한 별개의 포장으로 되어 있다.

[0580] 3. 투여 용법: 투여의 빈도 및 주기

[0581] 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소는 종양-표적 탁산 전에, 동시에 또는 거의 동시에, 연속적으로 또는 간헐적으로 함께 투여될 수 있다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제, 예컨대, 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 및 종양-표적 탁산은 함께 또는 별개로 병용-투여될 수 있다. 별개로 투여되는 경우, 제제는 서로간에 즉시, 예컨대 서로 30 초 내지 15 분 내에 투여, 예컨대 15 분, 14 분, 12 분, 10 분, 5 분, 2 분, 1 분 또는 30 초 보다 적은 시간 내로 투여될 수 있다. 다른 경우에, 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 및 종양-표적 탁산은 연속적으로 및/또는 간헐적으로 투여된다. 이러한 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소가 첫번째로 투여될 수 있거나 종양-표적 탁산이 첫번째로 투여될 수 있다. 일반적으로, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소는 종양-표적 탁산 전에 투여된다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제, 또는 히알루로난 분해 효소는 종양-표적 탁산 투여의 적어도 약 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 전에 투여된다.

[0582] 본원의 병용 치료의 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소) 및/또는 종양 표적-탁산 전에, 동시에 또는 거의 동시에, 연속적으로 또는 간헐적으로 그와 함께 투여될 수 있다. 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소) 및/또는 종양-표적 탁산 중 하나 또는 둘과 함께 또는 별개로 병용-투여될 수 있다. 별개로 투여되는 경우, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소, 및/또는 종양-표적 탁산의 투여 바로 전 또는 후에, 예컨대 서로 30 초 내지 15 분 내, 예컨대 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소) 및/또는 종양-표적 탁산으로부터 15 분, 14 분, 12 분, 10 분, 5 분, 2 분, 1 분 또는 30 초 보다 적은 시간 내로 투여될 수 있다. 일반적으로, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소 후에 투여된다. 일부의 경우에, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소, 및 종양-표적 탁산 후에 투여된다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소) 및/또는 종양-표적 탁산의 투여의 적어도 약 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 후에 투여된다.

- [0583] 본원의 일 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소는 다른 제제와 별개로 투여되고 종양-표적 타산 전 또는 후에 즉시 투여된다. 예를 들어, 히알루로난 분해 효소는 종양-표적 타산의 15 분, 14 분, 12 분, 10 분, 5 분, 2 분, 1 분 또는 30 초보다 적은 시간 전 또는 후에 투여된다. 이러한 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소) 및 종양-표적 타산 후에 투여된다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 히알루로난 분해 효소 및 종양-표적 타산 투여의 적어도 약 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 후에 투여된다.
- [0584] 다른 예에서, 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소는 종양-표적 타산 전에 투여되고, 종양-표적 타산은 뉴클레오시드 유사체 전에 투여된다. 예를 들어, 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난 분해 효소)는 종양-표적 타산의 투여의 적어도 약 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 전에 투여된다. 이러한 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 종양-표적 타산의 투여의 적어도 약 5 분, 15 분, 30 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 6 시간, 8 시간, 12 시간, 16 시간, 18 시간, 20 시간, 22 시간, 24 시간, 30 시간, 36 시간, 40 시간 또는 48 시간 후에 투여된다.
- [0585] 투여의 빈도 및 시기, 및 투여량은 원하는 길이의 시간동안 활성제의 연속적 및/또는 장기간의 효과를 유지하기 위해 투여의 주기동안 정기적으로 투여될 수 있다. 조합물 또는 조성물은 매 시간, 매 일, 매 주, 매 달, 매 년 또는 한 번 투여될 수 있다. 투여 주기의 시간의 길이는 경험적으로 결정될 수 있고, 치료될 질환, 질환의 중증도, 특정 환자, 및 치료하는 의사의 수준 내의 다른 고려사항에 의존적이다. 본원에서 제공되는 병용 치료로의 치료의 시간의 길이는 일 주, 이 주, 한 달, 몇 달, 일 년, 몇 년 또는 그 이상일 수 있다. 투여량은 치료 과정 동안 복수의 투여 주기로 분할될 수 있다. 예를 들어, 변형된 히알루로니다아제 효소는 일 년 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 매 주 두 번 투여될 수 있다. 질환의 증상이 치료 중단 후 부재하에서 지속되는 경우, 치료는 추가적인 길이의 시간동안 계속될 수 있다. 치료 과정동안, 질환의 증거 및/또는 치료-관련 독성 또는 부작용이 모니터링될 수 있다.
- [0586] 또한, 투여의 주기는 제제에 대한 노출로부터 휴지기를 제공하기 위해 치료 중단 기간을 추가하도록 맞추어질 수 있다. 치료의 중단을 위한 시간의 길이는 예정된 기간일 수 있거나 환자가 어떻게 반응하는지에 의존하여 또는 관찰된 부작용에 의존하여 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 치료는 일 주, 이 주, 한 달, 또는 몇 달 동안 중단될 수 있다. 일반적으로, 치료 중단 기간은 환자에 대해 투여 요법의 주기로 내재되어 있다.
- [0587] 예를 들어, 예시적인 투여 요법은 28일의 치료 주기 또는 투여 주기이다. 상기 제제, 예컨대 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 종양-표적 타산 및/또는 뉴클레오시드 유사체는 매주 한 번 또는 매주 두 번 투여될 수 있다. 예를 들어, 상기 제제는 첫 3 주 동안은 매주 한 번 또는 매주 두 번씩, 이후 일주일 동안 투여하지 않게 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 환자에 28-일 주기의 과정동안, 1, 4, 8, 11, 15 및 18 일 (또는 0, 3, 6, 9, 12 및 15 일)에 매주 두 번씩 제제가 투여될 수 있고 이 후, 1 주 동안의 치료 중단 기간이 이어진다. 다른 예에서, 환자에 28-일 주기의 과정동안 1, 8 및 16 일에 매주 한 번씩 제제가 투여될 수 있고, 1 주의 치료 중단 기간이 이어진다. 다른 예에서, 상기 제제는 매주 한 번 또는 매주 두 번씩 전체 28일 동안 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 환자에 전체 28일 주기동안 매주 두 번 1, 4, 8, 11, 15, 18, 21 및 24일에(또는 0, 4, 7, 11, 14, 18, 21 또는 25 일에) 상기 제제가 투여될 수 있다. 다른 예에서, 환자에 전체 28일 주기동안 매주 한 번 1, 8, 16 또는 24일에 상기 제제가 투여될 수 있다. 상기 상세한 설명은 예시적인 목적만을 위한 것이고, 상기의 변형이 이용될 수 있다는 것이 이해된다. 또한, 유사한 투여 주기가 모든 투여 제제에 적용될 수 있거나 각각의 투여된 제제는 본원에서 제공되는 병용 치료에서 그의 투여 요법에 적용될 수 있다.
- [0588] 정확한 투여 주기 및 투여 스케줄을 결정하는 것은 당업자의 수준 내이다. 상기 기재한 바와 같이, 투여의 주기는 임의의 원하는 시간의 길이일 수 있다. 그러므로, 28-일 투여 주기는 임의의 시간 길이로 반복될 수 있다. 치료될 환자 및 질환에 특이적인 개인적 고려사항에 의존적으로 환자의 요구를 만족시키는 투여의 주기 및 투여 요법을 채택하는 것은 치료하는 의사의 능력의 수준 내이다.
- [0589] 일반적으로, 뉴클레오시드 유사체, 예를 들어 젬시타빈 또는 유사체의 투여의 시기는 전형적으로 항-히알루로난 제제, 예컨대 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산의 투여 주기와 상관관계가 있다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 투여 주기에서 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난 분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산의 첫번째 투여 후 및/또는 상기 주기에서 임의의 하나 이상의 연속적인 투여 후에 투여될

수 있다. 다른 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 주기에서 항-히알루로난 제제(예컨대 히알루로난-분해 효소) 및/또는 종양-표적 타산의 각각의 연속적인 투여 이후, 주기에서 히알루로난-분해 효소 및/또는 종양-표적 타산의 한 번 걸러 연속적인 모든 다른 투여 이후 투여되거나 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산의 투여 주기동안 1 주에 한 번, 매 2 주에 한 번, 매 3 주에 한 번, 또는 한 달에 한 번 투여된다. 일부 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 오직 항-히알루로난 제제, 예컨대 히알루로난-분해 효소, 및/또는 종양-표적 타산의 투여 주기당 한 번 투여된다. 추가적인 예에서, 뉴클레오시드 유사체는 투여의 주기 사이에 간헐적으로 투여된다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 투여의 첫번째 주기 동안 투여되지 않으나, 두번째 주기동안 투여되고, 이후 세번째 주기는 건너뛰고 네번째 주기동안 다시 투여되는 등, 또는 이의 임의의 변화가 가능하다.

[0590] 본원의 병용 치료의 특정 예에서, 상기 방법은 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산을 동시에 또는 거의 동시에, 예를 들어 부수적으로 투여하는 것을 포함한다. 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산은 예정된 수 주 동안 매주 두 번 또는 매주 한 번의 투여 빈도로 투여될 수 있다. 특정한 경우, 항-히알루로난 제제는 매주 두 번 투여되고 종양-표적 타산은 매주 한 번 투여된다. 선택적으로, 뉴클레오시드 유사체는 또한 병용 치료에서 투여될 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오시드 유사체는 예정된 수 주 동안 매주 한 번 투여되고, 전형적으로 뉴클레오시드 유사체는 항-히알루로난 제제 및 종양-표적 타산의 투여 1 주 후 투여된다. 상기 방법은 또한 항-히알루로난 제제의 투여 전, 동시에, 간헐적으로 또는 그 이후에 코르티코스테로이드의 투여를 포함할 수 있다. 투여의 주기는 임의의 기간동안 일 수 있고, 치료하는 의사 또는 임상사의 수준 내이다. 전형적으로, 예정된 수 주는 3 주 또는 4 주이지만, 더 길 수 있다. 투여의 주기는 질환 상태 및 대상의 반응에 의존적으로 수 회로 반복될 수 있다.

[0591] 4. 추가 병용 치료

[0592] 본원에서 제공되는 병용 치료는 단독으로 또는 다른 치료 또는 처리와 추가적으로 병용하여 사용될 수 있다. 본원에서 제공되는 조합물 또는 조성물은 다른 치료적 또는 약리학적 제제 또는 치료, 예컨대 절차와 함께, 그 전에, 그와 함께 간헐적으로, 또는 그 다음에 공-제형화되거나 병용-투여될 수도 있다. 예를 들어, 이러한 제제는 다른 생물제제, 항암제, 저분자 화합물, 분산제, 마취제, 혈관수축제 및 수술, 그리고 이들의 조합을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 이러한 제제는 또한 부작용을 개선, 감소 또는 예방하기 위한 하나 이상의 제제를 포함할 수 있다. 일부의 경우, 병용 치료는 일차 종양을 제거하거나 치료 전 대상의 면역반응을 억제하는 하나 이상의 암 치료와 병용하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 추가적인 화학 치료 또는 방사선 치료는 본원에서 제공되는 병용 치료에 추가하여 사용될 수 있다. 이러한 추가적 치료는 대상 면역 시스템을 약화시키는 효과를 가질 수 있다. 다른 예에서, 외과적 제거 수술 및/또는 면역-시스템 약화 치료가 필요하지 않을 수 있다. 본원에서 조합될 수 있는 예시적인 다른 방법은 면역 시스템의 약화(예를 들어, 종양 억제 화합물 또는 종양 세포-특이적 화합물을 투여함으로써) 또는 혈관형성-억제 화합물의 투여 없이 종양 또는 신생 세포의 증식률을 감소시키는 화합물을 투여하는 것을 포함한다.

[0593] 제2 제제 또는 제제들의 제제 또는 치료 또는 치료들은 즉각 투여될 수 있거나, 시간 간격을 두고 투여될 수 회의 더 작은 용량으로 분할될 수 있다. 선택된 제제/치료 제제는 치료 시간의 과정 예를 들어 몇 시간, 몇 일, 몇 주, 또는 몇 달을 통해 하나 이상의 용량으로 투여될 수 있다. 일부의 경우, 지속된 투여는 유용하다. 정확한 투여량 및 투여의 과정은 징후 및 환자의 내약성에 의존하는 것으로 이해된다. 일반적으로, 본원의 제2제제/치료를 위한 투여 요법은 당업자에게 공지되어 있다.

[0594] a. 코르티코스테로이드(Corticosteroids)

[0595] 본원에서 제공되는 병용 치료는 단독으로 또는 추가적으로 하나 이상의 코르티코스테로이드와 병용하여 사용될 수 있다. 코르티코스테로이드는 폴리머-콘주게이트된 히알루로난 분해 효소 또는 다른 제제의 투여의 하나 이상의 유해한 효과, 특히, 유해한 근골격 효과를 개선하거나 감소시키는데 치료적으로 유효한 양으로 투여된다. 치료적으로 유효한 양은 하나 이상의 증상 또는 유해한 효과를 개선, 예방, 제거 또는 감소시키는데 충분한 투여량이다. 개선 또는 성공적 전처리의 지표는 CTCAE 등급상의 해당 스코어 또는 CTCAE 등급상의 등급 또는 중증도의 변화를 나타내는 실패의 결정을 포함한다.

[0596] 코르티코스테로이드는 부신 피질에서 생산되는 스테로이드 호르몬의 한 종류이다. 코르티코스테로이드는 스트레스 반응, 면역반응 및 염증 조절, 탄수화물 대사, 단백질 대사, 혈액 전해질 수준, 및 행동과 같은 넓은 범위의 생리적 시스템과 관련이 있다. 코르티코스테로이드는, 다수의 다른 작용을 갖는 항-염증성 제제인 글루코코르티코이드 및 신장에 대한 작용을 통하여 염 및 물의 균형을 주로 조절하는 미네랄코르티코이드를 포함한다.

[0597] 글루코코르티코이드는 글루코코르티코이드 수용체에 결합하는 스테로이드 호르몬, 예를 들어 코르티코스테로이드의 한 종류이다. 글루코코르티코이드는 글루코코르티코이드 수용체에 결합함으로써 그들의 효과를 야기한다. 활성 중에서 특히, 활성화된 글루코코르티코이드 복합체는 교대로 핵내에서 항-염증 단백질의 발현을 상향-조절하고, 세포기질(cytosol)로부터 핵 내로 다른 전자 인자들의 위치 이동(translocation)을 막음으로써, 세포 기질내 전-염증 단백질의 발현을 억제한다.

[0598] 일반적으로, 임의의 코르티코스테로이드, 예를 들어 글루코코르티코이드를 본원에서 제공된 방법 또는 조합물에 사용될 수 있다. 글루코코르티코이드는 합성 및 비-합성 글루코코르티코이드를 포함한다. 예시적인 글루코코르티코이드는 다음을 포함하나, 이에 제한되지 않는다: 알클로메타손(alclometasones), 알게스톤(algestones), 베클로메타손(beclomethasones)(예컨대 베클로메타손 디프로피오네이트(beclomethasone dipropionate)), 베타메타손(betamethasones)(예컨대 베타메타손 17-발레레이트(betamethasone 17-valerate), 베타메타손 소듐 아세테이트(betamethasone sodium acetate), 베타메타손 소듐 포스페이트(betamethasone sodium phosphate), 베타메타손 발레레이트(betamethasone valerate)), 부테소나이드(budesonides), 클로베타솔(clobetasols)(예컨대 클로베타솔 프로피오네이트(clobetasol propionate)), 클로베타손(clobetasones), 클로코르톨론(clocortolones)(예컨대 클로코르톨론 피발레이트(clocortolone pivalate)), 클로프레드놀(cloprednols), 코르티코스테론(corticosterones), 코르티손(cortisones) 및 하이드로코르티손(hydrocortisones)(예컨대 하이드로코르티손 아세테이트(hydrocortisone acetate)), 코티바졸(cortivazols), 데플라자코트(deflazacorts), 데소나이드(desonides), 데속시메타손(desoximetasones), 텍사메타손(예컨대 텍사메타손 21-포스페이트(dexamethasone 21-phosphate), 텍사메타손 아세테이트(dexamethasone acetate), 텍사메타손 소듐 포스페이트(dexamethasone sodium phosphate)), 디플로라손(diflorasones)(예컨대 디플로라손 디아세테이트(diflorasone diacetate)), 디플루코르톨론(diflucortolones), 디플루프레드네이트(difluprednates), 에녹솔론(enoxolones), 플루아자코르트(fluzacorts), 플루클로로나이드(flucoronides), 플루드로코르티손(fludrocortisones)(예컨대 플루드로코르티손 아세테이트(fludrocortisone acetate)), 플루메타손(flumethasones)(예컨대 플루메타손 피발레이트(flumethasone pivalate)), 플루니솔라이드(flunisolides), 플루시놀론(flucinolones)(예컨대 플루시놀론 아세토나이드(flucinolone acetonide)), 플루오시노나이드(flucinonides), 플루오코르틴(flucortins), 플루오코르톨론(flucortolones), 플루오로메톨론(flucrometholones)(예컨대 플루오로메톨론 아세테이트(flucrometholone acetate)), 플루페롤론(fluperolones)(예컨대 플루페롤론 아세테이트(fluperolone acetate)), 플루프레드니텐(fluprednidenes), 플루프레드니솔론(fluprednisolones), 플루란드레놀라이드(flurandrenolides), 플루티카손(fluticasones)(예컨대 플루티카손 프로피오네이트(fluticasone propionate)), 포르모코르탈(formocortals), 할시노나이드(halcinonides), 할로베타솔(halobetasols), 할로메타손(halometasones), 할로프레돈(halopredones), 하이드로코르타메이트(hydrocortamates), 하이드로코르티손(hydrocortisones)(예컨대 하이드로코르티손 21-부티레이트(hydrocortisone 21-butyrate)), 하이드로코르티손 아세포네이트(hydrocortisone aceponate), 하이드로코르티손 아세테이트(hydrocortisone acetate), 하이드로코르티손 부테프레이트(hydrocortisone buteprate), 하이드로코르티손 부티레이트(hydrocortisone butyrate), 하이드로코르티손 싸이피오네이트(hydrocortisone cypionate), 하이드로코르티손 헤미석시네이트(hydrocortisone hemisuccinate), 하이드로코르티손 프로부테이트(hydrocortisone probutate), 하이드로코르티손 소듐 포스페이트(hydrocortisone sodium phosphate), 하이드로코르티손 소듐 석시네이트(hydrocortisone sodium succinate), 하이드로코르티손 발레레이트(hydrocortisone valerate)), 로테프레드놀 에타보네이트(loteprednol etabonate), 마지프레돈(mazipredones), 메드라이손(medrysones), 메프레드니손(meprednisones), 메틸프레드니솔론(methylprednisolones)(메틸프레드니솔론 아세포네이트(methylprednisolone aceponate), 메틸프레드니솔론 아세테이트(methylprednisolone acetate), 메틸프레드니솔론 헤미석시네이트(ethylprednisolone hemisuccinate), 메틸프레드니솔론 소듐 석시네이트(methylprednisolone sodium succinate)), 모메타손(mometasones)(예컨대 모메타손 퓨로에이트(mometasone furoate)), 파라메타손(paramethasones)(예컨대 파라메타손 아세테이트(paramethasone acetate)), 프레드니카베이트(prednicarbates), 프레드니솔론(prednisolones)(예컨대 프레드니솔론 25-디에틸아미노아세테이트(prednisolone 25-diethylaminoacetate), 프레드니솔론 소듐 포스페이트(prednisolone sodium phosphate), 프레드니솔론 21-헤미석시네이트(prednisolone 21-hemisuccinate), 프레드니솔론 아세테이트(prednisolone acetate); 프레드니솔론 파네실레이트(prednisolone farnesylate), 프레드니솔론 헤미석시네이트(prednisolone hemisuccinate), 프레드니솔론-21(prednisolone-21)(베타-D-글루쿠로나이드(beta-D-glucuronide)), 프레드니솔론 메타설포벤조에이트(prednisolone metasulphobenzoate), 프레드니솔론 스테아글레이트(prednisolone steaglate), 프레드니솔론 테부테이트(prednisolone tebutate), 프레드니솔론 테트라하이드

드로프탈레이트(prednisolone tetrahydrophthalate)), 프레드니손(prednisones), 프레드니발(prednivals), 프레드닐리덴(prednylidenes), 리멕솔론(rimexolones), 티소코르톨(tixocortols), 트리암시놀론(triamcinolones)(예컨대 트리암시놀론 아세토나이드(triamcinolone acetonide), 트리암시놀론 베네토나이드(triamcinolone benetonide), 트리암시놀론 헥사세토나이드(triamcinolone hexacetonide), 트리암시놀론 아세토나이드 21-팔미테이트(triamcinolone acetonide 21-palmitate), 트리암시놀론 디아세테이트(triamcinolone diacetate)). 이 글루코코르티코이드 및 그의 염은 자세하게, 예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16th ed. 1980)에서 논의된다.

[0599] 일부 예에서, 글루코코르티코이드는 코르티손, 텍사메타손, 하이드로코르티손, 메틸프레드니솔론, 프레드니솔론 및 프레드니손 중에서 선택된다. 특정 예에서, 글루코코르티코이드는 텍사메타손이다.

[0600] 코르티코스테로이드는 치료적으로 유효한 투여량으로 제공된다. 치료적으로 유효한 농도는 공지의 시험관 내 또는 생체 내(예컨대 동물 모델) 시스템에서 시험됨으로써 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 유해한 효과를 개선하기 위해 투여되도록 선택된 코르티코스테로이드의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 동물 모델은 최적의 투여량 범위를 확인하는 것을 돕기 위해 사용될 수 있다. 경험적으로 결정될 수 있는 정확한 투여량은 특정한 치료적 제제, 투여 요법 및 투여 스케줄, 투여 경로 및 질환의 심각성에 의존할 수 있다.

[0601] 조성물에 있어서 선택된 치료제의 농도는 흡수, 불활성화 및 배설 비율, 생리화학적 특징, 투여 스케줄, 및 투여되는 양 뿐만 아니라 기타 당업자에게 공지된 다른 요소들에 의존한다. 예를 들어, 정확한 투여량 및 치료 지속은 질환 또는 상태, 치료될 조직, 환자 또는 대상 및 투여량 및 투여 요법을 포함한, 항-히알루로난 제제와 상관관계인 것으로 이해된다. 코르티코스테로이드의 용량은 환자의 나이와 건강, 투여하는 폴리머-콘주게이트된 히알루로난-분해 효소(예를 들어, 투여하는 PEG화 히알루로난 분해 효소), 코르티코스테로이드의 효능 및 투여 경로에 의존적으로 다양할 수 있다. 예를 들어, 농도와 투여량 값은 히알루로난 분해 효소의 치료적 용량 및 투여 요법과 더불어 다양할 것으로 언급된다. 추가적으로, 원하는 결과를 얻기 위해 코르티코스테로이드는 매일, 매주, 또는 매월 또는 그 이상의 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 특정한 투여량 부피는 다양할 수 있고 투여 요법, 투여 빈도 및 원하는 투여 속도에 의존된다. 농도와 투여량 값은 또한 치료되는 개인의 연령에 따라 다양할 것으로 언급된다.

[0602] 정확한 투여량 및 치료 지속은 공지의 시험 프로토콜을 이용하여 또는 생체 내 또는 시험관 내 시험 데이터의 외삽에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 임의의 특정한 대상에서, 특이적인 투여 요법은 개인적 필요 및 제형의 투여를 투여하거나 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 시간에 걸쳐 조절되어야 하고, 본원에서 기재된 서술된 농도 범위는 단지 예시이며 그 범위를 제한하기 위한 것이 아니라는 것으로 또한 이해될 것이다. 일반적으로, 투여 요법은 독성을 제한하기 위해 선택되며, 본원에서는 유해한 부작용을 개선하기 위해 선택된다. 담당의사는 독성, 또는 골수, 간 또는 신장 또는 다른 조직 기능장애로 인해 어떻게 그리고 언제 치료를 종결, 중단 또는 투여량을 낮추도록 치료를 조정할 지에 대해 알 것이라고 언급되어야 할 것이다. 반대로, 담당의사는 또한 임상적 반응이 적절하지 않는다면(독성 부작용을 막으면서) 어떻게 또는 언제 더 높은 수준으로 치료를 조정할 지에 대해 알 것이다. 치료제의 투여는 미국 식품 의약품국(Food and Drug Administration)에 의해 확립되거나 미국의사약전(Physicians' Desk Reference)에 출판된 최대 투여량 수준을 초과하지 않아야 할 것이다.

[0603] 일반적으로, 투여되는 코르티코스테로이드의 용량은 특정한 코르티코스테로이드에 의존적인데, 이는 효능에 있어서의 차이가 다른 코르티코스테로이드 사이에서 존재하기 때문이다(하기 표 4 참조). 코르티코스테로이드, 또는 글루코코르티코이드, 예를 들어 텍사메타손은, 경구(정제, 액체 또는 액체 농축액) PO, 정맥내(IV) 또는 근육내로 투여될 수 있다. 코르티코스테로이드는 전형적으로 볼루스(bolus)로 투여되나, 항-히알루로난 제제, 예컨대 PEG화 히알루로니다아제의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용을 개선하기에 유효한 양인 한, 많은 것이 일정 기간에 걸쳐 투여된다.

표 4. 글루코코르티코이드 투여	
글루코코르티코이드 (경로)	동등한 효과(mg)
하이드로코르티손 (IV 또는 PO)	20
프레드니솔론	5
프레드니솔론 (IV 또는 PO)	5
메틸프레드니솔론 소듐 석시네이트 (IV)	4
텍사메타손 (IV 또는 PO)	0.5-0.75

[0604]

- [0605] 코르티코스테로이드는 히알루로난 분해 효소의 투여와 관련된 하나 또는 그 이상의 부작용을 개선하기에 유효한 임의의 양으로 투여될 수 있다. 그러므로, 코르티코스테로이드, 예컨대 글루코코르티코이드는, 예를 들어 70 kg의 성인 인간 대상에 있어서, 1회 투여량 당, 약 0.1 및 100 mg 사이의 양으로, 0.1 내지 80 mg, 0.1 내지 60 mg, 0.1 내지 40 mg, 0.1 내지 30 mg, 0.1 내지 20 mg, 0.1 내지 15 mg, 0.1 내지 10 mg, 0.1 내지 5 mg, 0.2 내지 40 mg, 0.2 내지 30 mg, 0.2 내지 20 mg, 0.2 내지 15 mg, 0.2 내지 10 mg, 0.2 내지 5 mg, 0.4 내지 40 mg, 0.4 내지 30 mg, 0.4 내지 20 mg, 0.4 내지 15 mg, 0.4 내지 10 mg, 0.4 내지 5 mg, 0.4 내지 4 mg, 1 내지 20 mg, 1 내지 15 mg 또는 1 내지 10 mg의 양으로 투여될 수 있다. 전형적으로, 글루코코르티코이드와 같은 코르티코스테로이드는 평균 성인 인간 대상에게 1회 투여량 당 약 0.4 및 20 mg, 예를 들어, 약 0.4 mg, 0.5 mg, 0.6 mg, 0.7 mg, 0.75 mg, 0.8 mg, 0.9 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg 또는 20 mg의 양으로 투여된다.
- [0606] 코르티코스테로이드는, 예를 들어, 전형적으로 70kg 내지 75kg의 체중인 평균 성인 인간 대상에게, 약 0.001 mg/kg (대상의), 0.002 mg/kg, 0.003 mg/kg, 0.004 mg/kg, 0.005 mg/kg, 0.006 mg/kg, 0.007 mg/kg, 0.008 mg/kg, 0.009 mg/kg, 0.01 mg/kg, 0.015 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.025 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.035 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.045 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.055 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.065 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.075 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.085 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.095 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.30 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.40 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.50 mg/kg, 0.55 mg/kg, 0.60 mg/kg, 0.65 mg/kg, 0.70 mg/kg, 0.75 mg/kg, 0.80 mg/kg, 0.85 mg/kg, 0.90 mg/kg, 0.95 mg/kg, 1 mg/kg, 1.05 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.15 mg/kg, 1.20 mg/kg, 1.25 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.35 mg/kg 또는 1.4 mg/kg으로 투여될 수 있다.
- [0607] 코르티코스테로이드 투여가 히알루로난-분해 효소의 투여와 관련된 하나 이상의 유해한 부작용을 개선하는 한 투여되는 투여량 투여는 다양할 수 있다. 일 예에서, 글루코코르티코이드, 예를 들어, 텍사메타손의 투여량은 치료 주기당 연속적으로 더 낮은 투여량으로 투여된다. 그러므로, 이러한 치료 요법에서, 코르티코스테로이드 투여량은 점점 줄어든다. 예를 들어, 텍사메타손은 히알루로난-분해 효소의 투여 전에, 최초 투여량 4 mg으로 투여되고, 그리고 각 히알루로난-분해 효소의 연속적인 투여에서 텍사메타손 투여량이 더 낮아지도록, 이의 투여량은 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제의 다음 투여에 대하여 3 mg, 그 다음 항-히알루로난 제제, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제의 투여 당 2 mg, 그 다음 항-히알루로난 제제, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제의 투여 당 1 mg가 되도록 한다. 임의의 용량은 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제의 투여와 관련된 하나 이상의 부작용을 감소시키는 데 유효한 코르티코스테로이드의 용량인 한 고려된다.
- [0608] 투여의 시기는 코르티코스테로이드의 투여가 히알루로난-분해 효소 예를 들어, PEG화 히알루로니다아제 투여와 관련된 하나 이상의 유해한 부작용을 개선하는 한 다양할 수 있다. 코르티코스테로이드는 연속적으로, 간헐적으로, 동시에 또는 히알루로난-분해 효소, 예컨대 PEG화 히알루로난 분해 효소와 동일한 조성물로 투여될 수 있다. 예를 들어, 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소 예를 들어, PEG화 히알루로니다아제의 투여 전, 투여 중, 투여와 동시에 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 또 다른 예에서, 코르티코스테로이드 및 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로니다아제는 간헐적으로 투여된다. 일반적으로, 코르티코스테로이드는 PEG화 히알루로니다아제와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 코르티코스테로이드, 예컨대 텍사메타손과 같은 글루코코르티코이드는 항-히알루로난 제제, 예를 들어, PEG화 히알루로난 분해 효소의 투여 약 0.5 분, 1 분, 2 분, 3 분, 4 분, 5 분, 6 분, 7 분, 8 분, 9 분, 10 분, 15 분, 20 분, 25 분, 30 분, 45 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 9 시간, 10 시간, 11 시간, 12 시간, 18 시간, 24 시간, 36 시간 또는 그 이상 전에 투여될 수 있다.
- [0609] 일부 예에서, 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로난 분해 효소의 투여와 동시에 투여된다. 이 예에서, 코르티코스테로이드는 PEG화 히알루로니다아제와 같은 히알루로난-분해 효소와 함께, 또는 별개로 투여될 수 있다. 전형적으로, 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로난 분해 효소와 별도로 투여된다. 다른 예에서, 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소, 예를 들어 PEG화 히알루로난 분해 효소의 투여 약 0.5 분, 1 분, 2 분, 3 분, 4 분, 5 분, 6 분, 7 분, 8 분, 9 분, 10 분, 15 분, 20 분, 25 분, 30 분, 45 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 7 시간, 8 시간, 9 시간, 10 시간, 11 시간, 12 시간, 18 시간, 24 시간, 36 시간 또는 그 이상 후에 투여된다.
- [0610] 일 예에서, 코르티코스테로이드는 히알루로난-분해 효소 예를 들어, PEG화 히알루로니다아제의 투여 전에 투여된다. 예를 들어, 글루코코르티코이드와 같은 코르티코스테로이드, 예를 들어 텍사메타손은 PEG화 히알루로니다아제와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 1시간 전에 투여된다. 다른 예에서, 코르티코스테로이드는 PEG화 히

알루로난 분해 효소와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 5분 전에 투여된다. 또 다른 예에서, 코르티코스테로이드는 PEG화 히알루로니다아제와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 전 및 후에 모두 투여된다. 이 예에서, 코르티코스테로이드, 예컨대 텍사메타손은 PEG화 히알루로난 분해 효소와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 직전 1 분 내지 5 분 전에 투여되고, PEG화 히알루로난 분해효소와 같은 항-히알루로난 제제 투여 8 시간 후에 투여된다. 또 다른 예에서, 코르티코스테로이드 예컨대 텍사메타손은 PEG화 히알루로난 분해 효소와 같은 히알루로난-분해 효소의 투여 1시간 전에 투여되고 PEG화 히알루로난 분해 효소와 같은 항-히알루로난 제제의 투여 8 내지 12시간 후에 투여된다.

[0611] 임의의 투여 요법은 코르티코스테로이드의 투여 시간이 히알루로난 분해 효소 예를 들어, PEG화 히알루로니다아제의 투여와 관련된 하나 이상의 유해한 부작용을 개선하는 한 고려된다. 또한, 코르티코스테로이드의 투여량 또는 투여 요법은 암 또는 고형암을 치료하는 것을 포함하는, 본원에서 제공되는 조성물 및 조합물에서, 히알루로난-분해 효소 또는 다른 제제의 치료적 효과를 방해 또는 감소시키지 않는 것이다.

[0612] **b. 항암제제 및 기타 치료**

[0613] 본원에서 제공되는 병용 치료는 단독으로 또는 추가적으로 다른 항암제와 병용하여 사용될 수 있다. 항암제제(들) 또는 처리(들)은 외과적 수술, 방사선 조사, 약물, 화학 치료, 폴리펩티드, 항체, 펩티드, 소분자 또는 유전자 치료 벡터, 바이러스 또는 DNA가 될 수 있다.

[0614] 본원의 병용 치료의 투여 후, 동시에 또는 전에 투여될 수 있는 항암제의 예는 아시비신(Acivicins); 아비신(Avicin); 아클라루비신(Aclarubicins); 아코다졸(Acodazoles); 아크로닌(Acronines); 아도젤레신(Adozelesins); 알데스류킨(Aldesleukins); 알렘투주맙(Alemtuzumabs); 알리트레티노인(9-시스-레티노산)(Alitretinoins(9-Cis-Retinoic Acids)); 알로퓨리놀(Allopurinols); 알트레타민(Altretamines); 알보시딕(Alvocidibs); 암바존(Ambazones); 암보마이신(Ambomycins); 아메탄트론(Ametantrones); 아미포스틴(Amifostines); 아미노글루테티미드(Aminoglutethimides); 암사크린(Amsacrine); 아나스트로졸(Anastrozoles); 아낙시론(Anaxirones); 안시타빈(Ancitabines); 안트라마이신(Anthramycins); 아파지퀸(Apaziquones); 아르기메스나(Argimesnas); 삼산화비소(Arsenic Trioxides); 아스파라기나제(Asparaginases); 아스페를린(Asperlins); 아트리무스틴(Atrimustines); 아자시티딘(Azacitidines); 아제테파(Azetepas); 아조토마이신(Azotomycins); 바녹산트론(Banoxantrones); 바타불린(Batabulins); 바티마스타트(Batimastats); BCG 라이브(BCG Live); 베낙시빈(Benaxibines); 벤다무스틴(Bendamustines); 벤조데파(Benzodepas); 벅사로텐(Bexarotenes); 베바시주맙(Bevacizumab); 비칼루타미드(Bicalutamides); 비에타세르핀(Bietaserpines); 비리코다르(Biricodars); 비산트렌(Bisantrenes); 비스나피드 디메실레이트(Bisnafide Dimesylates); 비젤레신(Bizelesins); 블레오마이신(Bleomycins); 보르테조밍(Bortezomibs); 브레퀴나르(Brequinars); 브로피리민(Bropirimines); 부도티탄(Budotitanes); 부술평(Busulfans); 캅티노마이신(Cactinomycins); 칼루스테론(Calusterones); 카네르티닙(Canertinibs); 카페시타빈(Capecitabines); 카라세미드(Caracemides); 카르베티머(Carbetimers); 카보플라틴(Carboplatins); 카르보퀸(Carboquones); 카르모푸르(Carmofurs); 폴리페프로산과의 카르무스틴(Carmustines with Polifeprosans); 카르무스틴(Carmustines); 카루비신(Carubicins); 카르젤레신(Carzelesins); 세데핑골(Cedefingols); 셀레콕시브(Celecoxibs); 세마도틴(Cemadotins); 클로람부실(Chlorambucils); 시오테로넬(Cioteronels); 시롤레마이신(Cirolemycins); 시스플라틴(Cisplatin); 클라드리빈(Cladribines); 클란페누르(Clanfenurs); 클로파라빈(Clofarabines); 크리스나톨(Crisnatols); 시클로포스파미드(Cyclophosphamides); 리포솜 시타라빈(Cytarabine liposomals); 시타라빈(Cytarabines); 다카르바진(Dacarbazines); 닥티노마이신(Dactinomycins); 다르베포에틴 알파(Darbepoetin Alfas); 리포솜 다우노루비신(Daunorubicin liposomals); 다우노루비신/다우노마이신(Daunorubicins/Daunomycins); 다우노루비신(Daunorubicins); 데시타빈(Decitabines); 데니류킨 디프티톡스(Denileukin Diftitoxes); 텍스니굴디핀(Dexniguldipines); 텍소나플라틴(Dexonnaplatins); 텍스라족산(Dexrazoxanes); 데자구아닌(Dezaguanines); 디아지퀸(Diaziquones); 디브로스피둠(Dibrospidiuims); 디에노게스트(Dienogests); 디날린(Dinalins); 디세르몰리드(Disermolides); 도세탁셀(Docetaxels); 도페퀴다르(Dofequidars); 독시플루리딘(Doxifluridines); 리포솜 독소루비신(Doxorubicin liposomals); 독소루비신 HCL(Doxorubicin HCL); 독소루비신 HCL 리포솜 주사(Doxorubicin HCL liposome injection); 독소루비신(Doxorubicins); 드롤록시펜(Droloxifenes); 드로모스타놀론 프로피오네이트(Dromostanolone Propionates); 두아조마이신(Duazomycins); 에코무스틴(Ecomustines); 에다트렉세이트(Edatrexates); 에도테카린(Edotecarins); 에플로르니틴(Eflornithines); 엘라크리다르(Elacridars); 엘리나피드(Elinafides); 엘리엇 B 용액(Elliott's B Solutions); 엘사미트루신(Elsamitrucins); 에미테푸르(Emitefurs); 엔로플라틴(Enloplatins); 엔프로메이트(Enpromates); 엔자스타우린

(Enzastaurins); 에피프로피딘(Epipropidines); 에피루비신(Epirubicins); 에포에틴 알파(Epoetin alfas); 엠타로프로스트(Eptaloprosts); 에르볼로졸(Erbulozoles); 에소루비신(Esorubicins); 에스트라무스틴(Estramustines); 에타니다졸(Etanidazoles); 에토글루시드(Etoglucids); 에토포시드 포스페이트(Etoposide phosphates); 에토포시드 VP-16(Etoposide VP-16s); 에토포시드(Etoposides); 에토프린(Etoprines); 엑세메스탄(Exemestanes); 엑시술린드(Exisulinds); 파드로졸(Fadrozoles); 파자라빈(Fazarabines); 펜레티니드(Fenretinides); 필그라스티름(Filgrastims); 플록수리딘(Floxuridines); 플루다라빈(Fludarabines); 플루오로우라실(Fluorouracils); 5-플루오로우라실(5-fluorouracils); 플루옥시메스테론(Fluoxymesterones); 플루로시타빈(Fluorocitabines); 포스퀴돈(Fosquidones); 포스트리예신(Fostriecins); 포스트리예신(Fostriecins); 포트레타민(Fotretamines); 풀베스트란트(Fulvestrants); 갈라루비신(Galarubicins); 갈로시타빈(Galocitabines); 겐시타빈(Gemcitabines); 겐투주맵/오조가미신(Gemtuzumabs/Ozogamicins); 게로퀴놀(Geroquinols); 기마테칸(Gimatecans); 기메라실(Gimeracils); 글록사존(Gloxazones); 글루포스파미드(Glufosfamides); 고세렐린 아세테이트(Goserelin acetates); 하이드록시우레아(Hydroxyureas); 이브리투모맵/티옥세탄(Ibritumomabs/Tiuxetans); 이다루비신(Idarubicins); 이포스파미드(Ifosfamides); 일모포신(Ilmofofines); 일로마스타트(Ilomastats); 이매티닙 메실레이트(Imatinib mesylates); 이멕손(Imexons); 임프로술판(Improsulfans); 인디술람(Indisulams); 인프로퀸(Inproquones); 인터페론 알파-2a(Interferon alfa-2as); 인터페론 알파-2b(Interferon alfa-2bs); 인터페론 알파(Interferon Alfas); 인터페론 베타(Interferon Betas); 인터페론 감마(Interferon Gammas); 인터페론(Interferons); 인터류킨-2(Interleukin-2s) 및 다른 인터류킨(재조합 인터류킨 포함); 인토플리신(Intoplicines); 이오벤구안 [131-I](Iobenguanes [131-I]); 이프로플라틴(Iproplatins); 이리노테칸(Irinotecans); 이르소글라딘(Irsogladines); 익사베필론(Ixabepilones); 케토트렉세이트(Ketotrexates); L-알라노신(L-Alanosines); 란레오티드(Lanreotides); 라파티닙(Lapatinibs); 레독산트론(Ledoxantrones); 레트로졸(Letrozoles); 류코보린(Leucovorins); 류프롤리드(Leuprolides); 류프로렐린(Leuprorelins (Leuprorelides)); 레바미솔(Levamisoles); 렉사칼시톨(Lexacalcitols); 리아로졸(Liarozoles); 로바플라틴(Lobaplatins); 로메트렉솔(Lometrexols); 로무스틴/CCNU(Lomustines/CCNUs); 로무스틴(Lomustines); 로나파르닙(Lonafamibs); 로소산트론(Losoxantrones); 루르토테칸(Lurtotecans); 마포스파미드(Mafosfamides); 만노술판(Mannosulfans); 마리마스타트(Marimastats); 마소프로콜(Masoprocals); 마이탄신(Maytansines); 메클로레타민(Mechlorethamines); 메클로레타민/질소 머스타드(Mechlorethamines/Nitrogen mustards); 메게스트롤 아세테이트(Megestrol acetates); 메게스트롤(Megestrols); 멜렌게스트롤(Melengestrols); 멜팔란(Melphalans); 멜팔란/L-PAM(Melphalans/L-PAMs); 메노가릴(Menogarils); 메피티오스탄(Mepitiostanes); 머캅토피린(Mercaptopurines); 6-머캅토피린(6-Mercaptopurine); 메스나(Mesnas); 메테신드(Metesinds); 메토트렉세이트(Methotrexates); 메톡살렌(Methoxsalens); 메토미데이트(Metomidates); 메토프린(Metoprines); 메투레데파(Meturedepas); 미보플라틴(Miboplatins); 미프로시펜(Miproxifenes); 미소니다졸(Misonidazoles); 미틴도미드(Mitindomides); 미토카르신(Mitocarcins); 미토크로민(Mitocromins); 미토플락손(Mitoflaxones); 미토길린(Mitogillins); 미토구아존(Mitoguzones); 미토말신(Mitomalcins); 미토마이신 C(Mitomycin Cs); 미토마이신(Mitomycins); 미토나피드(Mitonafides); 미토퀴돈(Mitoquidones); 미토스퍼(Mitospers); 미토탄(Mitotanes); 미톡산트론(Mitoxantrones); 미토졸로미드(Mitozolomides); 미보불린(Mivobulins); 미조리빈(Mizoribines); 모파로텐(Mofarotenes); 모피다몰(Mopidamols); 무브리티닙(Mubritinibs); 미코페놀산(ycophenolic Acids); 난드롤론 펜프로피오네이트(Nandrolone Phenpropionates); 네다플라틴(Nedaplatins); 넬자라빈(Nelzarabines); 네모루비신(Nemorubicins); 니트라크린(Nitracrine); 노코다졸(Nocodazoles); 노페투모맵(Nofetumomabs); 노갈라마이신(Nogalamycins); 놀라트렉세드(Nolatrexeds); 노르토픽산트론(Nortopixantrones); 옥트레오티드(Octreotides); 오프렐베킨(Oprelvekins); 오르마플라틴(Ormaplatins); 오르타탁셀(Ortaxels); 오테라실(Oteracils); 옥살리플라틴(Oxaliplatin); 옥시수란(Oxisurans); 옥소페나르신(Oxophenarsines); 파클리탁셀(Paclitaxels); 파미드로네이트(Pamidronates); 파투빌론(Patubilones); 페가데마제(Pegademases); 페가스파르가제(Pegaspargases); 페그필그라스티름(Pegfilgrastims); 펠데신(Peldesines); 펠리오마이신(Peliomycins); 펠리트렉솔(Pelitrexols); 페메트렉세드(Pemetrexeds); 펜타무스틴(Pentamustines); 펜토스타틴(Pentostatins); 페플로마이신(Plomycins); 페르포스파미드(Perfosfamides); 페리포신(Perifosines); 피코플라틴(Picoplatins); 피나피드(Pinafides); 피포브로만(Pipobromans); 피포술판(Piposulfans); 피르페니돈(Pirfenidones); 피록산트론(Piroxantrones); 픽산트론(Pixantrones); 플레비트렉세드(Plevitrexeds); 플리카마이신드 미트라마이신(Plicamycin Mithramycins); 플리카마이신(Plicamycins); 플로메스탄(Plomestanes); 플로메스탄(Plomestanes); 포르피머 나트륨(Porfimer sodiums); 포르피머(Porfimers); 포르피로마이신(Porfiomycins); 프레드니무스틴(Prednimustines); 프로카르바진(Procarbazines); 프로파미딘(Propamidines); 프로스피둠(Prospidiums); 푸미테파(Pumitepas); 퓨로마이신

(Puromycins); 피라조푸린(Pyrazofurins); 퀴나크린(Quinacrine); 라니무스틴(Ranimustines); 라스부리카제(Rasburicases); 리보프린(Riboprines); 리트로술폴(Ritrosulfans); 리툭시맙(Rituximabs); 로글레티미드(Rogletimides); 로퀴니멕스(Roquinimexs); 루포크로모마이신(Rufocromomycins); 사바루비신(Sabarubicins); 사핑골(Safingols); 사르그라모스틴(Sargramostims); 사트라플라틴(Satraplatins); 세브리플라틴(Sebriplatins); 세무스틴(Semustines); 심트라젠(Simtrazenes); 시조피란(Sizofirans); 소부족산(Sobuzoxanes); 소라페닙(Sorafenibs); 스파르포세이트(Sparfosates); 스파르포스산(Sparfosic Acids); 스파르소마이신(Sparsomycins); 스피로게르마늄(Spirogermaniums); 스피로무스틴(Spiromustines); 스피로플라틴(Spiroplatins); 스피로플라틴(Spiroplatins); 스쿠알라민(Squalamines); 스트렙토니그린(Streptonigrins); 스트렙토바리신(Streptovarycins); 스트렙토조신(Streptozocins); 수포스파미드(Sufosfamides); 술로페누르(Sulofenurs); 수니티닙 말레이트(Sunitinib Malate); 6-티오구아닌(6-thioguanine, 6-TG); 타세디날린(Tacedinalines); 탈크(Talcs); 탈이소마이신(Talisomycins); 탈리무스틴(Tallimustines); 타목시펜(Tamoxifens); 타리퀴다르(Tariquidars); 타우로무스틴(Tauromustines); 테코갈란(Tecogalans); 테가푸르(Tegafurs); 텔록산트론(Teloxantrones); 테모포르핀(Temoporfin); 테모졸로미드(Temozolomides); 테니포시드/VM-26(Teniposides/VM-26s); 테니포시드(Teniposides); 테록시론(Teroxirones); 테스토락톤(Testolactones); 티아미프린(Thiamiprines); 티오구아닌(Thioguanines); 티오테파(Thiotepas); 티아미프린(Tiamiprines); 티아조푸린(Tiazofurins); 티로미솔(Tilomisoles); 티로론(Tilorones); 팀코다르(Timcodars); 티모나시크(Timonacics); 티라파자민(Tirapazamines); 토픽산트론(Topixantrones); 토폠테칸(Topotecans); 토레미펜(Toremifenes); 토시투모맙(Tositumomabs); 트라벡테딘(Trabectedins) (엑테이나시딘 743(Ecteinascidin 743)); 트라스투주맙(Trastuzumabs); 트레스톨론(Trestolones); 트레티노인/ATRA(Tretinoin/ATRA); 트리시리빈(Triciribines); 트릴로스탄(Trilostanes); 트리메트렉세이트(Trimetrexates); 트리플라틴 테트라니트레이트(Triplatin Tetranitrates); 트립토렐린(Triptorelins); 트로포스파미드(Trofosfamides); 튜불로졸(Tubulozoles); 우베니멕스(Ubenimexs); 우라실 머스타드(Uracil Mustards); 우레데파(Uredepas); 발루비신(Valrubicins); 발스포다르(Valspodars); 바프레오티드(Vapreotides); 베르테포르핀(Verteporfin); 빈블라스틴(Vinblastines); 빈크리스틴(Vincristines); 빈데신(Vindesines); 비네피딘(Vinepidines); 빈플루닌(Vinflunines); 빈포르미드(Vinformides); 빈글리시네이트(Vinglycinates); 빈류시놀(Vinleucinols); 빈류로신(Vinleurosines); 비노렐빈(Vinorelbines); 빈로시딘(Vinrosidines); 빈트립톨(Vintriptyls); 빈졸리딘(Vinzolidines); 보로졸(Vorozoles); 크산토마이신 A(Xanthomycin As) (구아메사이클린(Guamecyclines)); 제니플라틴(Zeniplatins); 질라스코르브 [2-H](Zilascorbs [2-H]); 지노스타틴(Zinostatin); 졸레드로네이트(Zoledronate); 조루비신(Zorubicins); 및 조수퀴다르(Zosuquidars), 예를 들어: 알데스류킨(Aldeleukins) (예를 들어, 프로류킨®(PROLEUKIN®)); 알렘투주맙(Alentuzumabs) (예를 들어, 캠퍼스®(CAMPATH®)); 알리트레티노인(Alitretinoin) (예를 들어, 판레틴®(PANRETIN®)); 알로퓨리놀(Allopurinol) (예를 들어, 질로프림®(ZYLOPRIM®)); 알트레타민(Altretamines) (예를 들어, 헥살렌®(HEXALEN®)); 아미포스틴(Amifostine) (예를 들어, 에티올®(ETHYOL®)); 아나스트로졸(Anastrozoles) (예를 들어, 아리미덱스®(ARIMIDEX®)); 삼산화비소(Arsenic Trioxides) (예를 들어, 트리세녹스®(TRISENOX®)); 아스파라기나제(Asparaginases) (예를 들어, 엘스파르®(ELSPAR®)); BCG 라이브(BCG Live) (예를 들어, 타이스® BCG(TICE® BCG); 벅사로텐(Bexarotenes) (예를 들어, 타그레틴®(TARGRETIN®)); 베바시주맙(Bevacizumab) (아바스틴®(AVASTIN®)); 블레오마이신(Bleomycins) (예를 들어, 블레녹산®(BLENOXANE®)); 정맥 부술폴(Busulfan intravenous) (예를 들어, 부술폴렉스®(BUSULFEX®)); 경구 부술폴(Busulfan orals) (예를 들어, 밀레란®(MYLERAN®)); 칼루스테론(Calusterones) (예를 들어, 메토사르브®(METHOSARB®)); 카페시타빈(Capecitabines) (예를 들어, 젤로다®(XELODA®)); 카보플라틴(Carboplatins) (예를 들어, 파라플라틴®(PARAPLATIN®)); 카르무스틴(Carmustines) (예를 들어, BCNU®, BiCNU®); 폴리페프로산과 카르무스틴(Carmustines with Polifeprosans) (예를 들어, 글리아델® 웨이퍼(GLIADEL® Wafer)); 셀레코시브(Celecoxibs) (예를 들어, 셀레브렉스®(CELEBREX®)); 클로람부실(Chlorambucils) (예를 들어, 류케란®(LEUKERAN®)); 시스플라틴(Cisplatin) (예를 들어, 플라티놀®(PLATINOL®)); 클라드리빈(Cladribines) (예를 들어, 류스타틴®(LEUSTATIN®), 2-CdA®); 시클로포스파미드(Cyclophosphamides) (예를 들어, 사이톡산®(CYTOXAN®), 네오사르®(NEOSAR®)); 시타라빈(Cytarabines) (예를 들어, 사이토사르-U®(CYTOSAR-U®)); 리포좀 시타라빈(Cytarabine liposomals) (예를 들어, 디포사이트®(DepoCyt®)); 다카르바진(Dacarbazines) (예를 들어, DTIC-Dome); 닥티노마이신(Dactinomycins) (예를 들어, 코스메젠®(COSMEGEN®)); 다르베포에틴 알파(Darbepoetin Alfa) (예를 들어, 아라네스프®(ARANESPO®)); 리포좀 다우노루비신(Daunorubicin liposomals) (예를 들어, 다누옥숨®(DANUOXOME®)); 다우노루비신/다우노마이신(Daunorubicins/Daunomycins) (예를 들어, 세루비딘®(CERUBIDINE®)); 데니류킨 디프티톡스(Denileukin Diftitoxes) (예를 들어, 온타크®(ONTAK®)); 텍스라족산(Dexrazoxanes) (예를 들어, 지네카드®(ZINECARD

®)); 도세탁셀(Docetaxels) (예를 들어, 탁소테레®(TAXOTERE®)); 독소루비신(Doxorubicins) (예를 들어, 아드리아마이신®(ADRIAMYCIN®), 루벡스®(RUBEX®)); 리포솜 독소루비신(Doxorubicin liposomals), 예를 들어 독소루비신 HCL(Doxorubicin HCL) 리포솜 주사 (예를 들어, 독실®(DOXIL®) 포함함); 드로모스타놀론 프로피오네이트(Dromostanolone propionates) (예를 들어, 드로모스타놀론®(DROMOSTANOLONE®) 및 마스터론®(MASTERONE®) 주사); 엘리엇 B 용액(Elliott's B Solutions) (예를 들어, 엘리엇 B 용액®(Elliott's B Solution®)); 에피루비신(Epirubicins) (예를 들어, 엘렌스®(ELLENC®)); 에포에틴 알파(Epoetin alfas) (예를 들어, 에포겐®(EPOGEN®)); 에스트라무스틴(Estramustines) (예를 들어, 엠사이트®(EMCYT®)); 에토포시드 포스페이트(Etoposide phosphates) (예를 들어, 에토포포스®(ETOPOPHOS®)); 에토포시드 VP-16(Etoposide VP-16s) (예를 들어, 베페시드®(VEPESID®)); 엑세메스탄(Exemestanes) (예를 들어, 아로마신®(AROMASIN®)); 필그라스티름(Filgrastims) (예를 들어, 뉴포겐®(NEUPOGEN®)); 플록수리딘(Floxuridines) (예를 들어, FUDR®); 플루다라빈(Fludarabines) (예를 들어, 플루다라®(FLUDARA®)); 5-FU를 포함하는 플루오로우라실(Fluorouracils) (예를 들어, 아드루실®(ADRUCIL®)); 풀베스트란트(Fulvestrants) (예를 들어, 파슬로텍스®(FASLODEX®)); 겐시타빈(Gemcitabines) (예를 들어, 겐자®(GEMZAR®)); 겐투주맵/오조가미신(Gemtuzumabs/Ozogamicins) (예를 들어, 밀로타르그®(MYLOTARG®)); 고세렐린 아세테이트(Goserelin acetates) (예를 들어, 졸라텍스®(ZOLADEX®)); 하이드록시우레아(Hydroxyureas) (예를 들어, 하이드레아®(HYDREA®)); 이브리투모맵/티옥세탄(Ibritumomabs/Tiuxetans) (예를 들어, 제발린®(ZEVALIN®)); 이다루비신(Idarubicins) (예를 들어, 이다마이신®(IDAMYCIN®)); 이포스파미드(Ifosfamides) (예를 들어, 이펙스®(IFEX®)); 이매티닙 메실레이트(Imatinib mesylates) (예를 들어, 글리벡®(GLEEVEC®)); 인터페론 알파-2a(Interferon alfa-2as) (예를 들어, 로페론-A®(ROFERON-A®)); 인터페론 알파-2b(Interferon alfa-2bs) (예를 들어, 인트론 A®(INTRON A®)); 이리노테칸(Irinotecans) (예를 들어, 캄프토사르®(CAMPTOSAR®)); 레트로졸(Letrozoles) (예를 들어, 페마라®(FEMARA®)); 류코보린(Leucovorins) (예를 들어, 웰코보린®(WELLCOVORIN®), 류코보린®(LEUCOVORIN®)); 레바미솔(Levamisoles) (예를 들어, 에르가미솔®(ERGAMISOL®)); 로무스틴/CCNU(Lomustines/CCNUs) (예를 들어, CeeBU®); 메클로레타민/질소 머스타드(Mechlorethamines/Nitrogen mustards) (예를 들어, 머스타겐®(MUSTARGEN®)); 메게스트롤 아세테이트(Megestrol acetates) (예를 들어, 메가스®(MEGACE®)); 멜팔란/L-PAM(Melphalans/L-PAMs) (예를 들어, 알케란®(ALKERAN®)); 6-머캅토피린(6-mercaptapurines)을 포함하는 머캅토피린(Mercaptopurine) (6-MP; 예를 들어, 퓨리네톨®(PURINETHOL®)); 메스나(Mesnas) (예를 들어, 메스넥스®(MESNEX®)); 메토트렉세이트(Methotrexates); 메톡살렌(Methoxsalens) (예를 들어, 우바텍스®(UVADEX®)); 미토마이신 C(Mitomycin Cs) (예를 들어, 뮤타마이신®(MUTAMYCIN®), 미토지트렉스®(MITOZYTREX®)); 미토탄(Mitotanes) (예를 들어, 리소드렌®(LYSODREN®)); 미톡산트론(Mitoxantrones) (예를 들어, 노반트론®(NOVANTRONE®)); 난드롤론 펜프로피오네이트(Nandrolone Phenpropionates) (예를 들어, 듀라볼린-50®(DURABOLIN-50®)); 노페투모맵(Nofetumomabs) (예를 들어, 베르루마®(VERLUMA®)); 오프렐베킨(Oprelvekins) (예를 들어, 뉴메가®(NEUMEGA®)); 옥살리플라틴(Oxaliplatin) (예를 들어, 엘록사틴®(ELOXATIN®)); 파클리탁셀(Paclitaxels) (예를 들어, 팍센®(PAXENE®), 탁솔®(TAXOL®)); 파미드로네이트(Pamidronates) (예를 들어, 아레디아®(AREDIA®)); 페가데마제(Pegademases) (예를 들어, 아다겐®(ADAGEN®)); 페가스파르가제(Pegaspargases) (예를 들어, 온카스파르®(ONCASPARGAS®)); 페그필그라스티름(Pegfilgrastims) (예를 들어, 뉴라스타®(NEULASTA®)); 펜토스타틴(Pentostatin) (예를 들어, 니펜트®(NIPENT®)); 피포브로만(Pipobromans) (예를 들어, 베르사이트®(VERCYTE®)); 플리카마이신/미트라마이신(Plicamycin/Mithramycins) (예를 들어, 미트라신®(MITHRACIN®)); 포르피머 나트륨(Porfimer sodiums) (예를 들어, 포토프린®(PHOTOPRIN®)); 프로카르바진(Procarbazines) (예를 들어, 마툴란®(MATULANE®)); 퀴나크린(Quinacrine) (예를 들어, 아타브린®(ATABRINE®)); 라스부리카제(Rasburicases) (예를 들어, 엘리텍®(ELITEK®)); 리툭시맵(Rituximabs) (예를 들어, 리툭산®(RITUXAN®)); 사르그라마스티름(Sargramostims) (예를 들어, 프로카인®(PROKINE®)); 스트렙토조신(Streptozocins) (예를 들어, 자노사르®(ZANOSAR®)); 수니티닙 말레이트(Sunitinib Malates) (예를 들어, 수텐트®(SUTENT®)); 탈크(Talcs) (예를 들어, 스크레로솔®(SCLEROSOL®)); 타목시펜(Tamoxifens) (예를 들어, 놀바텍스®(NOLVADEX®)); 테모졸로미드(Temozolomides) (예를 들어, 테모다르®(TEMODAR®)); 테니포시드/VM-26(Teniposides/VM-26s) (예를 들어, 부몬®(VUMON®)); 테스토락톤(Testolactones) (예를 들어, 테슬락®(TESLAC®)); 6-티오구아닌 (6-TG)을 포함하는 티오구아닌(Thioguanines); 티오테파(Thiotepas) (예를 들어, 티오플렉스®(THIOPLEX®)); 토포테칸(Topotecans) (예를 들어, 하이캄틴®(HYCAMTIN®)); 토레미펜(Toremifenes) (예를 들어, 파레스톤®(FARESTON®)); 토시투모맵(Tositumomabs) (예를 들어, 벅사르®(BEXXAR®)); 트라스투주맵(Trastuzumabs) (예를 들어, 헤르셉틴®(HERCEPTIN®)); 트레티노인/ATRA(Tretinoin/ATRA) (예를 들어, 베사노이드®(VESANOID®)); 우라실 머스타드(Uracil Mustards); 발루비신(Valrubicins) (예를 들어,

어, 발스타르®(VALSTAR®)); 빈블라스틴(Vinblastines) (예를 들어, 벨반®(VELBAN®)); 빈크리스틴(Vincristines) (예를 들어, 온코빈®(ONCOVIN®)); 비노렐빈(Vinorelbines) (예를 들어, 나벨빈®(NAVELBINE®)); 및 졸레드로네이트(Zoledronates) (예를 들어, 조메타®(ZOMETA®))가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

H. 실시예

다음의 실시예는 오직 목적을 분명히하기 위하여 포함되며, 본 발명의 범위를 제한하는 것이 아니다.

실시예 1

인간 췌장 종양 이종이식 모델에서

PEGPH20 및 Nab-파클리탁셀 병용 치료의 항종양 효과

인간 췌장암 이종이식 모델을 알부민-결합 (nab)-파클리탁셀 나노입자와 병용한 PEGPH20의 항종양 효과에 대해 평가하였다.

BxPC3 췌장암 세포주 유래의 종양 세포(미국 미생물 보존 센터(American Tissue Culture Collection(ATCC) CRL-1687)를 약 80%까지 성장시키고, 트립신화하고, 수집하고 HBSS(헝크 균형 염 용액, Mediatech 사.)에서 한 번 세척하였다. 접종 전에 세포를 멸균 HBSS로 두 번 세척하고, 트립판 블루 배제를 통해 세포 농도 및 생존율을 결정하는 자동화된 계수 기구 Nexcelom Cellometer(Nexcelom Bioscience; Lawrence, MA)를 사용하여 계수하고, 동물에 접종되기 전에 얼음 상에서 1×10^8 세포/mL 의 농도가 되도록 HBSS로 희석하였다. 약 6 주령의 수컷 누드 마우스(무흉선 NCr nu/nu 마우스, Taconic Laboratories, 사.)의 왼쪽 뒷다리(경골 골막(tibia periosteum)에 인접한), 경골 주위로 상기 세포 현탁액 0.05mL를 근육 내로(IM) 접종하였다. 동물내 종양은 주당 2회 평가하였고 평균 종양 부피가 약 $350 - 400 \text{ mm}^3$ 으로 자라도록 두었다. 실제 종양 부피는 VisualSonic Vevo 770 고해상도 초음파(VisulaSonics 사.; 토론토, 온타리오, 캐나다)를 이용하여 관찰하였다.

종양-내포 동물을 한 군당 8 마리씩 8 개의 처리군으로 나누어 다음을 정맥내로 처리하였다: 1) 비히클(API 완충액); 2) PEGPH20 (4.5 mg/kg); 3) nab-파클리탁셀 (3 mg/kg; 저용량); 4) nab-파클리탁셀 (10 mg/kg; 중간 용량); 5) nab-파클리탁셀 (30 mg/kg; 고용량); 6) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-파클리탁셀 (3 mg/kg); 7) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-파클리탁셀 (10 mg/kg); 또는 8) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-파클리탁셀(30 mg/kg). PEGPH20 및 nab-파클리탁셀을 별개로 투여하였다. PEGPH20을 첫번째로 투여하였고 이후 즉시 nab-파클리탁셀을 투여하였다. 0.1 mL/25 g 마우스, 또는 4.0 mL/kg의 용량 부피로, 0일에 시작하여 3일마다 총 6번의 주입을 하기 위한 것을 처리 용량 및 빈도로 하였다(즉, 0, 3, 6, 9, 12, 15일).

모든 마우스의 종양 부피는 주당 2회 VisualSonics 초음파 시스템을 이용한 이미지를 캡처하여 측정되었다. 종양 부피는 3D-모드 이미지 소프트웨어 프로그램(VisualSonics® Vevo 770®, v 3.0.0)을 사용하여 계산되었다. 종양 성장 억제 퍼센트(% TGI)는 다음 식에 의해 계산되었다.

$$[1 - (T_n - T_0) / (C_n - C_0)] \times 100\%$$

상기 식에서, T_n 은 처리 후 지시된 시점에서 각 "n" 일차의 처리군에서의 평균 종양 부피이다; T_0 은 처리 전 0일차에 처리군의 평균 종양 부피이다; C_n 은 비히클로 처리한 후에 지시된 시점에서 각 "n" 일차의 대조군에서의 평균 종양 부피이다; 그리고 C_0 은 처리 전 0일차에서 대조군의 평균 종양 부피이다.

결과는 도 1에 도시하였다. 결과는 고용량 및 중간 용량에서 nab-파클리탁셀이 종양 성장을 억제하고, 이것이 PEGPH20의 존재 하에서 강화되는 것을 보여준다. 예를 들어, 종양 부피가 측정되는 마지막 시점에, nab-파클리탁셀의 중간 내지 고용량(10 mg/kg 및 30 mg/kg)은 종양 성장을 비히클 처리 대조군과 비교하여, 각각, 62% ($p < 0.01$) 및 74% ($p < 0.01$) 억제하였다. PEGPH20의 존재 하에, 종양 성장 억제는 nab-파클리탁셀 10 mg/kg 용량 처리군에서 72% ($p < 0.01$)까지 증가되었고 nab-파클리탁셀의 30 mg/kg 용량 치료군은 91% ($p < 0.01$)까지 증가하였다. 이것은 중간 용량 nab-파클리탁셀에서 19%, 그리고 고용량 nab-파클리탁셀에 대해서 26% 의 PEGPH20-매개된 효능의 증가이다. PEGPH20 존재 또는 부재 하 4.5 mg/mg의 PEGPH20 처리군 또는 3 mg/kg 저용량 nab-파클리탁셀 처리군에서는 실질적인 종양 성장 억제가 관찰되지 않았다.

실시예 2

인간 췌장 종양 이종이식 모델에서

[0629] PEGPH20, Nab-파클리탁셀 및 젬시타빈 병용 치료의 항종양 효과

[0630] A. 종양 성장 억제

[0631] 실시예 1에서 기술되는 인간 췌장암 이종이식 모델은 PEGPH20 및 nab-파클리탁셀 병용치료 뿐만 아니라 젬시타빈의 병용 치료의 항종양 효과를 평가하기 위해 사용되었다. 연구 수행 전에, 기반이 되는 젬시타빈에 대한 경로 및 용량 수준을 선택하였다. 이 종양-내포 마우스를 21일 동안 주당 1회(0, 7, 14 및 21일) 다양한 용량의 젬시타빈(60 mg/kg, 120 mg/kg, 180 mg/kg 및 240 mg/kg)으로 처리하였고 종양의 부피를 상기 상기 기술된 바와 같이 모니터링하였다. 결과는 도 2에 도시하였다. 결과는 비히클 단독 경우와 비교하여 시험된 모든 용량에서 젬시타빈이 종양 성장을 억제하는 것을 보였다. 차선의 용량인 180 mg/kg 을 PEGPH20 조합 화학 치료 연구에서 사용하기 위해 선택하였다. 젬시타빈 및 nab-파클리탁셀 두 개의 차선의 용량을 선택하여 세 개의 항-암제를 결합하는 잠재적인 이점을 평가하였다: PEGPH20, 젬시타빈 및 nab-파클리탁셀.

[0632] 종양-내포 마우스를 군당 12마리씩 8 개의 처리군으로 나누어 다음을 처리하였다: 1) 비히클 (API 완충액); 2) PEGPH20 (4.5 mg/kg); 3) nab-파클리탁셀 (10 mg/kg); 4) 젬시타빈 (180 mg/kg); 5) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-파클리탁셀 (10 mg/kg); 6) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + 젬시타빈 (180 mg/kg); 7) nab-파클리탁셀 (10 mg/kg) + 젬시타빈 (180 mg/kg); 또는 8) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-파클리탁셀 (10 mg/kg) + 젬시타빈 (180 mg/kg). PEGPH20 및 nab-파클리탁셀은 정맥내로 투여하였고 처리의 용량 및 빈도는 4 주의 투여 주기 동안 주당 2회 (2x/wk)였다. 젬시타빈은 3 주의 투여주기 동안 매 7일째마다 PEGPH20 및/또는 nab-파클리탁셀 24시간 후에 복강내로 투여하였다. 시험군에 따라, 4 주 주기의 제제의 투여를 위한 투여 스케줄이 표 5에 기재되어 있다.

표 5: 투여 스케줄	
스케줄	처리
Day 0	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 1 0일차 투여 후 24시간	젬시타빈 (복강내)
Day 4	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 7	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 8 7일차 투여 후 24시간	젬시타빈 (복강내)
Day 11	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 14	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 15 14일차 투여 후 24시간	젬시타빈 (복강내)
Day 18	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 21	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)
Day 25	비히클 또는 PEGPH20 ± nab-파클리탁셀 (각각 정맥내)

[0633]

[0634] 종양 부피 및 종양 성장 억제는 실시예 1에 기술된 바와 같이 결정되었다. 결과는 도 3에 도시하였다. 결과는 젬시타빈 단독, PEGPH20 단독 및 PEGPH20 + 젬시타빈은 일부 항종양 활성을 나타내지만, PEGPH20, nab-파클리탁셀 및 젬시타빈이 처리된 동물에서 나타나는 가장 큰 항종양 효과를 가진 nab-파클리탁셀을 포함하는 치료에서 항종양 효과가 훨씬 크게 나타났다는 것을 보여준다. 표 6은 26일차에 종양 부피 측정으로부터 결정되는 바와 같이 비히클에 상대적인 성장 억제 퍼센트로서의 결과를 도시한다. 그 결과는 nab-파클리탁셀 및 젬시타빈의 처리에 추가하여 PEGPH20과 함께 동물을 치료하는 것은 비히클과 비교하여 81%의 종양 성장 억제 결과를 나타내고, 반면 PEGPH20없는 nab-파클리탁셀과 젬시타빈 치료는 오직 66% 종양 성장 억제를 나타낸다는 것을 보여준다. 따라서, 결과는 nab-파클리탁셀 및 젬시타빈에 추가한 PEGPH20의 병용 치료가 효능면에서 23% 증가를 유발한 것을 보여준다.

표 6: 젬시타빈 및/또는 nab-파클리탁셀 병용의 PEGPH20의 항종양 효과		
처리	종양 성장 억제 (비히클 대조군의 %)	p-값 (비히클 대조군 대비)
젬시타빈	25	0.0110
PEGPH20 + 젬시타빈	38	<0.0001
PEGPH20	39	<0.0028
nab-파클리탁셀	63	<0.0001
nab-파클리탁셀 + 젬시타빈	66	<0.0001
PEGPH20 + nab-파클리탁셀	71	<0.0001
PEGPH20 + nab-파클리탁셀 + 젬시타빈	81	<0.0001

[0635]

[0636]

[0637]

B. 생존 시간 중앙값(Median Survival Time)

A 부분에 기재된 바와 같은 첫번째 4 주 투여 주기에 따라, 투여 주기는 2회 반복되었고 생존 종말점(endpoint)까지의 시간을 시간에 따라 취했다. 요약하면, 각각의 투여 주기에서, 동물에 4 주 동안 주당 2회 비히클 또는 정맥내로 nab-파클리탁셀(10 mg/kg)과 함께 또는 nab-파클리탁셀 없이 PEGPH20 (4.5 mg/mL)로 처리하였다. 각각의 주기에서, 젬시타빈을 받는 군은 3 주의 투여 주기동안 매 7일째마다 PEGPH20 및/또는 nab-파클리탁셀 24시간 후 젬시타빈(180 mg/kg)을 투여하였다. 생존 종말점까지의 시간, 대리 동물의 생존은 (a) 2000 mm³ 초과 의 종양 부피까지의 시간, (b) 20% 초과 의 체중 손실까지의 시간, 또는 (c)동물 강박 또는 죽음까지의 시간으로 정의한다.

[0638]

결과를 도 4 및 표 7에 기재하였다. 결과는 젬시타빈만 단독 처리한 동물의 종말점(endpoint)까지의 생존 시간 중앙값은 38 일이었으며, nab-파클리탁셀 및 젬시타빈을 처리한 동물은 52 일이었으며, PEGPH20, nab-파클리탁셀 및 젬시타빈을 처리한 동물은 68일임을 보여준다. 따라서, 결과는 nab-파클리탁셀 및 젬시타빈의 처리에 PEGPH20을 추가하는 것은 PEGPH20이 없이 nab-파클리탁셀 및 젬시타빈을 처리한 것과 비교하여 31 %의 증가된 효능 그리고 젬시타빈만 단독 처리한 것과 비교하여 79 %의 증가된 효능을 가지고 다른 임의의 처리에 비해 생존 시간 중앙 값을 증가시킨다는 것을 보여준다.

표 7: 생존 시간 중앙값	
처리	생존 시간 중앙값 (일)
젬시타빈	38
nab-파클리탁셀 + 젬시타빈	52
PEGPH20 + nab-파클리탁셀 + 젬시타빈	68 [†]

^{*} 비히클 대비 (p < 0.0001)

[†] nab-파클리탁셀 + 젬시타빈 대비 (p=0.0008)

[0639]

[0640]

C. 종양 바이오마커의 측정

바이오마커 탄수화물 항원 19-9 (CA19-9) 및 췌장암과 관련이 있는 카르시노(carcino) 배아 항원(CEA)을 치료적 반응을 측정하기 위해 시험하였다. 동물을 A부에서 기술된 바와 같이 처리하였다. 혈청은 첫번째 투여 주기의 0, 6, 13 및 20 일에 각각의 군 유래의 멸균된 동물 (n<3)로부터 수집되었다. 인간 CA19-9는 CA 19-9 ELISA 키트(카탈로그 번호. CA199T, Calbiotech, Spring Valley, CA)를 이용하여 측정하였고 CEA 종양 항원은 CEA ELISA 키트(카탈로그 번호. CE062T, Calbiotech, Spring Valley, CA)를 이용하여 측정하였다.

[0642]

결과는 도 5에 기재하였다. 결과는 PEGPH20 처리의 존재가 모든 처리군에서 측정된 마커의 감소를 유발한다는 것을 보여준다. 예를 들어, 20일 차에, 검출된 CA19-9 마커의 수준은 약 40-60 U/mL의 범위로 PEGPH20를 처리한 모든 그룹에서 유사하였다. 반대로, nab-파클리탁셀 또는 nab-파클리탁셀 + 젬시타빈을 처리한 동물에서 CA19-9 마커의 수준은 PEGPH20도 처리되는 동물의 약 두 배였고 약 110 U/mL이었다. 젬시타빈만을 단독 처리한 동물은 비히클만 처리되는 대조군과 거의 유사한 CA19-9 수준을 나타내었다. 그러므로, 결과는 PEGPH20 + nab-파클리탁셀로 처리된 동물은 nab-파클리탁셀만 단독 처리되는 동물에 비해 감소된 CA19-9 수준을 갖는다는 것; PEGPH20

+ 켈시타빈으로 처리되는 동물은 켈시타빈만 단독 처리된 동물에 비해 감소된 CA19-9 수준을 갖는다는 것; 및 PEGPH20 + nab-파클리탁셀 + 켈시타빈으로 처리되는 동물은 오직 nab-파클리탁셀 + 켈시타빈만 처리된 동물에 비해 감소된 CA19-9 수준을 갖는다는 것을 보여준다. PEGPH20 + nab-파클리탁셀 + 켈시타빈으로 처리된 동물의 경우, PEGPH20없이 nab-파클리탁셀 + 켈시타빈이 처리된 동물에 비해 CA19-9가 49% 감소되었다.

[0643] CEA 마커가 측정되었을 때 결과는 유사하였다. 이 마커를 사용하여, 결과는 CEA의 수준이 이 군에서 CEA가 약 20 내지 25 ng/mL 에서 측정된 비히클 처리 대조군과 비교하여 nab-파클리탁셀만 단독 처리된 동물에서 20일차에 많이 변화하지 않았음을 보여준다. 켈시타빈 또는 nab-파클리탁셀 + 켈시타빈이 처리된 동물에서 CEA 마커는 20일차에 약 15 ng/mL로 일부 감소하였다. PEGPH20의 존재 하에서, 측정되는 마커의 수준은 PEGPH20이 처리되지 않은 군과 비교하여 상당히 감소하였다. 예를 들어, PEGPH20 만이 처리된 동물에서, 20 일차에 측정된 CEA는 약 7-8 ng/mL이었다. PEGPH20 + 켈시타빈, PEGPH20 +nab-파클리탁셀, 또는 PEGPH20 + nab-파클리탁셀 + 켈시타빈이 처리된 동물에서, 20 일 차의 CEA의 수준은 너무 낮아 ELISA에 의해 정량화할 수 없었다.

[0644] 실시예 3

[0645] rHuPH20 발현 세포주

[0646] A. 초기 가용성 rHuPH20-발현 세포주의 생성

[0647] 중국 햄스터 난소(Chinese Hamster Ovary, CHO) 세포를 HZ24 플라스미드 (서열번호 52에 기재)로 형질감염시켰다. 가용성 rHuPH20 발현을 위한 HZ24 플라스미드 벡터는 pCI 벡터 백본 (Promega), 인간 PH20 히알루로니다아제 (서열번호:49)의 아미노산 1 내지 482를 암호화하는 DNA, ECMV 바이러스로부터 유래된 내부 리보솜 유입점 (internal ribosomal entry site, IRES) (Clontech), 및 마우스 디하이드로엽산 환원효소 (dihydrofolate reductase, DHFR) 유전자를 함유한다. pCI 벡터 백본은 또한 베타 락타마아제 저항성 유전자 (AmpR), f1 복제기점, 사이토메갈로바이러스(Cytomegalovirus) 전초기 인핸서(immediate-early enhancer)/프로모터 부위 (CMV), 키메라 인트론, 및 SV40 후기 폴리아데닐화 신호(SV40)를 포함한다. 가용성 rHuPH20 구조를 암호화하는 DNA는 NheI 자리 및 인간 PH20의 천연 35 아미노산 신호 서열의 아미노산 위치 1에서 메티오닌을 암호화하는 DNA 전의 코작(Kozak) 공통 서열, 및 서열번호 1에 기재된 인간 PH20 히알루로니다아제의 아미노산 위치 482에 상응하는 티로신을 암호화하는 DNA 뒤, BamHI 제한효소 자리 앞의 종결 코돈을 포함한다. 따라서, 구축물 pCI-PH20-IRES-DHFR-SV40pa (HZ24)는 내부 리보솜 유입점(IRES)에 의해 분리되고, 인간 PH20의 아미노산 1 내지 482(서열번호 3에 기재된) 및 마우스 디하이드로엽산 환원효소의 아미노산 1 내지 186(서열번호 53에 기재된)을 암호화하는 CMV 프로모터에 의해 유도되는 단일 mRNA 종을 생성한다.

[0648] 4 mM 글루타민 및 18 ml/L 플루로닉(Pluronic) F68/L(Gibco)이 보충된, DHFR(-) 세포용 GIBCO 변형 CD-CHO 배지에서 성장하는 비-형질감염된 CHO 세포를 형질감염을 위해 준비한 진탕 플라스크에 0.5×10^6 세포/ml로 접종하였다. 세포를 120 rpm으로 진탕시키면서, 습식배양기에서 5% CO₂, 37 °C로 성장시켰다. 기하급수적으로 성장하는 비-형질감염된 CHO 세포의 생존력을 형질감염 전에 시험하였다.

[0649] 비-형질감염된 CHO 세포 배양물의 6천만 생존세포를 펠렛화하고, 2x 형질감염 완충액(2x HeBS: 40 mM Hepes, pH 7.0, 274 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.4 mM Na₂HPO₄, 12 mM 텍스트로오스) 0.7 mL 내에 2×10^7 세포밀도로 재현탁시켰다. 재현탁된 세포의 각각의 분액에, 선형 HZ24 플라스미드(Cla I(New England Biolabs)로 밤새 소화시켜 선형화됨) 0.09 mL(250 µg)를 첨가하고, 상기 세포/DNA 용액을 실온에서 0.4 cm gap BTX(Gentronics) 전기천공 큐벳 내로 이동시켰다. 전기천공 음성대조군은 상기 세포와 플라스미드 DNA를 혼합하지 않은 것으로 실시하였다. 상기 세포/플라스미드 혼합물을 330V 및 960 µF 또는 350V 및 960 µF의 캐패시터 방전으로 전기천공하였다.

[0650] 전기천공 후에 큐벳으로부터 상기 세포를 제거하여, 4 mM의 글루타민 및 18 ml/L의 플루로닉 F68/L(Gibco)이 보충된, DHFR(-) 세포용 변형된 CD-CHO 배지 5 mL 내로 옮기고, 습식배양기에서 5% CO₂, 37°C에서 2일 동안 선별 없이 6-웰 조직배양 플레이트의 웰 내에서 성장하도록 하였다.

[0651] 전기천공 2일 후, 조직배양 배지 0.5 mL를 각각의 웰로부터 제거하고, 실시예 6에 기술된 미세탁도 분석법을 이용하여, 히알루로니다아제 활성의 존재를 시험하였다. 히알루로니다아제 활성이 가장 높게 나타내는 세포들을 조직 배양 웰로부터 수집하고, 계수하여 mL당 1×10^4 내지 2×10^4 개의 생존세포가 되도록 희석하였다. 세포 현탁액 0.1 mL 분액을 5개의 96 웰 원형 바닥 조직배양 플레이트의 각각의 웰로 옮겼다. GlutaMAX™-1 보충물질

(GIBCO™, Invitrogen Corporation) 4 mM 을 함유하고 하이포크산틴(hypoxanthine) 및 티미딘(thymidine) 보충 물을 첨가하지 않은 CD-CHO 배지 (GIBCO)의 100 마이크로리터를 세포를 함유하는 웰에 첨가하였다(최종 부피는 0.2 mL).

[0652] 10개의 클론을 메토틱렉세이트(methotrexate) 부재 하에서 성장시킨 5개의 플레이트로부터 확인하였다. 이 중 6 개의 HZ24 클론을 배양물 내에서 확장시키고, 단일세포 현탁액으로서 진탕 플라스크 내로 옮겼다. 클론 3D3, 3E5, 2G8, 2D9, 1E11 및 4D10을 맨위 왼쪽 웰에서 5000개 세포로 시작하여, 플레이트의 아래로 1:2로, 그리고 플레이트를 가로질러 1:3으로 세포를 희석하는 이차원 무한희석전략을 이용하여 96-웰 원형 바닥 조직배양 플레이트 내로 플레이트링하였다. 희석된 클론을 배양물내에 초기 몇 일 동안 필수성장인자들을 제공하기 위하여 웰당 500개의 비-형질감염된 DG44 CHO 세포의 백그라운드에서 성장시켰다. 서브클론당, 50nM 메토틱렉세이트를 함유한 플레이트 5개 및 메토틱렉세이트 부재의 플레이트 5개를 가지는, 10개의 플레이트를 만들었다.

[0653] 클론 3D3는 24개의 가지적인 서브클론을 생산하였다(메토틱렉세이트 미처리로부터 13개, 및 50 nM 메토틱렉세이트 처리로부터 11개). 유의적인 히알루로니다아제 활성이 24개 서브클론 중 8개의 상층액에서 측정되었으며(>50 유닛/mL), 상기 8개의 서브클론을 T-25 조직배양 플라스크 내로 확장시켰다. 메토틱렉세이트 처리 프로토콜로부터 분리된 클론을 50nM 메토틱렉세이트 존재 하에 확장시켰다. 클론 3D35M을 진탕 플라스크에서 500nM 메토틱렉세이트에서 추가로 확장시켜 1,000 유닛/ml 히알루로니다아제 활성을 초과하는 생산하는 클론을 생성하였다(클론 3D35M; 또는 Gen1 3D35M). 그 다음 3D35M 세포의 마스터 세포은행(master cell bank, MCB)을 준비하였다.

[0654] **B. 가용성 rHuPH20을 발현하는 제 2 세대 세포주 생성**

[0655] 실시예 3A에서 기술된 Gen1 3D35M 세포주를 더 고수준의 메토틱렉세이트로 적응시켜 2세대(Gen2) 클론을 생산하였다. 확립된 메토틱렉세이트-함유 배양물로부터 4 mM GlutaMAX-1™ 및 1.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 CD CHO 배지 내로 3D35M 세포를 접종하였다. 세포를 37°C, 7% CO₂ 습식배양기에서 46일의 기간에 걸쳐 성장시키고, 이들을 9번 계대함으로써 더 고수준의 메토틱렉세이트로 적응시켰다. 상기 증폭된 세포집단을 2.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 96-웰 조직배양 플레이트에서 한계희석으로 클로닝하였다. 약 4주 후, 클론을 확인하고, 확장을 위해 클론 3E10B를 선택하였다. 3E10B 세포를 20 계대 동안 4 mM GlutaMAX-1™ 및 2.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 CD CHO 배지에서 성장시켰다. 3E10B 세포주의 마스터 세포은행(MCB)을 만들고 동결시켰으며 후속연구에 사용하였다.

[0656] 4 mM GlutaMAX-1™ 및 4.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 CD CHO 배지에서 3E10B 세포를 배양함으로써 세포주를 계속 증폭하였다. 12 번째 계대후, 세포를 연구세포은행(research cell bank, RCB)으로서 바이알에 동결시켰다. RCB의 한 바이알을 해동하고, 8.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 배지에서 배양하였다. 5일 후, 배지내 메토틱렉세이트 농도를 16.0 μM로, 그리고 나서 18일 후에는 20.0 μM로 증가시켰다. 20.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 배지내 8번째 계대 유래의 세포를 4 mM GlutaMAX-1™ 및 20.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 CD CHO 배지를 함유한 96-웰 조직배양 플레이트에서 한계희석으로 클로닝하였다. 5 내지 6주 후 클론을 확인하고, 20.0 μM 메토틱렉세이트를 함유한 배지에서 확장을 위해 클론 2B2를 선택하였다. 11번째 계대후, 2B2 세포를 연구세포은행(RCB)으로서 바이알에 동결시켰다.

[0657] 생성된 2B2 세포는 가용성 재조합 인간 PH20(rHuPH20)을 발현하는 디하이드로엽산 환원효소 결핍(dhfr-) DG44 CHO 세포이다. 가용성 PH20은 약 206 카피(copy)/세포의 복제수로 2B2 세포에 존재한다. rHuPH20-특이적인 프로브를 이용한 Spe I-, Xba I- 및 BamH I/Hind III-소화된 게놈 2B2 세포 DNA의 서던블롯 분석은 다음의 제한효소분해 프로파일을 나타내었다: Spe I로 소화된 DNA에서 ~7.7kb의 한 개의 주된 혼성화밴드 및 네 개의 작은 혼성화밴드(~13.9, ~6.6, ~5.7 및 ~4.6kb); Xba I으로 소화된 DNA에서 ~5.0 kb의 한 개의 주된 혼성화밴드 및 두 개의 작은 혼성화밴드(~13.9 및 ~6.5kb); BamH I/Hind III으로 소화된 2B2 DNA를 이용하여 관찰된 ~1.4kb의 한 개의 단일 혼성화밴드. mRNA 전사체의 서열분석은 유래된 cDNA(서열번호 56)가 위치 1131에서, 예상했던 시토신(C) 대신에 티미딘(T)인 것으로 관찰되는, 하나의 염기쌍 차이를 제외하고 참조서열(서열번호: 49)과 동일함을 나타내었다. 이는 아미노산 서열에는 영향이 없는, 침묵성 돌연변이(silent mutation)이다.

[0658] **실시예 4**

[0659] **rHuPH20의 생산과 정제**

[0660] **A. 300L 생물반응기 세포배양물에서 Gen2 가용성 rHuPH20의 생산**

[0661] HZ24-2B2 세포의 바이알(실시예 3B)을 해동하고, 20 μM 메토틱렉세이트 및 GlutaMAX-1™(Invitrogen)이 보충

된 CD-CHO 배지(Invitrogen, Carlsbad, CA)에서 진탕 플라스크로부터 36 L 스피너(spinner) 플라스크를 통하여 확장시켰다. 요약하면, 세포의 바이알을 37℃ 항온조에서 해동하고, 배지를 첨가하여 세포를 원심분리하였다. 세포를 신선배지 20 mL가 있는 125 mL 진탕 플라스크에서 재-현탁시키고, 37℃, 7% CO₂ 배양기에 두었다. 세포를 125 mL 진탕 플라스크에서 40 mL까지 확장시켰다. 세포밀도가 1.5×10^6 세포/mL 초과에 도달했을 때, 배양물을 100 mL 배양부피로 125 mL 스피너 플라스크 내로 확장시켰다. 플라스크를 37℃, 7% CO₂에서 배양하였다. 세포밀도가 1.5×10^6 세포/mL 초과에 도달했을 때, 배양물을 200 mL 배양부피로 250 mL 스피너 플라스크 내로 확장시키고, 플라스크를 37℃, 7% CO₂에서 배양하였다. 세포밀도가 1.5×10^6 세포/mL 초과에 도달했을 때, 배양물을 800 mL 배양부피로 1 L 스피너 플라스크 내로 확장시키고, 37℃, 7% CO₂에서 배양하였다. 세포밀도가 1.5×10^6 세포/mL 초과에 도달했을 때, 배양물을 5000 mL 배양부피로 6 L 스피너 플라스크 내로 확장시키고, 37℃, 7% CO₂에서 배양하였다. 세포밀도가 1.5×10^6 세포/mL 초과에 도달했을 때, 배양물을 32 L 배양부피로 36 L 스피너 플라스크 내로 확장시키고, 37℃, 7% CO₂에서 배양하였다.

[0662] 400 L 반응기를 멸균하고, CD-CHO 배지 230 mL를 첨가하였다. 사용전, 반응기의 오염을 점검하였다. 약 30 L의 세포를 36 L 스피너 플라스크로부터 집중 밀도가 mL당 4.0×10^5 개 생존세포일 때 총 부피 260 L로, 400 L 생물반응기(Braun)로 옮겼다. 파라미터는 온도설정점, 37℃; 임펠러속도 40 내지 55 RPM; 용기압력: 3 psi; 공기 분사(Sparge) 0.5 내지 1.5 L/분; 공기 오버레이(Overlay): 3 L/분이었다. 세포계수, pH 검사(verification), 배지분석, 단백질 생산 및 보유(retention)를 위해 반응기를 매일 샘플링하였다. 또한, 작동 동안에 영양분 피드(nutrient feeds)를 첨가하였다. 120 시간(5일차)에, 피드#1 배지(4×CD-CHO + 33 g/L 글루코오스 + 160 mL/L Glutamax-1™ + 83 mL/L 이스트레이트(Yeastolate) + 33 mg/L rHuInsulin) 10.4 L를 첨가하였다. 168 시간(7일차)에, 피드#2 (2×CD-CHO + 33 g/L 글루코오스 + 80 mL/L Glutamax-1™ + 167 mL/L 이스트레이트(Yeastolate) + 0.92 g/L 부티르산 나트륨(Sodium Butyrate)) 10.8 L를 첨가하고, 배양온도를 36.5℃로 변경하였다. 216 시간(9일차)에, 피드#3 (1×CD-CHO + 50 g/L 글루코오스 + 50 mL/L Glutamax-1™ + 250 mL/L 이스트레이트(Yeastolate) + 1.80 g/L 부티르산 나트륨) 10.8 L를 첨가하고, 배양온도를 36℃로 변경하였다. 264 시간(11일차)에, 피드#4 (1×CD-CHO + 33 g/L 글루코오스 + 33 mL/L Glutamax-1™ + 250 mL/L 이스트레이트(Yeastolate) + 0.92 g/L 부티르산 나트륨) 10.8 L를 첨가하고, 배양온도를 35.5℃로 변경하였다. 피드배지의 첨가는 생산의 최종단계에서 가용성 rHuPH20의 생산을 크게 향상시키는 것으로 관찰되었다. 14일 또는 15일에, 또는 세포의 생존률이 40% 미만으로 감소했을 때, 반응기를 수확하였다. 상기 공정은, 1200만 세포/mL의 최대세포밀도를 갖고 mL당 17000 유닛의 최종 생산성 결과를 가져왔다. 수확시, 시험관내 및 생체내의 마이코플라스마, 미생물부하도(bioburden), 내독소 및 바이러스, 투과전자현미경(TEM) 및 효소활성을 위해 배양물을 샘플링하였다.

[0663] 4-8 μm 등급의 규조토(diatomaceous earth) 층 및 1.4-1.1 μm 등급의 규조토 층을 각각 함유하는, 평행한 4 개의 밀리스택 여과시스템 모듈(Millistak filtration system module) (Millipore) 이어서 셀룰로오스 막을 통하여 연동펌프에 의해 배양물을 펌핑한 다음, 0.4-0.11 μm 등급의 규조토 층 및 0.1 μm 미만 등급의 규조토 층을 함유하는 2번째 단일 밀리스택 여과시스템(Millipore), 그 다음 셀룰로오스 막을 통과 후, 그 다음 350 L 용량의 멸균 일회용 연성 백 내로 0.22 μm 최종필터를 통과시켰다. 수확된 세포배양 유체를 10 mM EDTA 및 10 mM 트리스로 pH 7.5 까지 보충하였다. 4 개의 Sartoslice TFF 30kDa 분자량 차단(MWCO) 폴리에테르 설폰(PES) 필터(Sartorius)를 이용하여 접선유동여과(TFF) 장치로 배양물을 10× 농축시킨 다음, 0.22 μm 최종필터 내로, 50 L 멸균 저장백 내로 10 mM 트리스, 20 mM Na₂SO₄, pH 7.5로 10× 완충액-교환시켰다.

[0664] 농축되고 정용여과(diafilter)된 수확물을 바이러스에 대하여 불활성화시켰다. 바이러스 불활성화 전에, 10% 트리톤 X-100, 3% 트리(n-부틸) 포스페이트(TNBP) 용액을 준비하였다. 농축되고 정용여과된 수확물을 Q 컬럼에서 정제하기 직전 36 L 유리 반응용기에서 1 시간 동안 1% 트리톤 X-100, 0.3% TNBP에 노출시켰다.

[0665] **B. Gen2 가용성 rHuPH20의 정제**

[0666] Q 세파로스(Pharmacia) 이온교환 컬럼(9 L 레진, H=29 cm, D=20 cm)을 준비하였다. pH, 전도도 및 내독소(LAL) 분석의 결정을 위해서 세척시료를 수집하였다. 컬럼부피 5배의 10 mM 트리스, 20 mM Na₂SO₄, pH 7.5로 컬럼을 평형화하였다. 바이러스 불활성화후, 농축되고 정용여과된 수확물(실시에 4A)을 100 cm/시간의 유속으로 Q 컬럼

상에 로딩하였다. 컬럼부피 5배의 10 mM 트리스, 20 mM Na₂SO₄, pH 7.5 및 10 mM Hepes, 50 mM NaCl, pH 7.0으로 컬럼을 세척하였다. 10 mM Hepes, 400 mM NaCl, pH 7.0으로 0.22 μm 최종필터 내로, 멸균백 내로 단백질을 용출시켰다. 용출물 시료의 미생물부하도, 단백질 농도 및 히알루로니다아제 활성을 시험하였다. 상기 교환의 시작과 끝에 A₂₈₀ 흡광도를 측정하였다.

[0667] 페닐-세파로스(Pharmacia) 소수성 상호작용 크로마토그래피를 다음으로 실시하였다. 페닐-세파로스(PS) 컬럼 (19-21 L 레진, H=29 cm, D=30 cm)을 준비하였다. 세척물을 수집하고, pH, 전도도 및 내독소(LAL 분석)를 위하여 샘플링하였다. 컬럼을 컬럼부피 5배의 5 mM 포타슘 포스페이트, 0.5 M 암모늄 설페이트, 0.1 mM CaCl₂, pH 7.0으로 평형화시켰다. Q 세파로스 컬럼 유래의 단백질 용출물에 최종농도가 각각 5 mM, 0.5 M 및 0.1 mM 을 얻기 위하여 2 M 암모늄 설페이트, 1 M 포타슘 포스페이트 및 1 M CaCl₂ 모액을 보충하였다. 단백질을 100 cm/시간의 유속으로 PS 컬럼 상에 로딩하고, 컬럼 통과유체(flow thru)를 수집하였다. 컬럼을 100 cm/시간으로 5 mM 포타슘 포스페이트, 0.5 M 암모늄 설페이트 및 0.1 mM CaCl₂ pH 7.0으로 세척하고, 세척물을 수집된 통과유체에 첨가하였다. 컬럼 세척물과 합쳐진, 통과유체를 멸균백 내로 0.22 μm 최종필터를 통과시켰다. 미생물부하도, 단백질 농도 및 효소활성을 위하여 통과유체를 샘플링하였다.

[0668] 아미노페닐 보로네이트 컬럼(ProMedics)을 준비하였다. 세척물을 수집하고, pH, 전도도 및 내독소(LAL 분석)를 위하여 샘플링하였다. 컬럼을 컬럼부피 5배의 5 mM 포타슘 포스페이트, 0.5 M 암모늄 설페이트로 평형화시켰다. 정제된 단백질을 포함한 PS 통과유체를 100 cm/시간의 유속으로 아미노페닐 보로네이트 컬럼 상에 로딩하였다. 컬럼을 5 mM 포타슘 포스페이트, 0.5 M 암모늄 설페이트, pH 7.0으로 세척하였다. 컬럼을 20 mM 비신, 0.5 M 암모늄 설페이트, pH 9.0으로 세척하였다. 컬럼을 20 mM 비신, 100 mM 염화나트륨, pH 9.0으로 세척하였다. 단백질을 50 mM Hepes, 100 mM NaCl, pH 6.9로 용출하고, 멸균백 내로 멸균필터를 통과시켰다. 용출된 시료의 미생물부하도, 단백질 농도 및 효소활성을 시험하였다.

[0669] 히드록시아파타이트(HAP) 컬럼(BioRad)을 준비하였다. 상기 세척물을 수집하고, pH, 전도도 및 내독소(LAL 분석)를 시험하였다. 5 mM 포타슘 포스페이트, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl₂, pH 7.0으로 컬럼을 평형화하였다. 아미노페닐 보로네이트 정제 단백질을 5 mM의 포타슘 포스페이트 및 0.1 mM CaCl₂의 최종 농도로 보충하고, 100 cm/시간의 유속으로 HAP 컬럼 상에 로딩하였다. 5 mM 포타슘 포스페이트, pH 7, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl₂로 컬럼을 세척하였다. 다음에 10 mM 포타슘 포스페이트, pH 7, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl₂로 컬럼을 세척하였다. 단백질을 70 mM 포타슘 포스페이트, pH 7.0으로 용출시키고, 멸균백 내로 0.22 μm 멸균필터를 통과시켰다. 용출된 시료의 미생물부하도, 단백질 농도 및 효소활성을 시험하였다.

[0670] 그 다음 HAP 정제된 단백질을 바이러스 제거필터로 통과시켰다. 멸균된 Viosart 필터(Sartorius)를 먼저 2 L의 70 mM 포타슘 포스페이트, pH 7.0 로 세척하여 준비하였다. 사용전, pH 및 전도도를 위하여 여과된 완충액을 샘플링하였다. HAP 정제된 단백질을 20 nM 바이러스 제거필터를 통하여 연동펌프를 거쳐 펌핑하였다. 70 mM 포타슘 포스페이트, pH 7.0 내 여과된 단백질을 멸균백 내로 0.22 μm 멸균필터를 통과시켰다. 바이러스 여과된 시료의 단백질 농도, 효소활성, 올리고당, 단당류 및 시알산 프로파일링을 시험하였다. 또한 시료의 공정 관련 불순물(process related impurities)을 시험하였다.

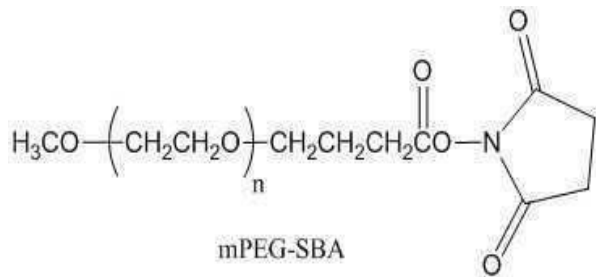
[0671] 실시예 5

[0672] rHuPH20의 PEG화의 준비

[0673] 이 실시예에서, rHuPH20은 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜) 부탄산(mPEG-SBA-30K)의 선형 N-하이드록시숙신이미딜 에스테르 (mPEG-SBA-30K)와 효소 반응에 의해 PEG화되었다.

[0674] A. mPEG-SBA-30K의 준비

[0675] PEGPH20을 생성시키기 위해, rHuPH20 (크기가 약 60 kDa임)을 약 30 kDa의 분자량을 갖는 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜) 부탄산의 선형 N-하이드록시숙신이미딜 에스테르 (mPEG-SBA-30K)에 공유결합으로 컨주게이션시켰다. mPEG-SBA의 구조는 하기 반응식에 나타내었고, 여기에서 $n \approx 681$ 이다.



[0676]

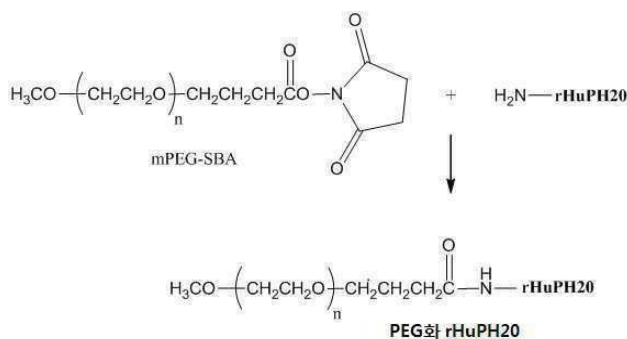
[0677] rHuPH20을 PEG화하는데 사용된 mPEG-SBA-30K를 제조하기 위해 사용된 방법은 예를 들어, 미국 특허 제5,672,662 호에 기술되어 있다. 요약하면, mPEG-SBA-30K를 하기 절차에 따라 제조하였다:

[0678] 디옥산에 용해된 에틸 말로네이트 (2 당량)의 용액을 질소 기체 하에 수소화나트륨 (2 당량) 및 톨루엔에 적가하였다. mPEG 메탄 술포네이트 (1 당량, MW 30 kDa, 쉬어워터(Shearwater))를 톨루엔에 용해시키고, 상기 혼합물에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 약 18 시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 원래 부피의 절반으로 농축시키고, 10% 수성 NaCl 용액으로 추출하고, 1% 수성 염산으로 추출하고, 수성 추출물을 혼합하였다. 수집된 수성층을 디클로로메탄 (3x)으로 추출하고, 유기층을 황산마그네슘으로 건조, 여과하고, 건조물이 되도록 증발시켰다. 생성된 잔류물을 염화나트륨을 함유하는 1 N 수산화나트륨에 용해시키고, 혼합물을 1 시간 동안 교반하였다. 6 N 염산을 첨가하여 혼합물의 pH를 약 3으로 조정하였다. 혼합물을 디클로로메탄 (2x)으로 추출하였다.

[0679] 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조, 여과, 농축시키고, 냉 디에틸 에테르에 부었다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 진공 하에서 건조시켰다. 생성된 화합물을 디옥산에 용해시키고, 8시간 동안 환류시킨 후, 건조물이 되도록 농축시켰다. 생성된 잔류물을 물에 용해시키고, 디클로로메탄 (2x)으로 추출하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 용액을 회전식 증발에 의해 농축시킨 후, 냉 디에틸 에테르에 부었다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 진공 하에서 건조시켰다. 생성된 화합물 (1 당량)을 디클로로메탄에 용해시키고, N-히드록시숙신이미드(2.1 당량)를 첨가하였다. 용액을 0℃로 냉각하고, 디클로로메탄 중 디시클로헥실카르보디이미드 (2.1 당량)의 용액을 적가하였다. 용액을 실온에서 약 18 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 여과, 농축시키고, 디에틸 에테르에서 침전시켰다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, 진공 하에서 건조시켜, mPEG-SBA-30K 분말을 얻었고, 이를 ≤ -15 ℃에서 동결하였다.

[0680] B. rHuPH20으로의 mPEG-SBA-30K의 컨주게이션

[0681] PEGPH20을 제조하기 위하여, 하기에서 나타낸 바와 같이, mPEG-SBA-30K을, rHuPH20 및 mPEG 사이에 안정한 아미드 결합을 제공하는, 공유결합 컨주게이션(covalent conjugation)에 의해 rHuPH20의 아미노기(들)에 커플링시켰고, 여기에서 $n \approx 681$ 이다.



[0682]

[0683] 컨주게이션 전에, 실시예 4B에서 얻은 정제된 rHuPH20 벌크 단백질을, 0.2 m² 여과 영역을 가진 10 kDa 폴리에테르설포네(PES) 접선유동여과(TFF) 카세트(Sartorius)를 이용하여, 10 mg/mL로 농축하였고, 70 mM 포타슘 포스페이트, pH 7.2에 대하여 완충액을 교환하였다. 농축된 단백질은 사용 전까지 2-8 ℃에서 보관하였다.

[0684] rHuPH20을 컨주게이션시키기 위해, mPEG-SBA-30K (Nektar)를 2시간 미만 동안 실온 압조건에서 해동시켰다. 배

치(batch)의 크기에 맞추어, 멸균된 3" 교반 막대를 1 또는 3 리터의 엘렌마이어(Erlenmeyer) 플라스크 안에 넣고, 완충액을 교환시킨 rHuPH20 단백질을 첨가하였다. 진공 후드 하에서, rHuPH20 1 g 당 mPEG-SBA-30K 건조분말 5 g(mPEG-SBA-30K: rHuPH20가 10:1의 몰비)을 플라스크에 첨가하고 혼합물을 10 분간 또는 mPEG-SBA-30K 가 완전히 용해될때까지 혼합하였다. 교반 속도는 거품이 발생되지 않고 소용돌이가 발생하는 정도로 하였다.

[0685] 그 후 class 100 후드 하에서 연동 펌프를 이용해 용액을 펌핑하여, 0.22 μ m 폴리스티렌, 셀룰로오스 아세테이트 필터 캡슐(Corning 50 mL Tubetop filter)을 통해 멸균된 3" 교반 막대가 들어있는 새 1 또는 3 리터 엘렌마이어 플라스크로 용액을 여과시켰다. PEGPH20 반응 혼합물의 부피는 질량(1 g/mL 밀도)에 의해 결정되었고, 여과에 사용한 0.22 μ m 필터는 사용-후 완전성 검사(post-use integrity test)를 거쳤다.

[0686] 혼합물을 그 후 교반 플레이트상에서 2-8 $^{\circ}$ C로 위치시켰고, 20 $\pm$ 1 시간 동안 암실에서 혼합되었다. 교반 속도는 거품을 일으키지 않으면서 소용돌이가 발생할 정도로 다시 설정되었다. 엘렌마이어 용기 전체를 호일로 싸서 용액을 빛으로부터 보호하였다. 혼합 후에, 1 M 글리신을 최종 농도가 25 mM이 될 때까지 첨가하여 반응을 종결시켰다. pH와 전도도(conductivity)를 측정하기 위하여 용기로부터 시료를 제거하였다. 5 mM 트리스 염기(5.65 L/L) 및 5 mM 트리스, 10 mM NaCl, pH 8.0(13.35 L/L) 용액을 첨가하여 Q 세파로스 정제를 진행할 수 있도록 pH와 전도도를 조정하였다.

[0687] 컬럼부피 5배(36 L)의 5 mM 트리스, 10 mM NaCl, pH 8.0으로 QFF 세파로스(GE Healthcare) 이온 교환 컬럼 (높이 = 21.5-24.0 cm, 지름 = 20 cm)을 평형화하여 준비하였다. 키주게이션 산물은 QFF 칼럼에 유속 95 cm/시간으로 적재되었다. 컬럼을 그 후 평형 완충액(5 mM 트리스, 10 mM NaCl, pH 8.0) 11 L로 유속 95 cm/시간으로 흘러 세척하고, 이어서 평형 완충액 25 L를 유속 268 cm/시간으로 흘러 세척하였다. 그 후 5 mM 트리스, 130 mM NaCl, pH 8.0을 유속 268 cm/시간으로 흘러 단백질 산물을 용출시켰다. 그 결과 얻은 정제된 PEGPH20을 0.2 m² 여과 영역을 가진 30 kDa 폴리에테르설폰(PES) 접선유동여과(TFF) 카세트(Sartorius)를 이용하여, 3.5 mg/mL로 농축하였고, pH 6.5에서 10 mM 히스티딘, 130 mM NaCl에 대하여 완충액을 교환하였다. 그 결과 얻은 물질을 하기 실시예 6에 기술된 바와 같이, 효소 활성을 시험하였다. PEG화 rHuPH20 물질을 3.5 mg/mL의 농도로(최종 효소 활성 140,000 U/mL) 실리코화된 브로모부틸 고무 스톱퍼(stopper)와 알루미늄 플립 오프 밀봉(seal)이 장착된 5 mL 유리 바이알에 3 mL 부피가 되도록 채우고, 동결시켰다(-80 $^{\circ}$ C 냉동고에서 밤새 동결시키고, 장기보관을 위해 -20 $^{\circ}$ C 냉동고로 이동시킴). PEG화 rHuHP20은 rHuHP20 1 몰당 약 4.5 몰의 PEG를 함유하고 있다.

[0688] **실시예 6**

[0689] **가용성 rHuPH20의 히알루로니다아제 활성의 결정**

[0690] 세포배양물, 혈장, 정제 분획 및 정제된 용액과 같은 시료 내의 가용성 rHuPH20의 히알루로니다아제 활성은, 히알루론산이 혈청 알부민과 결합할 때 불용성 침전물을 형성하는 것에 기초한 비탁법(turbidimetric assay) 또는 플라스틱 다중-웰 미세액가 플레이트에 비공유결합으로 결합된 비오틴화된 히알루론산(b-HA) 기질의 분해에 의한 효소적으로 활성인 rHuPH20 또는 PEGPH20의 양을 측정하는 비오틴화-히알루론산 기질 검정을 이용하여 측정되었다.

[0691] **A. 미세탁도 검정(Microturbidity Assay)**

[0692] 가용성 rHuPH20을 정해진 기간의 시간(10 분) 동안 히알루론산 나트륨(히알루론산)과 함께 배양한 다음, 산성화된 혈청 알부민을 첨가하여 소화되지 않은 히알루론산 나트륨을 침전시킴으로써 가용성 rHuPH20의 히알루로니다아제 활성이 측정되었다. 생성된 시료의 탁도는 30 분의 현상(development) 기간 후에 640 nm에서 측정되었다. 히알루론산 나트륨 기질에 대한 효소 활성에서 유래한 탁도 감소는 가용성 rHuPH20 히알루로니다아제 활성의 척도이다. 상기 방법은 가용성 rHuPH20 검정 상용표준품(working reference standard)의 희석물로 생성된 검정곡선을 이용하여 수행되며, 이 검정곡선과 비교하여 시료활성 측정이 이루어졌다.

[0693] 시료 희석물이 효소 희석 용액(Enzyme Diluent Solutions)에서 준비되었다. 효소 희석 용액은 가수분해된 젤라틴 33.0 $\pm$ 0.05 mg을 50 mM PIPES 반응 완충액(140 mM NaCl, 50 mM PIPES, pH 5.5) 25.0 mL 및 멸균 주사용수(sterile water for injection; SWFI) 25.0 mL에 용해하고, 25% 부미네이트(Buminate) 용액 0.2 mL를 상기 혼합물 내로 희석하고 30 초간 볼텍싱(vortexing)하여 준비되었다. 이는 사용하기 2 시간 이내에 수행되었고, 필요할 때까지 얼음위에서 보관되었다. 시료는 주산된 1-2 U/mL로 희석되었다. 일반적으로, 각 단계당 최대희석은 1:100을 초과하지 않았으며, 초기 희석을 위한 초기 시료의 크기는 20 μ L 이상이였다. 검정을 수행하는데 필요한 최소 시료 부피는 다음과 같았다: 공정 중 시료(In-process Samples), FPLC분획: 80 μ L; 조직배양 상청액: 1 mL; 농축된 물질(Material) 80 μ L; 정제된 또는 최종단계의 물질(Material): 80 μ L. 희석물은 저 단백질

결합(Low Protein Binding) 96-웰 플레이트에서 3반복적으로(triplicate)로 만들어졌고, 각각의 희석물 30 μ L 은 Optilux 블랙/클리어 보텀 플레이트(BD 바이오사이언스(BD BioSciences))로 옮겨졌다.

[0694] 2.5 U/mL 농도를 갖는 공지의 가용성 rHuPH20의 희석물은 표준곡선(Standard Curve)을 작성하기 위해 효소희석 용액에서 제조되었고, 옵틸릭스(Optilux) 플레이트에 3반복적으로 첨가되었다. 희석물은 0 U/mL, 0.25 U/mL, 0.5 U/mL, 1.0 U/mL, 1.5 U/mL, 2.0 U/mL 및 2.5 U/mL을 포함하였다. 효소희석용액 60 μ L를 함유한 “매질바탕 시료(시약 블랭크; Reagent blank)” 웰은 음성대조군으로서 플레이트에 포함되었다. 그리고 나서 플레이트는 덮혔고, 37°C에서 5 분 동안 열블록(heat block)으로 가온되었다. 덮개는 제거되었고 플레이트는 10 초간 진탕되었다. 진탕 후, 플레이트는 열블록에 되돌려졌고, MULTIDROP 384 액체 핸들링 장비는 따뜻한 0.25 mg/mL 히알루론산 나트륨 용액(100 mg 히알루론산 나트륨은 20.0 mL SWFI에 용해함으로써 준비됨. 이는 2 내지 4 시간 동안 또는 완전히 용해될 때까지, 2 내지 8°C에서 부드럽게 회전시키거나/시키고 흔들어 혼합됨)로 프라이밍되었다. 반응 플레이트는 멀티드롭(MULTIDROP) 384로 옮겨졌고, 반응은 시작기를 눌러서 각 웰 내로 히알루론산 나트륨 30 μ L를 분주하여 개시되었다. 그 다음 플레이트는 멀티드롭(MULTIDROP) 384로부터 제거되었고, 플레이트 덮개는 교체되었고 열블록으로 옮기기 전에 10 초간 진탕되었다. 37°C에서 10 분간 플레이트는 배양되었다.

[0695] 멀티드롭(MULTIDROP) 384는 혈청 작업용액(serum working solution)으로 기계(machine)를 프라이밍하고 240 μ L로 부피설정을 변경함으로써 반응이 정지되도록 준비되었다. (500 mM 아세테이트 완충용액 75 mL 내에 혈청 저장용액(Stock Solution) 25 mL[1 부피의 말 혈청(Sigma)을 9 부피의 500 mM 아세테이트 완충용액으로 희석하고, 염산으로 pH를 3.1로 조정함]). 플레이트는 열블록으로부터 제거되어 멀티드롭(MULTIDROP) 384 위에 놓였고, 혈청 작업용액 240 μ L는 웰로 분주되었다. 플레이트는 제거되었고 10 초간 플레이트 리더에서 진탕되었다. 추가 15 분 후에, 시료의 탁도는 640 nm에서 측정되었고, 각 시료의 히알루로니다아제 활성(U/mL로)은 표준곡선에 맞춤(fitting)으로써 결정되었다.

[0696] 비활성(specific activity)(U/mg)은 히알루로니다아제 활성(U/ml)을 단백질 농도(mg/mL)로 나눔으로써 계산되었다.

[0697] B. 비오틴화된 히알루로난 검정

[0698] 비오틴화된 히알루론산 검정은 플라스틱 다중-웰 미세역가 플레이트에 비공유결합으로 결합된 큰 분자량[~ 1.2 메가달톤(megadaltons)] 비오틴화된 히알루론산(b-HA) 기질의 분해에 의해 생물학적 시료 내의 효소적으로 활성인 rHuPH20 또는 PEGPH20의 양을 측정한다. 표준(Standards) 및 시료 내의 rHuPH20 또는 PEGPH20은 b-HA로 코팅된 플레이트에서 37°C로 배양되도록 한다. 일련의 세척 과정을 거친 후에, 잔존하는 분해되지 않은/결합된 b-HA는 스트렙타비딘 호스래디쉬 퍼옥시다제 접합물(컨주게이트; conjugate) (SA-HRP)로 처리된다. 고정화된(immobilized) SA-HRP와 발색기질(chromogenic substrate), 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB) 간의 반응은 푸른색의 용액을 생성한다. 산으로 반응을 정지시킨 후에, 가용성 황색 반응 생성물의 생성은 미세역가 플레이트 분광 광도계를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 읽음으로써 결정되었다. 비오틴화된 히알루론산(b-HA)기질에 대한 효소 활성에 기인한 450 nm에서의 흡광도 감소는 가용성 rHuPH20 히알루로니다아제 활성의 척도이다. 상기 방법은 가용성 rHuPH20 또는 PEGPH20 표준품(reference standard)의 희석으로 생성된 검정곡선을 이용하여 수행되었으며, 시료 활성 측정은 이 검정곡선과 비교하여 이루어졌다.

[0699] 시료의 희석과 캘리브레이터(calibrator)는 검정 희석액(Assay Diluent)에서 준비되었다. 검정 희석액이 1% v/v 혼주 혈장(pooled plasma)(적절한 종으로부터 유래된)을 HEPES 내의 0.1%(w/v) BSA, pH 7.4에 첨가함으로써 준비되었다. 이는 매일 준비되었고, 2-8 °C에서 보관되었다. 예상된 히알루니다아제 수준 뿐만 아니라 종 타입(species type)에 의존하여, 단일 또는 다중 희석액은 적어도 하나의 시료 희석이 검정 곡선 범위 내 포함되는 것이 보장되도록 제조되었다. 시험 시료 희석액(들)의 선별을 가이드하기 위하여, 투여된 히알루로니다아제 용량(dose), 투여 경로, 상기 종의 대략의 혈장 부피 및 시점(time point)에 관하여 공지된 정보는 히알루니다아제 활성 수준을 추산하는데 이용되었다. 각 시료 희석액은 이를 짧은 펄스(brief pulse)-볼텍싱(vortexing)에 의해 준비하는 것과 같이 혼합되었고, 피펫 팁은 각 희석 사이에 교체되었다. 일반적으로, 희석은 최초 50 또는 100 배 희석으로 시작하여, 추가적인 단계적 희석을 하였다. rHuPH20 또는 PEGPH20의 7-포인트 검정곡선(투여된 처리물 의존적)은 rHuPH20에 대해서는 0.004에서 3.0 U/mL의 농도 범위로, PEGPH20에 대해서는 0.037 에서 27 U/mL의 농도 범위로 준비되었다. 각 시험 시료 희석액 100 마이크로리터(100 μ L)와 검정곡선 포인트는, 이전에 0.1 mg/mL로 웰 당 b-HA 100 μ L로 코팅되고 PBS 내의 1.0 % (w/v)의 소 혈청 알부민 250 μ L로 블록(block)되어 있었던 96-웰 미세역가 플레이트 (이뮤론(Immulon) 4HBX, 써모(Thermo))의 웰들에 3 반복적으로 적용되었다. 플레이트(들)은 접착성 플레이트 밀봉으로 덮히고 약 90분 동안 37°C에서 배양되었다. 배양 기간 마지막

에, 접착성 밀봉은 플레이트로부터 제거되었고, 시료는 흡입되었고 플레이트는 자동 플레이트 세척기(BioTek ELx405 Select CW, 프로그램 '4HBX1')를 이용하여 웰 당 300 μ L의 세척 완충액(10 mM 인산염 완충액, 2.7 mM 염화칼륨, 137 mM 염화나트륨, pH 7.4, 0.5 % (v/v) 트윈 20을 갖는, PBST)으로 5 회 세척되었다. 100 마이크로리터의 스트렙타비딘-HRP 접합물 작업용액(working solution)[20 mM 트리스-염산 내의 스트렙타비딘-HRP 접합물(1:5,000 v/v), 137 mM 염화나트륨, 0.025 % (v/v) 트윈 20, 0.1 % (w/v) 소혈청 알부민]은 웰마다 첨가되었다. 플레이트는 밀봉되었고 진탕 없이 빛으로부터 보호된 상태로 주위 온도(ambient temperature)에서 약 60분 동안 배양되었다. 배양 기간 마지막에, 접착성 밀봉은 플레이트로부터 제거되었고, 시료는 흡입되었고, 플레이트는 웰 당 300 μ L의 전술한 세척 완충액으로 5 회 세척되었다. TMB 용액(주위 온도에서)은 각 웰마다 첨가되었고 실온에서 약 5분간 빛으로부터 보호된 상태로 배양되도록 하였다. 그 후 TMB 정지 용액(KPL, Catalog # 50-85-06)은 웰 당 100 μ L씩 첨가되었다. 450 nm에서 각각의 웰의 흡광도는 미세역가 플레이트 분광 광도계를 이용하여 결정되었다. 각 플레이트의 검정곡선 반응은 4-변수 로지스틱 곡선 피트(4-parameter logistic curve fit)를 이용하여 모델링되었다. 각각의 미지의 히알루로니다아제 활성은 검정곡선의 내삽법(interpolation)에 의해 계산되었고, 시료 희석 인자로 보정되었고, U/mL로 보고되었다.

[0700] 실시예 7

[0701] 높은 종양 주위 히알루로난(High Peritumoral Hyaluronan (HA)) 종양 모델에서 PEGPH20 처리의 효과

[0702] 종양 주위 HA의 높은 수준에 대한 PEGPH20의 효과를 평가하기 위해, BxPC3-Has3 종양 세포주는 HA^{high} 마우스 이종이식 종양 모델을 확립하기 위해 제조되었다. BxPC3 세포 (ATCC Cat.No. CRL-1687)는 완전(complete) RPMI 배지를 사용하여 표준 배양 조건 하에 배양되었다. 렌티 바이러스 시스템은 인간 히알루로난 합성 3 cDNA 전사체 (서열번호 212로 기재됨) 발현을 위해 제조되었다. hHAS3 cDNA를 발현하는 제조된 렌티바이러스 벡터는 pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg로 표기되었고 서열번호 213으로 기재되었다. Bx-PC3-Has3 안정한 세포주(stable cell line)는 pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg로 바이러스 감염에 의해 제조되었고, 이어서 히그로마이신(hygromycin)으로 선택되었다. hHAS3 과발현을 위해 감염된 세포는 모든 실험에서 사용되었다.

[0703] HA 수준을 확인하기 위하여, 종양 절편 내 색도(color intensity)는 아페리오 스펙트럼 프로그램(Aperio spectrum program)으로 측정되었다. 종양은 종양 절편의 25% 이상을 염색하는 강한 HA에서 HA^{high}; 종양 절편의 10 내지 25 %를 염색하는 강한 HA에서 HA^{moderate}; 종양 절편의 10% 이하를 염색하는 강한 HA에서 HA^{low}로 등급이 매겨졌다.

[0704] 5 내지 6주령 및 20-25g의 무게를 가진 NCr(nu/nu) 마우스는 고압 종양을 생성하기 위해 우경골 골막(right tial periosteum)에 인접하여 BxPC-3-Has3 세포 ($5 \times 10^6/50 \mu$ L)로 접종되었다. 고형 종양 덩어리의 길이(L) 및 폭(W)은 캘리퍼스에 의해 측정되었고 종양 부피(TV)는 다음과 같이 계산되었다: $(L \times W^2)/2$. 종양의 부피가 직경으로 약 1500 내지 2000 mm³에 도달하였을때, 마우스는 두 처리군으로 나뉘었다: (1) BxPC3 HA^{high}, 비히클 대조군 또는 (2) BxPC HA^{high}, PEGPH20.

[0705] 동물은 0 시간 및 다시 42 시간에 비히클 (10 mM 히스티딘, pH6.5, 130 mM 염화나트륨) 또는 PEGPH20 (4.5 mg/kg)로 투여되었다. 제1차 PEGPH20 또는 비히클 대조군 처리 (48시간에 희생에 앞서, 즉, t= 0시간) 동물은 또한 복강내로 240 mg/kg 젠스타빈으로 및 정맥으로 10 mg/kg 파클리탁셀(Abraxane[®])으로 처리되었다. 희생 2 시간 전 (46 시간)에, 동물은 60 mg/kg HYPOXYPROBE[™](피모니다졸 하이드로클로라이드; Chemicon International, Temecula, CA)과 또한 0.5 ml의 BrdU로 복강내로 처리되었다. 희생 5분 전에 (48시간), 동물은 75% DMSO 1,1'-디옥타데실-3,3,3',3'-테트라메틸인도카보시아닌 퍼클로레이트(1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate)(DiI)에 용해된 0.6 mg/ml 형광 카보시아닌 75 μ L로 정맥내로 처리되었다.

[0706] 동물은 48시간에 희생되었다. 모든 종양은 수거되었고, 조직은 알루미늄 블럭에서 -20 $^{\circ}$ C로 냉각하였고, OCT 배지 (Sakura Finetek, Torrance, CA)로 포매하여 덩고 자르기 전까지 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하였다. 종양 동결 절편(cryosection)은 10 μ m 절편으로 잘렸으며 면역조직화학을 위하여 처리되거나 현미경으로 이미징화되었다. 혈류량과 종양 저산소증(Tumor hypoxia)에 대한 영향이 평가되었다.

[0707] A. 혈류량

[0708] 염색되지 않은, 깨끗한 동결 절편은 형광 현미경 이미징 시스템 (BD CARV II Confocal Imager, Sparks, MD; Quentem 512sc camera (Photometries, Tucson, AZ); MIV2000 motorized x-y stage, 및 MetaMorph System, Sunnyvale, CA)으로 스캔되었다. 전체 종양 절편은 종양 관류(perfusion)를 결정하기 위해 형광 카보시아닌 (DiI) 신호 (들뜸 562 nm/ 방출 624 nm)에 대하여 10X로 스캔되었다. 이미지는 Image-Pro Analyzer 7.0 (Media Cybermetrics, Bethesda, MD)를 이용하여 분석되었다. 전체 종양 면적 및 양성 염색 면적은 결정되었다. 각각의 종양 내 혈류량은 전체 종양 절편에 대한 양성 퍼센트(신호)로 계산되었다.

[0709] 결과를 표 8에 기재하였다. 결과는 PEG-PH20 처리가 종양 처리된 대조군에 대하여 PEGPH20으로 처리된 마우스로부터 종양 내 혈관 관류에서 상당한 증가와 함께 BxPC-HAS3 종양에서 염료 관류를 매개한 것을 보여준다. 표 8을 요약하면, PEGPH20으로 처리된 동물은 대조군 동물에 대하여 116.9 % 증가인 7.24 ± 1.78 의 평균 면적을 가진 혈류량에서 증가를 보여주었다.

[0710]

표 8 : HA ^{High} 종양 내 혈류량에서 PEGPH20-매개된 증가			
	전체 종양 절편에서 평균 % 혈관영역	P	%증가
대조군 (n=7)	3.42 ± 0.53	-	-
PEGPH20 (n=6)	7.24 ± 1.78	<0.0001	116.9

[0711] B. 저산소증(Hypoxia)

[0712] 처리된 동물로부터 종양 절편은 피모니다졸 하이드로클로라이드 (HYPOXYPROBETM)를 시각화함으로써 저산소 면적에 대해 비교되었다. 구체적으로, 희생 후에, 비-특이적 염색을 위해 염소 혈청으로 블록킹된 동결절편은 피모니다졸 부가물을 탐지하기 위해 1:50 희석 항-피모니다졸 항체 (HypoxypoteTM-1 Mab-1, mouse IgGj; Chemicon International, Temecula, CA) 또는 내피 세포를 탐지하기 위해 1:100 희석 항-CD31 항체 (렛드, BD Pharmingen, San Diego, CA)로 상온에서 1시간 동안 프로빙되었다. 제1차 시약을 제거하기 위해 워싱 후에, FITC 염소 항-마우스 이차 항체 (HypoxypoteTM-1 Mab-1을 시각화하기 위해, 1 : 100 희석; Vector Labs Burlingame, C A, USA) 또는 텍사스 레드 염소 항-렛드 이차 항체 (CD31 내피 세포를 시각화하기 위해; 1 : 100 희석; Vector Labs Burlingame, CA USA)는 상온에서 30분 동안 제2차 항체로 사용되었다. 절편은 Image-Pro Analyzer 7.0 (Media Cybermetrics, Bethesda, MD) 이미지 시스템을 사용하여 이미지화되었다. CD31 이미징에 대하여, 들뜸 파장은 562 nm였고 방출 파장은 624 nm 파장이었다. 피모니다졸 하이드로클로라이드 (HYPOXYPROBETM)에 대한 이미징을 위하여, 들뜸 파장은 490 nm였고 방출 파장은 520 nm였다.

[0713] 결과를 표 9에 기재하였다. 결과는 HA 제거를 매개하는 PEGPH20이 BxPC3-Has3 종양에서 감소된 저산소증을 야기하였다. 대조군 동물은 전체 종양 절편의 3.98 ± 2.70 %에서 저산소 면적의 평균 퍼센트를 가졌다. PEGPH20으로 처리된 동물은 대조군 동물에 대해 78 % 감소인 0.86 ± 1.07 의 평균 면적으로 종양에서 감소된 저산소증 면적을 가졌다.

[0714]

표 9: HA ^{High} 종양에서 저산소 면적 내 PEGPH20-매개된 감소			
	전체 종양 절편 내 저산소 면적%	P	% 감소
대조군 (n=7)	3.98 ± 2.70	-	-
PEGPH20 (n=6)	0.86 ± 1.07	0.035	78

[0715] 실시예 8

[0716] 높은 종양 주위 히알루로난(High Peritumoral Hyaluronan (HA)) 3중 음성 유방암 종양 모델에서 PEGPH20 및 납-파클리탁셀(nab paclitaxel) 병용 치료의 효과

[0717] MDA-MB-468 3중 음성 유방암 (TNBC) 세포주는 hHAS3A cDNA 전사체 (서열번호 212)를 과발현하기 위해 제조됨으로써 HA^{high} TNBC 모델을 확립하였다. 완전 RPMI 배지를 이용하여 표준 배양 조건에서 배양된 MDA-MB-468 세포 (ATCC Cat. No. HTB-132)는 렌티 바이러스 벡터 pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg(서열번호 213)을 발현하는 hHAS3 cDNA로 감염되었고, 상기 기술된 바에 따라, 이어서 안정한 hHAS3-발현 세포주 MDA-MB-468/HAS3 제조를 위해 히그로마이신 선택되었다.

[0718] RPMI에서 현탁된 MDA-MB-468/HAS3 세포는 누드 마우스에 주입되었다. 종양 부피는 상기 기술된 것과 같이 측정

되었다. 17일째, 종양이 약 300 mm^3 의 부피에 도달하였을 때, 동물은 1) 비히클; 2) 1 mg/kg 납-파크리탁셀; 3) 3 mg/kg 납-파크리탁셀; 4) 10 mg/kg 납-파크리탁셀; 5) 4.5 mg/kg PEGPH20; 또는 6) 1 mg/kg 납-파크리탁셀 및 4.5 mg/kg PEG20가 정맥으로 투여되는 6 처리군으로 나뉘었다. 종양 부피는 45일 동안 매 3일 내지 4일에 측정되었다.

[0719] 결과는 도 6에 나타내었다. 비히클만 받은 제1처리군 내 동물은 연구 과정 동안 점진적 종양 성장을 보였다. 연구 마지막 날(62일차)에, 평균 종양 크기는 부피에서 막 두 배가 되었다. 납-파크리탁셀 1 또는 3 mg/kg을 받은 제2처리군 및 제3처리군 내 동물의 종양은 세포 이식 (0-10일차 처리 후) 후 17-27일차에 종양 부피에서 초기 감소(약 30%)를 보였지만, 그리고 나서 종양 성장은 비히클 대조군 동물과 대비하여 감소된 비율로 시작하였다. 연구의 마지막날, 평균 종양 부피는 시작 부피의 것 2 배 이하였다.

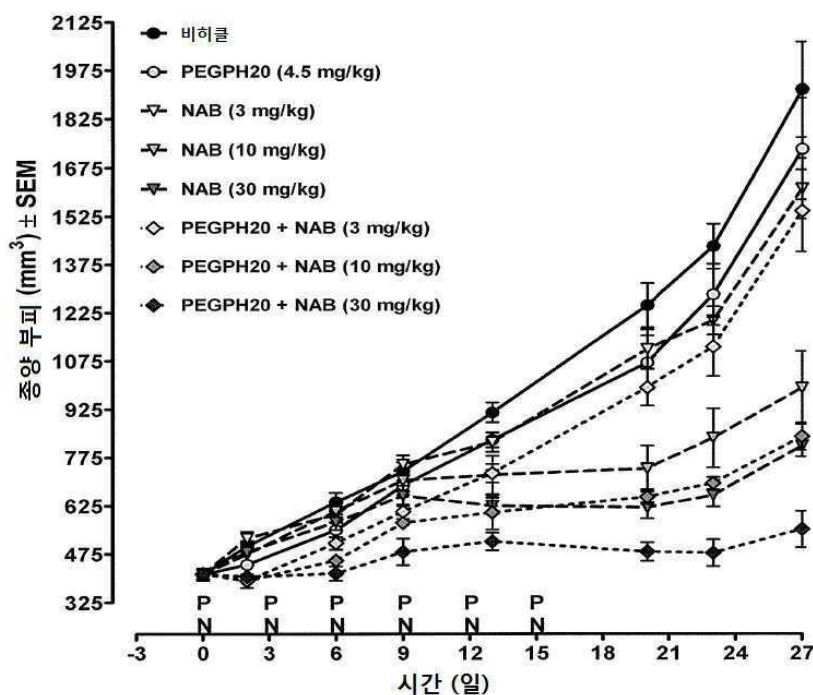
[0720] PEGPH20-처리 동물 (제5군)에 대하여 관찰된 종양 성장의 패턴은 제2군 및 제3군에 대한 것과 유사하였지만, 제5군에 대한 평균 종양 크기는 마지막 날 제2군 및 제3군에 대한 것보다 약간 더 작았다. 10 mg/kg 납-파크리탁셀을 받은 제4군 내 동물의 평균 종양 크기는 처리 후(연구 17-27일차) 처음 10일 동안 제2, 4, 및 5군과 같이 동일한 경향을 따랐으나, 그리고 나서 추가 11일 동안 감소된 부피를 유지하였으며, 그 후 평균 초기 종양 부피의 1/3인 평균 종양 부피를 연구 마지막에 산출하도록 추가적인 30%를 연구의 남은 날 동안 꾸준히 감소하였다.

[0721] 1 mg/kg 납-파크리탁셀 및 PEGPH20(제6군)의 병용은 평균 종양 부피의 점진적인 감소를 야기하였다. 이러한 결과는 동일 용량의 개별 처리와 비교하여 종양 성장억제에 상당히 증진된 효율을 야기하는 납-파크리탁셀 및 PEGPH20의 병용 처리에 관한 시너지 효과를 나타낸다. 병용 치료는 또한 평균 초기 종양 부피의 약 1/3인 최종 평균 종양 부피를 산출하는 단일 치료(10 mg/kg 납-파크리탁셀 (제5군))로 10배 더 큰 납-파크리탁셀을 받은 동물에서 관찰되는 것과 종양 부피에서 유사한 감소를 야기하였다.

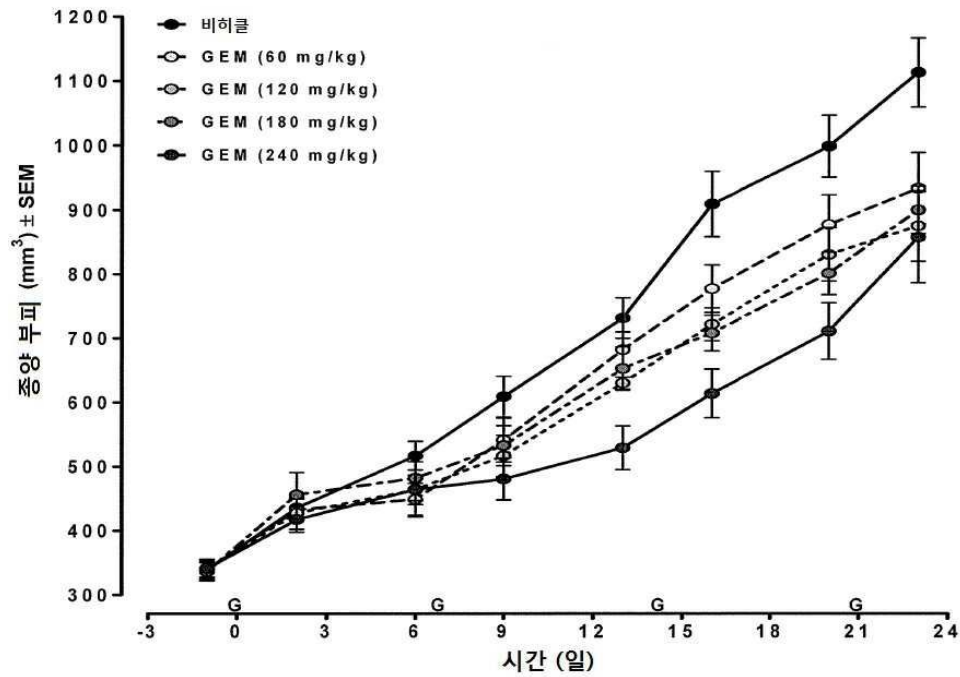
[0722] 변형들이 당 분야의 당업자에게 명백할 것이기 때문에, 이 발명이 첨부된 청구항들의 범위에 의해서만 제한하려는 의도는 아니다.

도면

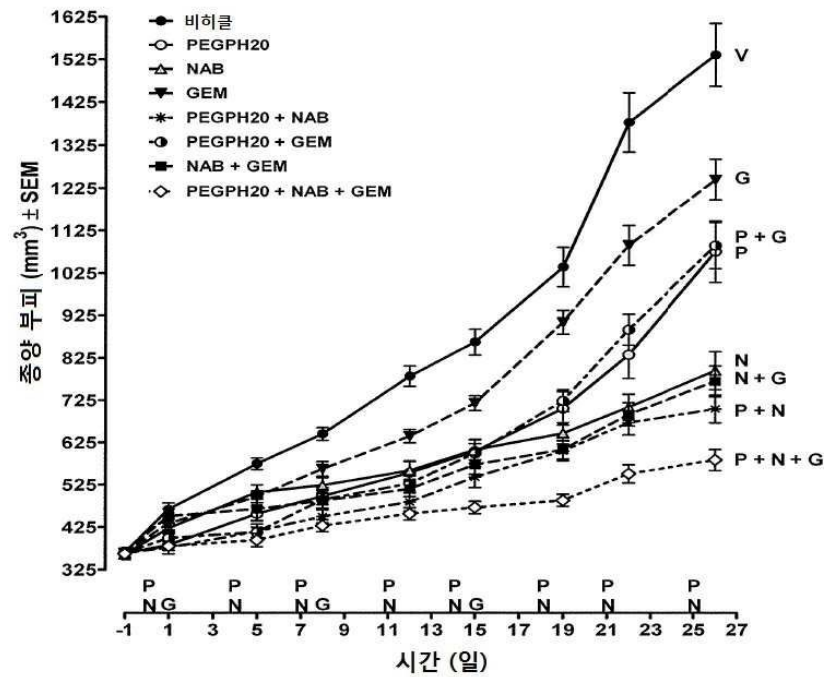
도면1



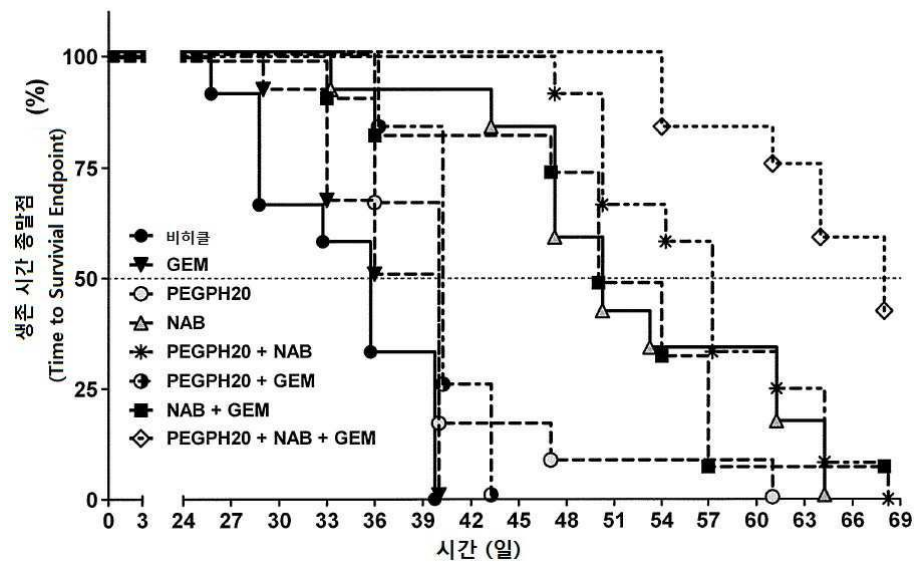
도면2



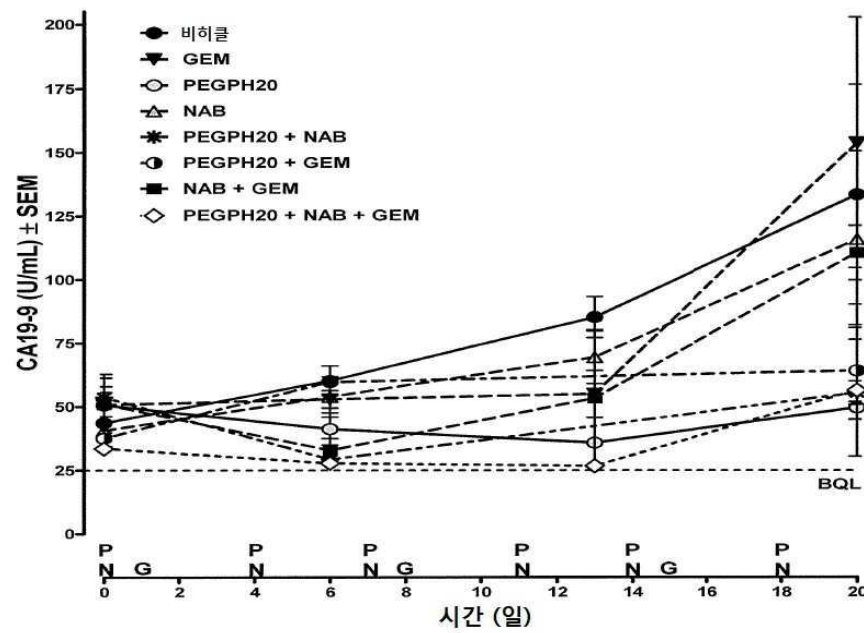
도면3



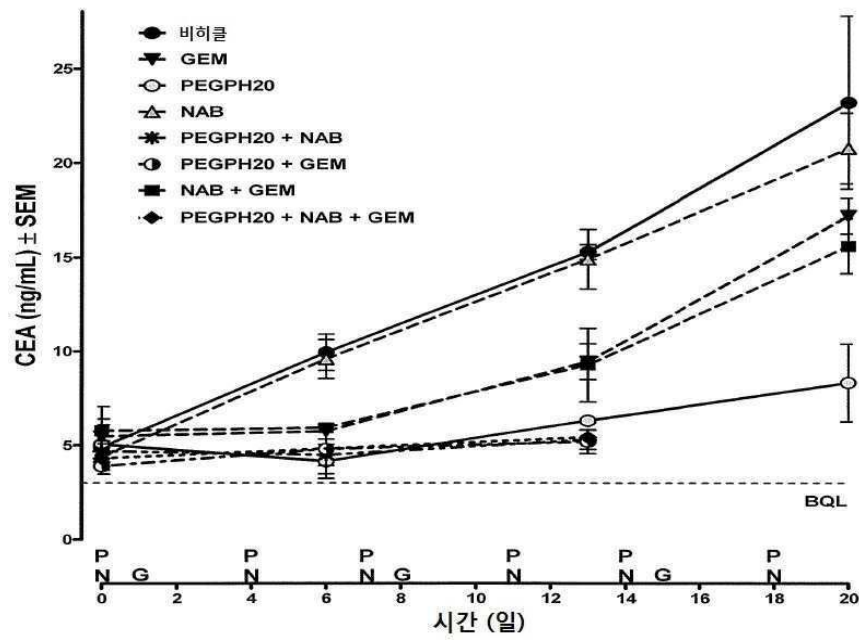
도면4



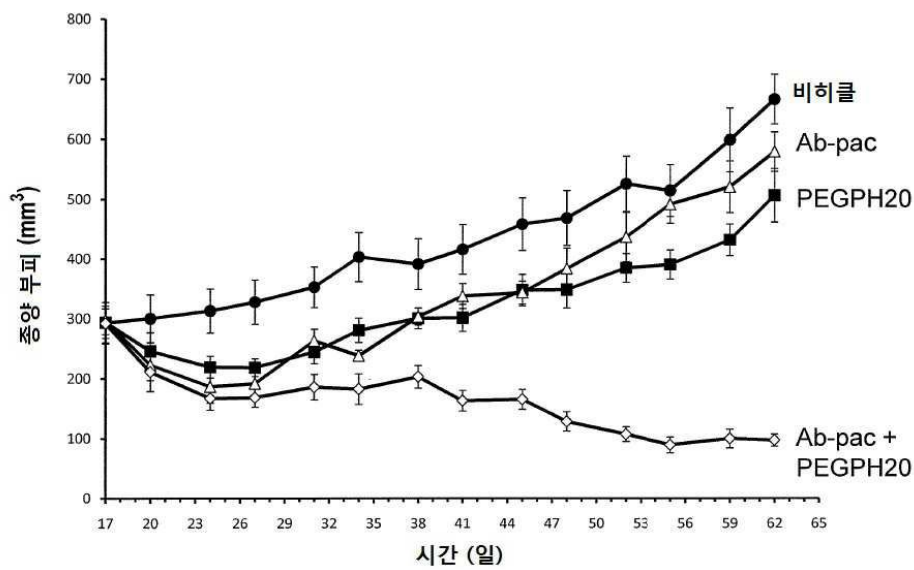
도면5a



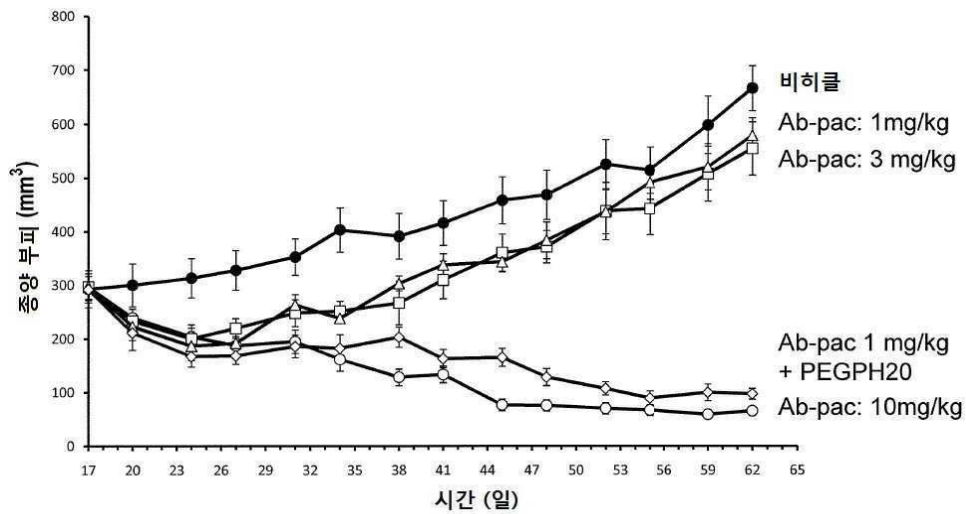
도면5b



도면6a



도면6b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Halozyme, Inc.

Maneval, Daniel C.

Shepard, Harold Michael

Thompson, Curtis B.

<120> Combination Therapy with an anti-Hyaluronan

Agent and Therapeutic Agent

<130> 033320.03108.W001/3108PC

<140> Not Yet Assigned

<141> Herewith

<150> US 61/686,429

<151> 2012-04-04

<150> US 61/714,719

<151> 2012-10-16

<160> 213

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 509

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> precursor human PH20

<400> 1

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495
 Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
 500 505
 <210> 2

 <211> 474
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> Mature PH20
 <400> 2
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

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

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

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu

465 470

<210> 3

<211> 482

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> precursor PH20 1-482

<400> 3

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130	135	140	
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro			
145	150	155	160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn			
	165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe			
	180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys			
195	200	205	
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys			
210	215	220	
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn			
225	230	235	240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser			
	245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val			
	260	265	270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val			
275	280	285	
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr			
290	295	300	
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu			
305	310	315	320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile			
	325	330	335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu			
340	345	350	
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn			
355	360	365	
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln			
370	375	380	

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr

<210> 4

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-482

<400> 4

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85

90

95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100

105

110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115

120

125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130

135

140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145

150

155

160

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

165

170

175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180

185

190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195

200

205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210

215

220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225

230

235

240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245

250

255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260

265

270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275

280

285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290

295

300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305

310

315

320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325

330

335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr

435 440 445

<210> 5

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-481

<400> 5

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe

435 440 445

<210> 6

<211> 445

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-480

<400> 6

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65				70				75				80			
Gln	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile
85				90				95							
Thr	Phe	Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp
100				105				110							
Glu	Glu	Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val
115				120				125							
Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu
130				135				140							
Ser	Leu	Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala
145				150				155				160			
Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg
165				170				175							
Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His
180				185				190							
His	Tyr	Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile
195				200				205							
Lys	Arg	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu
210				215				220							
Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr
225				230				235				240			
Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile
245				250				255							
Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val
260				265				270							
Phe	Thr	Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr
275				280				285							
Thr	Phe	Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp
290				295				300							
Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Ser	Cys	Leu	Leu	Leu	Asp
305				310				315				320			

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
435 440 445

<210> 7

<211> 444

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-479

<400> 7

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

 325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

 340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

 355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

 370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

 420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln

 435 440

<210> 8

<211> 443

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-478

<400> 8

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

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

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro
435 440

<210> 9

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-477

<400> 9

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50

55

60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65

70

75

80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85

90

95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100

105

110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115

120

125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130

135

140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145

150

155

160

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

165

170

175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180

185

190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195

200

205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210

215

220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225

230

235

240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245

250

255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260

265

270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275

280

285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu

435 440

<210> 10

<211> 450

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 10

Met Arg Pro Phe Ser Leu Glu Val Ser Leu His Leu Pro Trp Ala Met

1 5 10 15

Ala Ala His Leu Leu Pro Val Cys Thr Leu Phe Leu Asn Leu Leu Ser

20 25 30

Met Thr Gln Gly Ser Arg Asp Pro Val Val Pro Asn Gln Pro Phe Thr

35 40 45

Thr Ile Trp Asn Ala Asn Thr Glu Trp Cys Met Lys Lys His Gly Val

50

55

60

Asp Val Asp Ile Ser Ile Phe Asp Val Val Thr Asn Pro Gly Gln Thr

65

70

75

80

Phe Arg Gly Pro Asn Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Gln Leu Gly Thr

85

90

95

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

100

105

110

Gln Asn Ala Ser Leu Asn Ala His Leu Ala Arg Thr Phe Gln Asp Ile

115

120

125

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

130

135

140

Trp Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Thr Lys Asp

145

150

155

160

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

165

170

175

Trp Leu Ala Pro Arg Val Glu Ala Ala Ala Gln Asp Gln Phe Glu Gly

180

185

190

Ala Ala Glu Glu Trp Met Ala Gly Thr Leu Lys Leu Gly Gln Ala Leu

195

200

205

Arg Pro Gln Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Asn Phe Pro Glu Cys Tyr Asn

210

215

220

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

225

230

235

240

Cys Ala Gln Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Gly Gln Ser Arg Ala

245

250

255

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

260

265

270

Thr Gln Met Phe Val Gln His Arg Val Ala Glu Ala Phe Arg Val Ala

275

280

285

Ala Gly Ala Gly Asp Pro Lys Leu Pro Val Leu Pro Tyr Met Gln Leu

290 295 300
 Phe Tyr Asp Met Thr Asn His Phe Leu Pro Ala Glu Glu Leu Glu His

 305 310 315 320
 Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp

 325 330 335
 Val Ser Trp Leu Ser Thr Ser Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys

 340 345 350
 Glu Tyr Val Asp Thr Thr Leu Gly Pro Ser Ile Leu Asn Val Thr Ser

 355 360 365
 Gly Ala Arg Leu Cys Ser Gln Val Leu Cys Ser Gly His Gly Arg Cys

 370 375 380
 Ala Arg Arg Pro Ser Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ile Leu Asn Ser Thr
 385 390 395 400
 Ser Phe Ser Ile Lys Pro Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Thr Leu Gln

 405 410 415
 Gly Ala Leu Ser Leu Glu Asp Arg Leu Arg Met Ala Val Glu Phe Glu

 420 425 430
 Cys Arg Cys Tyr Arg Gly Trp Arg Gly Thr Arg Cys Glu Gln Trp Gly

 435 440 445
 Met Trp
 450
 <210> 11
 <211> 553
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 <220>
 <223> Precursor cow PH20
 <400> 11
 Met Arg Met Leu Arg Arg His His Ile Ser Phe Arg Ser Phe Ala Gly
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Thr Pro Gln Ala Val Phe Thr Phe Leu Leu Leu Pro Cys

 20 25 30

Cys Leu Ala Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser

35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Val Glu Arg Cys Val Asn Arg Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gly Ile Pro Gln Leu Gly Asn Leu Lys Ser His Met Glu Lys Ala

115 120 125

Lys Asn Asp Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala

130 135 140

Val Ile Asp Trp Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Pro Gln Leu Ser Phe Pro Glu Ala Ser Lys Ile Ala Lys Val Asp

180 185 190

Phe Glu Thr Ala Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly

195 200 205

Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp

210 215 220

Cys Tyr Asn His Asn His Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Pro

225 230 235 240

Asp Val Glu Lys Arg Arg Asn Asp Asp Leu Glu Trp Leu Trp Lys Glu

245 250 255

Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Arg Leu Lys Ser

260 265 270

Thr Gln Asn Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile

275 280 285
Arg Leu Ser Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val

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

355 360 365
Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His
370 375 380
Asn Glu Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu
385 390 395 400
His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys
405 410 415
Tyr Thr Val Pro Gly Thr Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser

420 425 430
Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile His Cys Lys Lys Arg
435 440 445
Val Asp Ile Lys Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp
450 455 460
Ile Cys Ile Asp Ser Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Asp His Ser Ser
465 470 475 480
Ser Gln Glu Ala Ser Thr Thr Thr Phe Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr

485 490 495
Thr Thr Ala Thr Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys His Ser Pro Glu
500 505 510
Cys Leu Lys Val Arg Cys Ser Glu Val Ile Pro Asn Val Thr Gln Lys
515 520 525

Ala Cys Gln Ser Val Lys Leu Lys Asn Ile Ser Tyr Gln Ser Pro Ile
530 535 540

Gln Asn Ile Lys Asn Gln Thr Thr Tyr
545 550

<210> 12
<211> 331
<212> PRT
<213> *Vespula vulgaris*
<220>
<223> hyaluronidase A
<400> 12

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

165 170 175
Trp Gly Tyr Tyr Gly Tyr Pro Tyr Cys Phe Asn Met Ser Pro Asn Asn

180 185 190
Leu Val Pro Glu Cys Asp Val Thr Ala Met His Glu Asn Asp Lys Met

195 200 205
Ser Trp Leu Phe Asn Asn Gln Asn Val Leu Leu Pro Ser Val Tyr Val

210 215 220
Arg Gln Glu Leu Thr Pro Asp Gln Arg Ile Gly Leu Val Gln Gly Arg

225 230 235 240
Val Lys Glu Ala Val Arg Ile Ser Asn Asn Leu Lys His Ser Pro Lys

245 250 255
Val Leu Ser Tyr Trp Trp Tyr Val Tyr Gln Asp Glu Thr Asn Thr Phe

260 265 270
Leu Thr Glu Thr Asp Val Lys Lys Thr Phe Gln Glu Ile Val Ile Asn

275 280 285
Gly Gly Asp Gly Ile Ile Ile Trp Gly Ser Ser Ser Asp Val Asn Ser

290 295 300
Leu Ser Lys Cys Lys Arg Leu Gln Asp Tyr Leu Leu Thr Val Leu Gly

305 310 315 320
Pro Ile Ala Ile Asn Val Thr Glu Ala Val Asn

325 330

<210> 13

<211> 340

<212> PRT

<213> *Vespula vulgaris*

<220>

<223> hyaluronidase B

<400> 13

Asp Arg Thr Ile Trp Pro Lys Lys Gly Phe Ser Ile Tyr Trp Asn Ile

1 5 10 15

Pro Thr His Phe Cys His Asn Phe Gly Val Tyr Phe Lys Glu Leu Lys

20	25	30
Gln Phe Asn Ile Lys Tyr Asn Ser Met Asn Asn Phe Arg Gly Glu Thr		
35	40	45
Ile Ser Leu Phe Tyr Asp Pro Gly Asn Phe Pro Ser Met Val Leu Leu		
50	55	60
Lys Asn Gly Thr Tyr Glu Ile Arg Asn Glu Gly Val Pro Gln Lys Gly		
65	70	75
80		
Asn Leu Thr Ile His Leu Glu Gln Phe Thr Lys Glu Leu Asp Glu Ile		
85	90	95
Tyr Pro Lys Lys Ile Ala Gly Gly Ile Gly Val Ile His Phe His Asn		
100	105	110
Trp Arg Pro Ile Phe Arg Arg Asn Val Asp Asn Leu Lys Ile Asn Lys		
115	120	125
Asp Ile Ser Ile Asp Leu Val Arg Lys Glu His Pro Lys Trp Asp Lys		
130	135	140
Ser Met Ile Glu Lys Glu Ala Ser Asn Arg Phe Glu Thr Ser Ala Lys		
145	150	155
160		
Ile Phe Met Glu Lys Thr Leu Lys Leu Ala Lys Glu Ile Arg Lys Lys		
165	170	175
Thr Glu Trp Gly Tyr His Gly Tyr Pro His Cys Leu Ser Gly Ser Thr		
180	185	190
Asp Lys Pro Ser Phe Asp Cys Asp Ala Leu Ser Met Ser Glu Asn Asp		
195	200	205
Lys Met Ser Trp Leu Phe Asn Asn Gln Asn Val Leu Leu Pro Ser Ile		
210	215	220
Tyr Leu Lys Asn Val Leu Lys Pro Asp Glu Lys Ile His Leu Val Gln		
225	230	235
240		
Glu Arg Leu Lys Glu Ala Ile Arg Ile Ser Lys Asn Phe Lys His Leu		
245	250	255
Pro Lys Val Leu Pro Tyr Trp Trp Tyr Thr Tyr Gln Asp Lys Glu Ser		
260	265	270

Ile Phe Leu Thr Glu Ala Asp Val Lys Asn Thr Phe Lys Glu Ile Leu
275 280 285

Thr Asn Gly Ala Asp Gly Ile Ile Ile Trp Gly Val Ser Tyr Glu Leu
290 295 300

Thr Asp Arg Lys Arg Cys Glu Lys Leu Lys Glu Tyr Leu Met Lys Ile
305 310 315 320

Leu Gly Pro Ile Ala Phe Lys Val Thr Lys Ala Val Lys Glu Asn Thr
325 330 335

Pro Leu Asn Phe
340

<210> 14

<211> 382

<212> PRT

<213> *Apis mellifera*

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 14

Met Ser Arg Pro Leu Val Ile Thr Glu Gly Met Met Ile Gly Val Leu
1 5 10 15

Leu Met Leu Ala Pro Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Phe Val Gln Ser
20 25 30

Thr Pro Asp Asn Asn Lys Thr Val Arg Glu Phe Asn Val Tyr Trp Asn
35 40 45

Val Pro Thr Phe Met Cys His Lys Tyr Gly Leu Arg Phe Glu Glu Val
50 55 60

Ser Glu Lys Tyr Gly Ile Leu Gln Asn Trp Met Asp Lys Phe Arg Gly
65 70 75 80

Glu Glu Ile Ala Ile Leu Tyr Asp Pro Gly Met Phe Pro Ala Leu Leu
85 90 95

Lys Asp Pro Asn Gly Asn Val Val Ala Arg Asn Gly Gly Val Pro Gln
100 105 110

Leu Gly Asn Leu Thr Lys His Leu Gln Val Phe Arg Asp His Leu Ile

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

Ala Asn Asp Arg Leu Thr Val Asp Val Ser Val Asp Gln Val

370

375

380

<210> 15

<211> 331

<212> PRT

<213> Dolichovespula maculata

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 15

Ser Glu Arg Pro Lys Arg Val Phe Asn Ile Tyr Trp Asn Val Pro Thr

1

5

10

15

Phe Met Cys His Gln Tyr Gly Leu Tyr Phe Asp Glu Val Thr Asn Phe

20

25

30

Asn Ile Lys His Asn Ser Lys Asp Asp Phe Gln Gly Asp Lys Ile Ser

35

40

45

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

50

55

60

Gly Asn Tyr Lys Ile Arg Asn Gly Gly Val Pro Gln Glu Gly Asn Ile

65

70

75

80

Thr Ile His Leu Gln Arg Phe Ile Glu Asn Leu Asp Lys Thr Tyr Pro

85

90

95

Asn Arg Asn Phe Asn Gly Ile Gly Val Ile Asp Phe Glu Arg Trp Arg

100

105

110

Pro Ile Phe Arg Gln Asn Trp Gly Asn Met Met Ile His Lys Lys Phe

115

120

125

Ser Ile Asp Leu Val Arg Asn Glu His Pro Phe Trp Asp Lys Lys Met

130

135

140

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

145

150

155

160

Met Glu Glu Thr Leu Lys Leu Ala Lys Lys Thr Arg Lys Gln Ala Asp

165

170

175

Trp Gly Tyr Tyr Gly Tyr Pro Tyr Cys Phe Asn Met Ser Pro Asn Asn

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

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

305 310 315 320
 Pro Ile Thr Val Asn Val Thr Glu Thr Val Asn
 325 330

<210> 16

<211> 367

<212> PRT

<213> Polistes annularis

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 16

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

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

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

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

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

275 280 285
 Tyr Trp Trp Tyr Val Tyr Gln Asp Lys Met Asp Ile Tyr Leu Ser Glu
 290 295 300
 Thr Asp Val Glu Lys Thr Phe Gln Glu Ile Val Thr Asn Gly Gly Asp
 305 310 315 320
 Gly Ile Ile Ile Trp Gly Ser Ser Ser Asp Val Asn Ser Leu Ser Lys
 325 330 335
 Cys Lys Arg Leu Arg Glu Tyr Leu Leu Asn Thr Leu Gly Pro Phe Ala
 340 345 350

 Val Asn Val Thr Glu Thr Val Asn Gly Arg Ser Ser Leu Asn Phe
 355 360 365
 <210> 17
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <220>
 <223> hyaluronidase
 <400> 17
 Met Leu Gly Leu Thr Gln His Ala Gln Lys Val Trp Arg Met Lys Pro
 1 5 10 15
 Phe Ser Pro Glu Val Ser Pro Gly Ser Ser Pro Ala Thr Ala Gly His
 20 25 30
 Leu Leu Arg Ile Ser Thr Leu Phe Leu Thr Leu Leu Glu Leu Ala Gln

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

100	105	110	
Tyr Thr Pro Thr Gly Glu Pro Val Phe Gly Gly Leu Pro Gln Asn Ala			
115	120	125	
Ser Leu Val Thr His Leu Ala His Thr Phe Gln Asp Ile Lys Ala Ala			
130	135	140	
Met Pro Glu Pro Asp Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu Ala			
145	150	155	160
Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Ser Lys Asp Ile Tyr Arg			
165	170	175	
Gln Arg Ser Met Glu Leu Val Gln Ala Glu His Pro Asp Trp Pro Glu			
180	185	190	
Thr Leu Val Glu Ala Ala Ala Lys Asn Gln Phe Gln Glu Ala Ala Glu			
195	200	205	
Ala Trp Met Ala Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Val Leu Arg Pro Arg			
210	215	220	
Gly Leu Trp Gly Tyr Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Asn Asp Phe			
225	230	235	240
Leu Ser Leu Asn Tyr Thr Gly Gln Cys Pro Val Phe Val Arg Asp Gln			
245	250	255	
Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Asn Gln Ser Tyr Ala Leu Tyr Pro			
260	265	270	
Ser Ile Tyr Leu Pro Ala Ala Leu Met Gly Thr Gly Lys Ser Gln Met			
275	280	285	
Tyr Val Arg His Arg Val Gln Glu Ala Leu Arg Val Ala Ile Val Ser			
290	295	300	
Arg Asp Pro His Val Pro Val Met Pro Tyr Val Gln Ile Phe Tyr Glu			
305	310	315	320
Met Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Leu Glu Glu Leu Glu His Ser Leu Gly			
325	330	335	
Glu Ser Ala Ala Gln Gly Val Ala Gly Ala Val Leu Trp Leu Ser Ser			
340	345	350	

Asp Lys Thr Ser Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Ala Tyr Met

355 360 365
 Asp Ser Thr Leu Gly Pro Phe Ile Val Asn Val Thr Ser Ala Ala Leu
 370 375 380
 Leu Cys Ser Glu Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg Cys Val Arg His
 385 390 395 400
 Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Leu Leu Thr Leu Asn Pro Ala Ser Phe Ser
 405 410 415
 Ile Glu Leu Thr His Asp Gly Arg Pro Pro Ser Leu Lys Gly Thr Leu

420 425 430
 Ser Leu Lys Asp Arg Ala Gln Met Ala Met Lys Phe Arg Cys Arg Cys
 435 440 445
 Tyr Arg Gly Trp Arg Gly Lys Trp Cys Asp Lys Arg Gly Met
 450 455 460

<210> 18

<211> 473

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> Hyaluronidase 2

<400> 18

Met Arg Ala Gly Leu Gly Pro Ile Ile Thr Leu Ala Leu Val Leu Glu
 1 5 10 15

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

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

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

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

 Arg Glu Ala Leu Arg Val Ala His Thr His His Ala Asn His Ala Leu
 275 280 285
 Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Thr Arg Gly Leu Thr Gly
 290 295 300
 Leu Ser Gln Val Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu
 305 310 315 320
 Gly Ser Ala Gly Val Ile Phe Trp Gly Asp Ser Glu Asp Ala Ser Ser

325 330 335

Met Glu Thr Cys Gln Tyr Leu Lys Asn Tyr Leu Thr Gln Leu Leu Val

340 345 350

Pro Tyr Ile Val Asn Val Ser Trp Ala Thr Gln Tyr Cys Ser Trp Thr

355 360 365

Gln Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Pro Ser Ala Asn

370 375 380

Thr Phe Leu His Leu Asn Ala Ser Ser Phe Arg Leu Val Pro Gly His

385 390 395 400

Thr Pro Ser Glu Pro Gln Leu Arg Pro Glu Gly Gln Leu Ser Glu Ala

405 410 415

Asp Leu Asn Tyr Leu Gln Lys His Phe Arg Cys Gln Cys Tyr Leu Gly

420 425 430

Trp Gly Gly Glu Gln Cys Gln Arg Asn Tyr Lys Gly Ala Ala Gly Asn

435 440 445

Ala Ser Arg Ala Trp Ala Gly Ser His Leu Thr Ser Leu Leu Gly Leu

450 455 460

Val Ala Val Ala Leu Thr Trp Thr Leu

465 470

<210> 19

<211> 412

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> hyaluronidase 3

<400> 19

Met Ile Met His Leu Gly Leu Met Met Val Val Gly Leu Thr Leu Cys

1 5 10 15

Leu Met His Gly Gln Ala Leu Leu Gln Val Pro Glu His Pro Phe Ser

20 25 30

Val Val Trp Asn Val Pro Ser Ala Arg Cys Lys Ala His Phe Gly Val

35	40	45
His Leu Pro Leu Asp Ala Leu Gly Ile Val Ala Asn His Gly Gln His		
50	55	60
Phe His Gly Gln Asn Ile Ser Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Phe Gly Leu		
65	70	75
Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro		
85	90	95
Gln Ala Val Ser Leu Asp His His Leu Ala Arg Ala Ala His Gln Ile		
100	105	110
Leu His Ser Leu Gly Ser Ser Phe Ala Gly Leu Ala Val Leu Asp Trp		
115	120	125
Glu Glu Trp Tyr Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Pro His Arg Gln		
130	135	140
Val Tyr Leu Ala Ala Ser Trp Val Trp Thr Gln Gln Met Phe Pro Gly		
145	150	155
Leu Asp Pro Gln Glu Gln Leu His Lys Ala His Thr Ser Phe Glu Gln		
165	170	175
Ala Ala Arg Ala Leu Met Glu Tyr Thr Leu Gln Leu Gly Arg Thr Leu		
180	185	190
Arg Pro Ser Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Arg Tyr Pro Ala Cys Gly Asn		
195	200	205
Gly Trp His Lys Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly His Cys His Ala Ala		
210	215	220
Ile Thr Thr Gln Asn Thr Gln Leu Arg Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser		
225	230	235
Ala Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Pro Arg Leu Pro Leu Ala Tyr		
245	250	255
Arg Gln Ala Phe Val Arg His Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala		
260	265	270
Leu Leu Glu His Ser His Pro Leu Pro Val Leu Ala Tyr Ser Arg Leu		
275	280	285

Thr His Arg Ser Ser Gly Arg Phe Leu Ser Leu Asp Asp Leu Met Gln
290 295 300

Thr Ile Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Thr Ala Gly Val Val Leu Trp
305 310 315 320

Gly Asp Leu Ser Phe Ser Ser Ser Glu Glu Lys Cys Trp Arg Leu His
325 330 335

Asp Tyr Leu Val Gly Thr Leu Gly Pro Tyr Val Ile Asn Val Thr Lys
340 345 350

Ala Asp Met Ala Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys
355 360 365

Ala Arg Lys Asp Pro Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Gln Pro
370 375 380

Asp Asp Ser Leu Gly Ala Trp Asn Ser Phe Arg Cys His Cys Tyr Ser
385 390 395 400

Gly Trp Ala Gly Pro Thr Cys Leu Glu Pro Lys Pro
405 410

<210> 20

<211> 435

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 20

Met Ala Ala His Leu Leu Pro Ile Cys Thr Leu Phe Leu Asn Leu Leu

1 5 10 15
Ser Val Ala Gln Gly Ser Arg Asp Pro Val Val Leu Asn Arg Pro Phe

20 25 30
Thr Thr Ile Trp Asn Ala Asn Thr Gln Trp Cys Leu Lys Arg His Gly

35 40 45
Val Asp Val Asp Val Ser Val Phe Glu Val Val Val Asn Pro Gly Gln

50 55 60

Thr Phe Arg Gly Pro Asn Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Gln Leu Gly

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Gln Asn Ala Ser Leu Asp Val His Leu Asn Arg Thr Phe Lys Asp

100 105 110

Ile Leu Ala Ala Met Pro Glu Ser Asn Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile

115 120 125

Asp Trp Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Ala Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Trp Pro Ala Pro Trp Val Glu Ala Ala Ala Gln Asp Gln Phe Gln

165 170 175

Glu Ala Ala Gln Thr Trp Met Ala Gly Thr Leu Lys Leu Gly Gln Thr

180 185 190

Leu Arg Pro His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr

195 200 205

Asn Tyr Asp Phe Gln Ser Ser Asn Tyr Thr Gly Gln Cys Pro Pro Gly

210 215 220

Val Ser Ala Gln Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Gly Gln Ser Arg

225 230 235 240

Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Ser Ala Leu Glu Gly Thr Asn

245 250 255

Lys Thr Gln Leu Tyr Val Gln His Arg Val Asn Glu Ala Phe Arg Val

260 265 270

Ala Ala Ala Ala Gly Asp Pro Asn Leu Pro Val Leu Pro Tyr Ala Gln

275 280 285

Ile Phe His Asp Met Thr Asn Arg Leu Leu Ser Arg Glu Glu Leu Glu

290 295 300

His Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu

305 310 315 320
Trp Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ser Ile

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

 340 345 350
Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Val Cys Ser Gly His Gly Arg

 355 360 365
Cys Val Arg Arg Pro Ser His Thr Glu Ala Leu Pro Ile Leu Asn Pro

 370 375 380
Ser Ser Phe Ser Ile Lys Pro Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Thr Leu

385 390 395 400
Gln Gly Ala Leu Ser Leu Lys Asp Arg Val Gln Met Ala Glu Glu Phe

 405 410 415
Gln Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Arg Gly Thr Trp Cys Glu Gln Gln

 420 425 430
Gly Thr Arg

435

<210> 21

<211> 419

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<220>

<223> hyaluronidase 3

<400> 21

Met Thr Met Gln Leu Gly Leu Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Met Cys

1 5 10 15
Leu Gly Cys Gly Gln Pro Leu Leu Arg Ala Pro Glu Arg Pro Phe Cys

 20 25 30
Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala Arg Cys Lys Ala Arg Phe Gly Val

 35 40 45
His Leu Pro Leu Glu Ala Leu Gly Ile Thr Ala Asn His Gly Gln Arg

50 55 60

Phe His Gly Gln Asn Ile Thr Ile Phe Tyr Lys Ser Gln Leu Gly Leu

65 70 75 80

Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro

85 90 95

Gln Ala Val Ser Leu Asp His His Leu Ala Arg Ala Ala Tyr Gln Ile

100 105 110

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

115 120 125

Glu Glu Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Arg Arg Gln Ala

130 135 140

Tyr Gln Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ala Gln Arg Val Tyr Pro Asn Leu

145 150 155 160

Asp Pro Gln Glu Gln Leu Cys Lys Ala Arg Ala Gly Phe Glu Glu Ala

165 170 175

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

180 185 190

Pro His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr His Tyr Pro Ala Cys Gly Asn Gly

195 200 205

Trp His Gly Thr Ala Ser Asn Tyr Thr Gly His Cys His Ala Ala Ala

210 215 220

Leu Ala Arg Asn Thr Gln Leu Tyr Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala

225 230 235 240

Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Pro Gly Leu Pro Pro Ala Tyr His

245 250 255

Gln Ala Phe Val Arg Tyr Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala Leu

260 265 270

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

275 280 285

His Arg Asn Ser Gly Arg Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Gln Thr

290 295 300

Ile Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ser Gly Val Val Leu Trp Gly

305 310 315 320
Asp Leu Ser Phe Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Trp His Leu Arg Gly

 325 330 335
Tyr Leu Val Gly Thr Leu Gly Pro Tyr Val Ile Asn Val Thr Arg Ala

 340 345 350
Ala Met Ala Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys Ala

 355 360 365
Trp Gln Asp Pro Gly Gln Leu Lys Val Phe Leu His Leu His Pro Gly

 370 375 380
Gly Ser Pro Gly Ala Trp Glu Ser Phe Ser Cys Arg Cys Tyr Trp Gly

385 390 395 400
Trp Ala Gly Pro Thr Cys Gln Glu Pro Arg Pro Glu Leu Gly Pro Glu

 405 410 415
Glu Ala Thr

<210> 22

<211> 449

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<220>

<223> hyaluronidase 1

<400> 22

Met Lys Pro Phe Ser Pro Glu Val Ser Pro Asp Pro Cys Pro Ala Thr

1 5 10 15

Ala Ala His Leu Leu Arg Thr Tyr Thr Leu Phe Leu Thr Leu Leu Glu

 20 25 30
Leu Ala Gln Gly Cys Arg Gly Ser Met Val Ser Asn Arg Pro Phe Ile

 35 40 45

Thr Val Trp Asn Ala Asp Thr His Trp Cys Leu Lys Asp His Gly Val

50 55 60

Asp Val Asp Val Ser Val Phe Asp Val Val Ala Asn Lys Glu Gln Asn

65 70 75 80

Phe Gln Gly Pro Asn Met Thr Ile Phe Tyr Arg Glu Glu Leu Gly Thr

85 90 95

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

100 105 110

Gln Asn Ala Ser Leu Val Thr His Leu Ala His Ala Phe Gln Asp Ile

115 120 125

Lys Ala Ala Met Pro Glu Pro Asp Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile Asp

130 135 140

Trp Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Ser Lys Asp

145 150 155 160

Ile Tyr Gln Gln Arg Ser Met Glu Leu Val Arg Ala Glu His Pro Asp

165 170 175

Trp Pro Glu Thr Leu Val Glu Ala Glu Ala Gln Gly Gln Phe Gln Glu

180 185 190

Ala Ala Glu Ala Trp Met Ala Gly Thr Leu Gln Leu Gly Gln Val Leu

195 200 205

Arg Pro Arg Gly Leu Trp Gly Tyr Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr Asn

210 215 220

Tyr Asp Phe Leu Ser Pro Asn Tyr Thr Gly Gln Cys Ser Leu Ser Ile

225 230 235 240

His Asp Gln Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Asn Gln Ser Tyr Ala

245 250 255

Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Ala Ala Leu Met Gly Thr Gly Lys

260 265 270

Ser Gln Met Tyr Val Arg Tyr Arg Val Gln Glu Ala Phe Arg Leu Ala

275 280 285

Leu Val Ser Arg Asp Pro His Val Pro Ile Met Pro Tyr Val Gln Ile

290 295 300

Phe Tyr Glu Lys Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Leu Glu Glu Leu Glu His

305 310 315 320

Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Ala Val Leu Trp

325 330 335
Ile Ser Ser Glu Lys Thr Ser Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys

340 345 350
Ala Tyr Met Asp Ser Thr Leu Gly Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr Ser

355 360 365
Ala Ala Leu Leu Cys Ser Glu Ala Leu Cys Ser Gly Arg Gly Arg Cys

370 375 380
Val Arg His Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Leu Leu Thr Leu Ser Pro Ala

385 390 395 400
Ser Phe Ser Ile Glu Pro Thr His Asp Gly Arg Pro Leu Ser Leu Lys

405 410 415
Gly Thr Leu Ser Leu Lys Asp Arg Ala Gln Met Ala Met Lys Phe Lys

420 425 430
Cys Arg Cys Tyr Arg Gly Trp Ser Gly Glu Trp Cys Lys Lys Gln Asp

435 440 445
Met

<210> 23

<211> 473

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<220>

<223> hyaluronidase 2

<400> 23

Met Arg Ala Gly Leu Gly Pro Ile Ile Thr Leu Ala Leu Val Leu Glu

1 5 10 15
Val Ala Trp Ala Ser Glu Leu Lys Pro Thr Ala Pro Pro Ile Phe Thr

20 25 30
Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Trp Asn Val Pro Thr Gln Glu Cys Ala

35 40 45
Pro Arg His Lys Val Pro Leu Asp Leu Arg Ala Phe Asp Val Glu Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Arg Leu Gly Leu Tyr Pro Arg Phe Asp Ala Ala Gly Met Ser Val

85 90 95

His Gly Gly Val Pro Gln Asn Gly Ser Leu Cys Ala His Leu Pro Met

100 105 110

Leu Lys Glu Ala Val Glu Arg Tyr Ile Gln Thr Gln Glu Pro Ala Gly

115 120 125

Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Val Trp Val Arg Asn

130 135 140

Trp Gln Glu Lys Asp Val Tyr Arg Gln Ser Ser Arg Gln Leu Val Ala

145 150 155 160

Ser Arg His Pro Asp Trp Pro Ser Asp Arg Ile Val Lys Gln Ala Gln

165 170 175

Tyr Glu Phe Glu Phe Ala Ala Arg Gln Phe Met Leu Asn Thr Leu Arg

180 185 190

Tyr Val Lys Ala Val Arg Pro Gln His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe

195 200 205

Pro Asp Cys Tyr Asn His Asp Tyr Val Gln Asn Trp Asp Ser Tyr Thr

210 215 220

Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ala Gln Asn Asp Gln Leu Ala Trp

225 230 235 240

Leu Trp Ala Glu Asn Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Lys

245 250 255

Thr Leu Ala Ser Ser Lys His Ser Arg Asn Phe Val Ser Phe Arg Val

260 265 270

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

275 280 285

Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Thr Arg Arg Leu Thr Glu

290 295 300

Leu Asn Gln Met Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu

305 310 315 320
 Gly Ser Ala Gly Val Ile Phe Trp Gly Asp Ser Val Tyr Ala Ser Ser

 325 330 335
 Met Glu Asn Cys Gln Asn Leu Lys Lys Tyr Leu Thr Gln Thr Leu Val
 340 345 350
 Pro Tyr Ile Val Asn Val Ser Trp Ala Thr Gln Tyr Cys Ser Trp Thr
 355 360 365
 Gln Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Pro Ser Ala Ser
 370 375 380
 Thr Phe Leu His Leu Ser Pro Ser Ser Phe Arg Leu Val Pro Gly Arg

 385 390 395 400
 Thr Pro Ser Glu Pro Gln Leu Arg Pro Glu Gly Glu Leu Ser Glu Asp
 405 410 415
 Asp Leu Ser Tyr Leu Gln Met His Phe Arg Cys His Cys Tyr Leu Gly
 420 425 430
 Trp Gly Gly Glu Gln Cys Gln Trp Asn His Lys Arg Ala Ala Gly Asp
 435 440 445
 Ala Ser Arg Ala Trp Ala Gly Ala His Leu Ala Ser Leu Leu Gly Leu

 450 455 460
 Val Ala Met Thr Leu Thr Trp Thr Leu
 465 470
 <210> 24
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 <220>
 <223> hyaluronidase 3
 <400> 24
 Met Ile Thr Gln Leu Gly Leu Thr Leu Val Val Gly Leu Thr Leu Cys
 1 5 10 15
 Leu Val His Val Gln Ala Leu Leu Gln Val Pro Glu Phe Pro Phe Ser

20	25	30	
Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala Arg Cys Lys Thr Arg Phe Gly Val			
35	40	45	
His Leu Pro Leu Asp Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn His Gly Gln Arg			
50	55	60	
Phe His Gly Gln Asn Ile Thr Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Phe Gly Leu			
65	70	75	80
Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro			
85	90	95	
Gln Ala Val Ser Leu Asp His His Leu Ala Gln Ala Ala His Gln Ile			
100	105	110	
Leu His Asn Leu Gly Ser Ser Phe Ala Gly Leu Ala Val Leu Asp Trp			
115	120	125	
Glu Glu Trp Tyr Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Thr His Arg Gln			
130	135	140	
Val Tyr Gln Ala Ala Ser Trp Ala Trp Ala Gln Gln Met Phe Pro Asp			
145	150	155	160
Leu Asn Pro Gln Glu Gln Leu His Lys Ala Gln Thr Gly Phe Glu Gln			
165	170	175	
Ala Ala Arg Ala Leu Met Glu His Thr Leu Arg Leu Gly Gln Met Leu			
180	185	190	
Arg Pro His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Arg Tyr Pro Val Cys Gly Asn			
195	200	205	
Gly Trp His Asn Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly His Cys His Pro Ala			
210	215	220	
Ile Ile Thr Arg Asn Thr Gln Leu Arg Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser			
225	230	235	240
Ala Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Pro Arg Leu Pro Pro Ala Tyr			
245	250	255	
His Gln Thr Phe Val Arg His Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala			
260	265	270	

Leu Thr Gly His Ala His Pro Leu Pro Val Leu Ala Tyr Val Arg Leu
275 280 285

Thr His Arg Ser Ser Gly Arg Phe Leu Ser Leu Asp Asp Leu Met Gln
290 295 300

Thr Ile Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp
305 310 315 320

Gly Asp Leu Ser Val Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Trp Arg Leu His
325 330 335

Asp Tyr Leu Val Gly Thr Leu Gly Pro Tyr Val Ile Asn Val Thr Lys
340 345 350

Ala Ala Thr Ala Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys
355 360 365

Ser Trp Lys Asp Pro Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Gln Pro
370 375 380

Asp Asp Asn Leu Gly Ala Trp Lys Ser Phe Arg Cys Arg Cys Tyr Leu
385 390 395 400

Gly Trp Ser Gly Pro Thr Cys Leu Glu Pro Lys Pro
405 410

<210> 25

<211

> 545

<212> PRT

<213> *Oryctolagus cuniculus*

<220>

<223> Precursor rabbit PH20

<400> 25

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Gly Ser Ala Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Gly Val Phe Gln Ile Val Phe Ile Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Ala Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Thr Glu Phe Cys Leu Gly Lys Ser

50

55

60

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

65

70

75

80

Lys Asn Lys Thr Gly Gln Gly Ile Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85

90

95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Pro His Thr Gly Ala Ile Val His Gly

100

105

110

Arg Ile Pro Gln Leu Gly Pro Leu Gln Gln His Leu Thr Lys Leu Arg

115

120

125

Gln Glu Ile Leu Tyr Tyr Met Pro Lys Asp Asn Val Gly Leu Ala Val

130

135

140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Leu Pro Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Pro

145

150

155

160

Lys Asp Ile Tyr Arg Ile Lys Ser Ile Glu Leu Val Lys Ser Gln His

165

170

175

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

180

185

190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Met Glu Glu Thr Leu Lys Leu Gly Arg

195

200

205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210

215

220

Tyr Asn His His Tyr Asp Lys Pro Asn Leu Tyr Lys Gly Ser Cys Phe

225

230

235

240

Asp Ile Glu Lys Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Lys Glu

245

250

255

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

260

265

270

Ala Thr Ala Leu Ser Lys Leu Tyr Val Val Arg Asn Arg Val His Glu

275

280

285

Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Asp Lys Ser Pro Leu Pro Asn

290 295 300
 Phe Val Tyr Thr Arg Leu Val Phe Thr Asp Gln Ile Phe Gln Phe Leu

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

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

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

 500 505 510
 Val Ser Gly Cys Leu Leu Val Leu Cys Met Tyr Ser Gln Tyr Leu Asn
 515 520 525
 Ile Cys Tyr Arg Leu Val Ala Ile Gly Ile Gln His Gly Tyr Tyr Leu
 530 535 540

Lys

545

<210> 26

<211> 476

<212> PRT

<213> Ovis aries

<220>

<223> hyaluronidase 2

<400> 26

Met Trp Thr Gly Leu Gly Pro Ala Val Thr Leu Ala Leu Val Leu Val

1 5 10 15

Val Ala Trp Ala Thr Glu Leu Lys Pro Thr Ala Pro Pro Ile Phe Thr

20 25 30

Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Trp Asp Val Pro Thr Gln Asp Cys Gly

35 40 45

Pro Arg His Lys Met Pro Leu Asp Pro Lys Asp Met Lys Ala Phe Asp

50 55 60

Val Gln Ala Ser Pro Asn Glu Gly Phe Val Asn Gln Asn Ile Thr Ile

65 70 75 80

Phe Tyr Arg Asp Arg Leu Gly Met Tyr Pro His Phe Asn Ser Val Gly

85 90 95

Arg Ser Val His Gly Gly Val Pro Gln Asn Gly Ser Leu Trp Val His

100 105 110

Leu Glu Met Leu Lys Gly His Val Glu His Tyr Ile Arg Thr Gln Glu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Val Ala Ser His His Pro Asp Trp Pro Pro Glu Arg Ile Val Lys

165 170 175

Glu Ala Gln Tyr Glu Phe Glu Phe Ala Ala Arg Gln Phe Met Leu Glu

180	185	190
Thr Leu Arg Phe Val Lys Ala Phe Arg Pro Arg His Leu Trp Gly Phe		
195	200	205
Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His Asp Tyr Val Gln Asn Trp Glu		
210	215	220
Thr Tyr Thr Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ser Arg Asn Asp Gln		
225	230	235
Leu Ser Trp Leu Trp Ala Glu Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr		
245	250	255
Leu Glu Glu Thr Leu Ala Ser Ser Thr His Gly Arg Asn Phe Val Ser		
260	265	270
Phe Arg Val Gln Glu Ala Leu Arg Val Ala Asp Val His His Ala Asn		
275	280	285
His Ala Leu Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Ser Arg Gly		
290	295	300
Leu Thr Gly Leu Ser Glu Met Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser		
305	310	315
Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Ile Leu Trp Gly Asp Ala Gly Phe		
325	330	335
Thr Thr Ser Asn Glu Thr Cys Arg Arg Leu Lys Asp Tyr Leu Thr Arg		
340	345	350
Ser Leu Val Pro Tyr Val Val Asn Val Ser Trp Ala Ala Gln Tyr Cys		
355	360	365
Ser Trp Ala Gln Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asp Pro		
370	375	380
Asn Ala His Thr Phe Leu His Leu Ser Ala Ser Ser Phe Arg Leu Val		
385	390	395
Pro Ser His Ala Pro Asp Glu Pro Arg Leu Arg Pro Glu Gly Glu Leu		
405	410	415
Ser Trp Ala Asp Arg Asn His Leu Gln Thr His Phe Arg Cys Gln Cys		
420	425	430

Tyr Leu Gly Trp Gly Gly Glu Gln Cys Gln Trp Asp Arg Arg Arg Ala
435 440 445
Ala Gly Gly Ala Ser Gly Ala Trp Ala Gly Ser His Leu Thr Gly Leu
450 455 460

Leu Ala Val Ala Val Leu Ala Phe Thr Trp Thr Ser
465 470 475

<210> 27

<211> 114

<212> PRT

<213> Ovis aries

<220>

<223> PH20 partial sequence

<400> 27

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

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

100 105 110
Ile Arg

<210> 28

<211> 414

<212> PRT

<213> Pongo pygmaeus

<220>

<223> hyaluronidase 3

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala His Cys Lys Ser Arg Phe Gly Val

35 40 45

His Leu Pro Leu Asn Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn Arg Gly Gln His

50 55 60

Phe His Gly Gln Asn Met Thr Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Leu Gly Leu

65 70 75 80

Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Lys Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro

85 90 95

Gln Ala Leu Pro Leu Asp Arg His Leu Ala Leu Ala Ala Tyr Gln Ile

100 105 110

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

115 120 125

Glu Glu Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Arg Arg Arg Ala

130 135 140

Tyr Gln Ala Ala Ser Trp Ala Trp Ala Gln Gln Val Phe Pro Asp Leu

145 150 155 160

Asp Pro Gln Glu Gln Leu Tyr Lys Ala Tyr Thr Gly Phe Glu Gln Ala

165 170 175

Ala Arg Ala Leu Met Glu Asp Thr Leu Arg Val Ala Gln Ala Leu Arg

180 185 190

Pro His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr His Tyr Pro Ala Cys Gly Asn Gly

195 200 205

Trp His Ser Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly Arg Cys His Ala Ala Thr

210 215 220

Leu Ala Arg Asn Thr Gln Leu His Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala

225 230 235 240

Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Pro Pro Arg Leu Pro Pro Ala His His

245 250 255

Gln Ala Phe Val Arg His Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala Leu

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Arg Phe Leu Ser Gln Asp Asp Leu Val Gln Thr Ile Gly Val

290 295 300

Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp Gly Asp Leu Ser

305 310 315 320

Leu Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Trp His Leu His Asp Tyr Leu Val

325 330 335

Asp Thr Leu Gly Pro Tyr Gly Ile Asn Val Thr Arg Ala Ala Met Ala

340 345 350

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

355 360 365

Pro Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Trp Pro Asp Gly Ser Leu

370 375 380

Gly Asp Trp Lys Ser Phe Ser Cys His Cys Tyr Trp Gly Trp Ala Gly

385 390 395 400

Pro Thr Cys Gln Glu Pro Arg Leu Gly Pro Lys Glu Ala Val

405 410

<210> 29

<211> 510

<212> PRT

<213> *Macaca fascicularis*

<

220>

<223> Precursor *Cynomolgus* monkey PH20

<400> 29

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

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

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

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

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

Val Asn Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu

500 505 510

<210> 30

<211> 529

<212> PRT

<213> Cavia porcellus

<220>

<223> Precursor guinea pig PH20

<400> 30

Met Gly Ala Phe Thr Phe Lys His Ser Phe Phe Gly Ser Phe Val Glu

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Ala Asp Lys Arg Ala Pro Pro Leu Ile Pro Asn Val Pro Leu

35 40 45

Leu Trp Val Trp Asn Ala Pro Thr Glu Phe Cys Ile Gly Gly Thr Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Asn Ile Thr Gly Gln Ser Ile Thr Leu Tyr Tyr Val Asp Arg Leu Gly

85 90 95

Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Pro His Thr Gly Ala Ile Val His Gly Gly

100 105 110

Leu Pro Gln Leu Met Asn Leu Gln Gln His Leu Arg Lys Ser Arg Gln

115 120 125

Asp Ile Leu Phe Tyr Met Pro Thr Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile

130 135 140

Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Thr Arg Asn Trp Arg Pro Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

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

 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Gly Gln Val Leu Cys Lys Asn Gln
 370 375 380
 Gly Ile Cys Thr Arg Lys Asp Trp Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Ala Thr Asn Phe Asp Ile Glu Leu Gln Gln Asn Gly Lys Phe Val
 405 410 415
 Val His Gly Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Gln Glu Phe Ser Lys Asn

420 425 430

Phe His Cys Ser Cys Tyr Thr Asn Val Ala Cys Lys Asp Arg Leu Asp
435 440 445

Val His Asn Val Arg Ser Val Asn Val Cys Thr Ala Asn Asn Ile Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Val Leu Asn Phe Pro Ser Leu Asp Asp Asp Asp Glu Pro
465 470 475 480

Pro Ile Thr Asp Asp Thr Ser Gln Asn Gln Asp Ser Ile Ser Asp Ile
485 490 495

Thr Ser Ser Ala Pro Pro Ser Ser His Ile Leu Pro Lys Asp Leu Ser
500 505 510

Trp Cys Leu Phe Leu Leu Ser Ile Phe Ser Gln His Trp Lys Tyr Leu
515 520 525

Leu

<210> 31

<211> 512

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<220>

<223> Precursor rat PH20

<400> 31

Met Gly Glu Leu Gln Phe Lys Trp Leu Phe Trp Arg Ser Phe Ala Glu
1 5 10 15

Ser Gly Gly Thr Phe Gln Thr Val Leu Ile Phe Leu Phe Ile Pro Tyr
20 25 30

Ser Leu Thr Val Asp Tyr Arg Ala Thr Pro Val Leu Ser Asp Thr Thr
35 40 45

Phe Val Trp Val Trp Asn Val Pro Thr Glu Ala Cys Val Glu Asn Val
50 55 60

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

65	70	75	80
Lys Thr Ala Ile Gly Gln Pro Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu			
	85	90	95
Gly Asn Tyr Pro His Ile Asp Ala Gln Gln Thr Glu His His Gly Gly			
	100	105	110
Ile Pro Gln Lys Gly Asp Leu Thr Thr His Leu Val Lys Ala Lys Glu			
	115	120	125
Asp Val Glu Arg Tyr Ile Pro Thr Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile			
	130	135	140
Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Met Arg Asn Trp Thr Pro Lys			
145	150	155	160
Asp Ile Tyr Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Gln Ala Ala Asp Pro			
	165	170	175
Ala Ile Asn Ile Thr Glu Ala Thr Val Arg Ala Lys Ala Gln Phe Glu			
	180	185	190
Gly Ala Ala Lys Glu Phe Met Glu Gly Thr Leu Lys Leu Gly Lys His			
	195	200	205
Ile Arg Pro Lys His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr			
	210	215	220
Asn Asn Lys Phe Gln Val Asp Asn Tyr Asp Gly Gln Cys Pro Asp Val			
225	230	235	240
Glu Lys Lys Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr			
	245	250	255
Gly Leu Tyr Pro Ser Val Tyr Leu Lys Lys Asp Leu Lys Ser Ser Arg			
	260	265	270
Lys Ala Thr Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Leu Glu Ser Ile Arg Val			
	275	280	285
Ser Lys Val Ser Asp Glu Ser Asn Pro Val Pro Ile Phe Val Tyr Ile			
	290	295	300
Arg Leu Val Phe Thr Asp His Val Ser Glu Tyr Leu Leu Glu Asp Asp			
305	310	315	320

Leu Val Asn Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Gln Gly Thr Ser Gly Ile
325 330 335

Ile Ile Trp Asp Ala Met Ser Leu Ala Gln Arg Ser Ala Gly Cys Pro
340 345 350

Ile Leu Arg Gln Tyr Met Lys Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Val Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Lys Glu Lys
370 375 380

Gly Met Cys Ser Arg Lys Thr Glu Ser Ser Asp Ala Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asp Pro Ser Ser Phe Ser Ile Asn Val Thr Glu Ala Gly Lys Tyr Glu
405 410 415

Val Leu Gly Lys Pro Glu Val Lys Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His
420 425 430

Phe Lys Cys Ser Cys Phe Ser Lys Met Thr Cys Glu Glu Thr Ser Asp
435 440 445

Met Arg Ser Ile Gln Asp Val Asn Val Cys Met Gly Asp Asn Val Cys
450 455 460

Ile Lys Ala Thr Leu Gly Pro Asn Ser Ala Phe His Leu Leu Pro Gly
465 470 475 480

Lys Gly Leu Leu Leu Met Thr Thr Leu Ala His Ile Leu His His Leu
485 490 495

Pro His Asp Ile Phe Val Phe Pro Trp Lys Met Leu Val Ser Thr Pro
500 505 510

<210> 32

<211> 512

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> Precursor mouse PH20

<400> 32

Met Gly Glu Leu Arg Phe Lys His Leu Phe Trp Gly Ser Phe Val Glu

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

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

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

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

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

260 265 270
Gln Ala Thr Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Val Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Val Gly Asn Ala Ser Asp Pro Val Pro Ile Phe Val Tyr Ile

290 295 300
Arg Leu Val Phe Thr Asp Arg Thr Ser Glu Tyr Leu Leu Glu Asp Asp

305 310 315 320
Leu Val Asn Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Thr Ser Gly Ile

325 330 335
Ile Ile Trp Asp Ala Met Ser Leu Ala Gln Arg Ala Ala Gly Cys Pro

340 345 350
Ile Leu His Lys Tyr Met Gln Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Val Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Asn Glu Lys

370 375 380
Gly Met Cys Ser Arg Arg Lys Glu Ser Ser Asp Val Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Ser His Phe Asp Ile Met Leu Thr Glu Thr Gly Lys Tyr Glu

405 410 415
Val Leu Gly Asn Pro Arg Val Gly Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His

420 425 430
Phe Lys Cys Ser Cys Phe Ser Arg Met Thr Cys Lys Glu Thr Ser Asp

435 440 445
Val Lys Asn Val Gln Asp Val Asn Val Cys Val Gly Asp Asn Val Cys

450 455 460
Ile Lys Ala Lys Val Glu Pro Asn Pro Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly

465 470 475 480
Lys Ser Leu Leu Phe Met Thr Thr Leu Gly His Val Leu Tyr His Leu

485 490 495

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

500

505

510

<210> 33

<211> 807

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 33

Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu

1

5

10

15

Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val

20

25

30

Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp

35

40

45

Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp

50

55

60

Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Thr

65

70

75

80

Glu Lys Glu Ala Thr Asn Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Gly

85

90

95

Arg Lys Tyr Leu Trp Ser Gly Ala Glu Thr Leu Glu Thr Asn Ser Ser

100

105

110

His Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met

115

120

125

Arg Asn Pro Lys Thr Thr Leu Asn Thr Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val

130

135

140

Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro

145

150

155

160

Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly

165

170

175

Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Lys

180	185	190
Ser Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Gln Phe Ser Asn Glu		
195	200	205
Glu Lys Lys Lys Phe Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Asp Ser		
210	215	220
Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Leu Ala Lys Gly Gly		
225	230	235
240		
Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Cys Ile Ile Glu		
245	250	255
Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys Val		
260	265	270
Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe		
275	280	285
Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly		
290	295	300
Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro Met		
305	310	315
320		
Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Gln Asn Asp Thr Thr Leu		
325	330	335
Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu		
340	345	350
Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr		
355	360	365
Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser		
370	375	380
Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys		
385	390	395
400		
Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Asn Asp Tyr Leu Asn		
405	410	415
Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser		
420	425	430

Ile Ser Lys Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
435 440 445

Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
450 455 460

Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu
465 470 475 480

Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn
485 490 495

Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Trp Val Thr Ala Asp Met
500 505 510

Lys Arg Leu Ser Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asn Glu Ile Leu Lys Asp
515 520 525

Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val
530 535 540

Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys
545 550 555 560

Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val
565 570 575

Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val
580 585 590

Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr Asp
595 600 605

Asp Lys Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Asn Asn Ser Val Phe
610 615 620

Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn
625 630 635 640

Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys
645 650 655

Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr
660 665 670

Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val

675 680 685
 Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
 690 695 700

Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
 705 710 715 720
 Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
 725 730 735
 Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
 740 745 750
 Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
 755 760 765

Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
 770 775 780
 Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
 785 790 795 800
 Val His Phe Glu Leu Thr Lys
 805

<210> 34

<211> 371

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes bacteriophage H4489A

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 34

Met Thr Glu Asn Ile Pro Leu Arg Val Gln Phe Lys Arg Met Ser Ala

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

Thr Gly Leu Gln Gly Lys Thr Gly Gly Thr Gly Pro Arg Gly Pro Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gly Ala Phe Ala Gln Lys Glu Glu Thr Asn Ser Lys Ile Thr Lys

100 105 110

Leu Glu Ser Ser Lys Ala Asp Lys Ser Ala Val Tyr Ser Lys Ala Glu

115 120 125

Ser Lys Ile Glu Leu Asp Lys Lys Leu Ser Leu Thr Gly Gly Ile Val

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser Val Gly Gly Ala Ile Asn Ile Asp Met Ser Lys Ser Glu Gly

165 170 175

Ala Ala Met Val Met Tyr Thr Asn Lys Asp Thr Thr Asp Gly Pro Leu

180 185 190

Met Ile Leu Arg Ser Asp Lys Asp Thr Phe Asp Gln Ser Ala Gln Phe

195 200 205

Val Asp Tyr Ser Gly Lys Thr Asn Ala Val Asn Ile Val Met Arg Gln

210 215 220

Pro Ser Ala Pro Asn Phe Ser Ser Ala Leu Asn Ile Thr Ser Ala Asn

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Leu Lys Ile Thr His Glu Asn Pro Asn Val Glu Ala Lys Tyr Asp

260 265 270

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

275 280 285

Gly Lys Gly Thr Ala Ala Gln Gly Ile Tyr Ile Asn Ser Thr Ser Gly

290 295 300

Thr Ala Gly Lys Met Leu Arg Ile Arg Asn Lys Asn Glu Asp Lys Phe

305 310 315 320
Tyr Val Gly Pro Asp Gly Gly Phe His Ser Gly Ala Asn Ser Thr Val

325 330 335
Ala Gly Asn Leu Thr Val Lys Asp Pro Thr Ser Gly Lys His Ala Ala

340 345 350
Thr Lys Asp Tyr Val Asp Glu Lys Ile Ala Glu Leu Lys Lys Leu Ile

355 360 365
Leu Lys Lys

370

<210> 35

<211> 1628

<212> PRT

<213> Clostridium perfringens

<220>

<223> hyaluronidase

<400> 35

Met Asn Lys Asn Ile Arg Lys Ile Ile Thr Ser Thr Val Leu Ala Ala

1 5 10 15
Met Thr Ile Ser Val Leu Pro Ser Asn Leu Val Val Phe Ala Thr Asp

20 25 30
Gly Ile Thr Glu Asn Phe Tyr Glu Ile Tyr Pro Lys Pro Gln Glu Ile

35 40 45
Ser Tyr Ser Gly Gly Glu Phe Gln Ile Ser Asp Glu Ile Asn Ile Val

50 55 60
Tyr Asp Asp Gly Ile Asp Thr Tyr Thr Lys Lys Arg Val Asp Glu Val

65 70 75 80
Leu Glu Ala Ser Asn Leu Glu Ala Thr Val Ser Asn Glu Ile Val Pro

85 90 95
Gly Lys Thr Asn Phe Leu Val Gly Ile Asn Glu Ser Gly Gly Val Val

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

115 120 125

Glu Lys Met Asp Ala Asn Ile Val Ser Val Lys Asp Gly Val Ile Gly

130

135

140

Val Ile Gly Glu Asp Thr Asp Ser Ala Phe Tyr Gly Val Thr Thr Leu

145

150

155

160

Lys His Val Phe Asn Gln Leu Glu Glu Gly Asn Lys Ile Gln Ser Phe

165

170

175

Arg Ala Asp Asp Tyr Ala Glu Val Ala His Arg Gly Phe Ile Glu Gly

180

185

190

Tyr Tyr Gly Asn Pro Trp Ser Asn Glu Asp Arg Ala Glu Leu Met Lys

195

200

205

Phe Gly Gly Asp Tyr Lys Leu Asn Gln Tyr Val Phe Ala Pro Lys Asp

210

215

220

Asp Pro Tyr His Asn Ser Lys Trp Arg Asp Leu Tyr Pro Glu Glu Lys

225

230

235

240

Leu Ser Glu Ile Lys Lys Leu Ala Gln Val Gly Asn Glu Thr Lys Asn

245

250

255

Arg Tyr Val Tyr Ala Leu His Pro Phe Met Asn Asn Pro Val Arg Phe

260

265

270

Asp Thr Glu Glu Asn Tyr Gln Asn Asp Leu Gly Val Ile Lys Ala Lys

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

Asp Leu Lys Thr Asp Leu Met Phe Cys Pro Ser Asp Tyr Tyr Gly Asn

340

345

350

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

355

360

365

Ser Ile Val Met Thr Gly Gly Arg Ile Trp Gly Glu Val Asp Glu Asn

370 375 380
 Phe Ala Asn Asn Phe Met Asn Asn Ile Ser Thr Glu Gly His Pro Gly

 385 390 395 400
 Arg Ala Pro Phe Phe Trp Ile Asn Trp Pro Cys Ser Asp Asn Ser Lys
 405 410 415
 Gln His Leu Ile Met Gly Gly Asn Asp Thr Phe Leu His Pro Gly Val
 420 425 430
 Asp Pro Ser Lys Ile Asp Gly Ile Val Leu Asn Pro Met Gln Gln Ala
 435 440 445
 Glu Ala Asn Lys Ser Ala Leu Phe Ala Ile Ala Asp Tyr Ala Trp Asn

 450 455 460
 Ile Trp Asp Asn Lys Glu Glu Ala Asp Glu Asn Trp Asn Asp Ser Phe
 465 470 475 480
 Lys Tyr Met Asp His Gly Thr Ala Glu Glu Thr Asn Ser Ser Leu Ala
 485 490 495
 Leu Arg Glu Ile Ser Lys His Met Ile Asn Gln Asn Met Asp Gly Arg
 500 505 510
 Val Arg Pro Leu Gln Glu Ser Val Glu Leu Ala Pro Lys Leu Glu Ala

 515 520 525
 Phe Lys Gln Lys Tyr Asp Ser Gly Ala Ser Ile Lys Glu Asp Ala Leu
 530 535 540
 Glu Leu Ile Ala Glu Phe Thr Asn Leu Gln Lys Ala Ala Asp Tyr Tyr
 545 550 555 560
 Lys Asn Asn Pro Gly Asn Glu Arg Thr Arg Asp Gln Ile Ile Tyr Trp
 565 570 575
 Leu Asn Cys Trp Glu Asp Thr Met Asp Ala Ala Ile Gly Tyr Leu Lys

 580 585 590
 Ser Ala Ile Ala Ile Glu Glu Gly Asp Asp Glu Ala Ala Trp Ala Asn
 595 600 605
 Tyr Ser Glu Ala Gln Gly Ala Phe Glu Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Phe
 610 615 620

His Tyr Val Asp His Thr Glu Tyr Ala Glu Val Gly Val Gln His Ile
 625 630 635 640
 Val Pro Phe Ile Lys Ser Met Gly Gln Asn Leu Ser Val Val Ile Gly

 645 650 655
 Ser Ile Val Asp Pro Asn Arg Ile Ile Ala Thr Tyr Ile Ser Asn Arg
 660 665 670
 Gln Asp Ala Pro Thr Gly Asn Pro Asp Asn Ile Phe Asp Asn Asn Ala
 675 680 685
 Ser Thr Glu Leu Val Tyr Lys Asn Pro Asn Arg Ile Asp Val Gly Thr
 690 695 700
 Tyr Val Gly Val Lys Tyr Ser Asn Pro Ile Thr Leu Asn Asn Val Glu

 705 710 715 720
 Phe Leu Met Gly Ala Asn Ser Asn Pro Asn Asp Thr Met Gln Lys Ala
 725 730 735
 Lys Ile Gln Tyr Thr Val Asp Gly Arg Glu Trp Ile Asp Leu Glu Glu
 740 745 750
 Gly Val Glu Tyr Thr Met Pro Gly Ala Ile Lys Val Glu Asn Leu Asp
 755 760 765
 Leu Lys Val Arg Gly Val Arg Leu Ile Ala Thr Glu Ala Arg Glu Asn

 770 775 780
 Thr Trp Leu Gly Val Arg Asp Ile Asn Val Asn Lys Lys Glu Asp Ser
 785 790 795 800
 Asn Ser Gly Val Glu Phe Asn Pro Ser Leu Ile Arg Ser Glu Ser Trp
 805 810 815
 Gln Val Tyr Glu Gly Asn Glu Ala Asn Leu Leu Asp Gly Asp Asp Asn
 820 825 830
 Thr Gly Val Trp Tyr Lys Thr Leu Asn Gly Asp Thr Ser Leu Ala Gly

 835 840 845
 Glu Phe Ile Gly Leu Asp Leu Gly Lys Glu Ile Lys Leu Asp Gly Ile
 850 855 860
 Arg Phe Val Ile Gly Lys Asn Gly Gly Gly Ser Ser Asp Lys Trp Asn

865 870 875 880
 Lys Phe Lys Leu Glu Tyr Ser Leu Asp Asn Glu Ser Trp Thr Thr Ile
 885 890 895
 Lys Glu Tyr Asp Lys Thr Gly Ala Pro Ala Gly Lys Asp Val Ile Glu

 900 905 910
 Glu Ser Phe Glu Thr Pro Ile Ser Ala Lys Tyr Ile Arg Leu Thr Asn
 915 920 925
 Met Glu Asn Ile Asn Lys Trp Leu Thr Phe Ser Glu Phe Ala Ile Ile
 930 935 940
 Ser Asp Glu Leu Glu Asn Ala Gly Asn Lys Glu Asn Val Tyr Thr Asn
 945 950 955 960
 Thr Glu Leu Asp Leu Leu Ser Leu Ala Lys Glu Asp Val Thr Lys Leu

 965 970 975
 Ile Pro Thr Asp Asp Ile Ser Leu Asn His Gly Glu Tyr Ile Gly Val
 980 985 990
 Lys Leu Asn Arg Ile Lys Asp Leu Ser Asn Ile Asn Leu Glu Ile Ser
 995 1000 1005
 Asn Asp Thr Gly Leu Lys Leu Gln Ser Ser Met Asn Gly Val Glu Trp
 1010 1015 1020
 Thr Glu Ile Thr Asp Lys Asn Thr Leu Glu Asp Gly Arg Tyr Val Arg

 1025 1030 1035 1040
 Leu Ile Asn Thr Ser Asn Glu Ala Val Asn Phe Asn Leu Thr Lys Phe
 1045 1050 1055
 Glu Val Asn Ser Asn Glu Val Tyr Glu Pro Ser Leu Val Asp Ala Tyr
 1060 1065 1070
 Val Gly Asp Asp Gly Ala Lys Lys Ala Val Asp Gly Asp Leu Lys Thr
 1075 1080 1085
 Arg Val Lys Phe Leu Gly Ala Pro Ser Thr Gly Asp Thr Ile Val Tyr

 1090 1095 1100
 Asp Leu Gly Gln Glu Ile Leu Val Asp Asn Leu Lys Tyr Val Val Leu
 1105 1110 1115 1120

Asp Thr Glu Val Asp His Val Arg Asp Gly Lys Ile Gln Leu Ser Leu
 1125 1130 1135
 Asp Gly Glu Thr Trp Thr Asp Ala Ile Thr Ile Gly Asp Gly Val Glu
 1140 1145 1150
 Asn Gly Val Asp Asp Met Phe Ser Thr Pro Leu Lys Asn Gly Tyr Lys
 1155 1160 1165
 His Gly Asn Gln Ser Gly Gly Ile Val Pro Ile Asp Ser Ala Tyr Val
 1170 1175 1180
 Glu Gly Asp Asn Leu Asn Gln Lys Ala Arg Tyr Val Arg Ile Leu Phe
 1185 1190 1195 1200
 Thr Ala Pro Tyr Arg His Arg Trp Thr Val Ile Asn Glu Leu Met Ile
 1205 1210 1215
 Asn Asn Gly Glu Tyr Ile Ser Thr Val Asn Asp Pro Thr Tyr Ile Ser
 1220 1225 1230
 Asn Pro Ile Glu Glu Arg Gly Phe Ala Pro Ser Asn Leu Arg Asp Gly
 1235 1240 1245
 Asn Leu Thr Thr Ser Tyr Lys Pro Asn Thr Asn Asn Gly Glu Ile Ser
 1250 1255 1260
 Glu Gly Ser Ile Thr Tyr Arg Leu Ser Glu Lys Thr Asp Val Arg Lys
 1265 1270 1275 1280
 Val Thr Ile Val Gln Ser Gly Ser Ser Ile Ser Asn Ala Lys Val Met
 1285 1290 1295
 Ala Arg Val Gly Asp Gly Ser Glu Asn Val Thr Asp Gln Trp Val Gln
 1300 1305 1310
 Leu Gly Thr Leu Ser Asn Ser Leu Asn Glu Phe Ile Asn Arg Asp Tyr
 1315 1320 1325
 Asn Asn Ile Tyr Glu Ile Lys Ile Glu Trp Thr Asp Val Ala Pro Asn
 1330 1335 1340
 Ile Tyr Glu Ile Ile Thr Leu Asn Gln Glu Phe Glu Phe Pro Val Asn
 1345 1350 1355 1360
 Asp Ser Leu Lys Ala Lys Tyr Asp Glu Leu Ile Asn Leu Ser Gly Asp

1365	1370	1375	
Glu Tyr Thr Leu Ser Ser Phe Glu Thr Leu Lys Glu Ala Leu Asn Glu			
1380	1385	1390	
Ala Lys Ser Ile Leu Asp Asp Ser Asn Ser Ser Gln Lys Lys Ile Asp			
1395	1400	1405	
Lys Ala Leu Glu Lys Leu Asn Lys Ala Glu Glu Arg Leu Asp Leu Arg			
1410	1415	1420	
Ala Thr Asp Phe Glu Asp Phe Asn Lys Val Leu Thr Leu Gly Asn Ser			
1425	1430	1435	1440
Leu Val Glu Glu Glu Tyr Thr Ala Glu Ser Trp Ala Leu Phe Ser Glu			
1445	1450	1455	
Val Leu Glu Ala Ala Asn Glu Ala Asn Lys Asn Lys Ala Asp Tyr Thr			
1460	1465	1470	
Gln Asp Gln Ile Asn Gln Ile Val Ile Asp Leu Asp Ala Ser Ile Lys			
1475	1480	1485	
Ala Leu Val Lys Glu Thr Pro Glu Val Asp Lys Thr Asn Leu Gly Glu			
1490	1495	1500	
Leu Ile Asn Gln Gly Lys Ser Leu Leu Asp Glu Ser Val Glu Gly Phe			
1505	1510	1515	1520
Asn Val Gly Glu Tyr His Lys Gly Ala Lys Asp Gly Leu Thr Val Glu			
1525	1530	1535	
Ile Asn Lys Ala Glu Glu Val Phe Asn Lys Glu Asp Ala Thr Glu Glu			
1540	1545	1550	
Glu Ile Asn Leu Ala Lys Glu Ser Leu Glu Gly Ala Ile Ala Arg Phe			
1555	1560	1565	
Asn Ser Leu Leu Ile Glu Glu Ser Thr Gly Asp Phe Asn Gly Asn Gly			
1570	1575	1580	
Lys Ile Asp Ile Gly Asp Leu Ala Met Val Ser Lys Asn Ile Gly Ser			
1585	1590	1595	1600
Thr Thr Asn Thr Ser Leu Asp Leu Asn Lys Asp Gly Ser Ile Asp Glu			
1605	1610	1615	

Tyr Glu Ile Ser Phe Ile Asn His Arg Ile Leu Asn

1620

1625

<210> 36

<211> 435

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hyaluronidase-1 [Precursor]

<400> 36

Met Ala Ala His Leu Leu Pro Ile Cys Ala Leu Phe Leu Thr Leu Leu

1

5

10

15

Asp Met Ala Gln Gly Phe Arg Gly Pro Leu Leu Pro Asn Arg Pro Phe

20

25

30

Thr Thr Val Trp Asn Ala Asn Thr Gln Trp Cys Leu Glu Arg His Gly

35

40

45

Val Asp Val Asp Val Ser Val Phe Asp Val Val Ala Asn Pro Gly Gln

50

55

60

Thr Phe Arg Gly Pro Asp Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Gln Leu Gly

65

70

75

80

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

85

90

95

Pro Gln Asn Ala Ser Leu Ile Ala His Leu Ala Arg Thr Phe Gln Asp

100

105

110

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

115

120

125

Asp Trp Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asn Trp Asp Thr Lys

130

135

140

Asp Ile Tyr Arg Gln Arg Ser Arg Ala Leu Val Gln Ala Gln His Pro

145

150

155

160

Asp Trp Pro Ala Pro Gln Val Glu Ala Val Ala Gln Asp Gln Phe Gln

165

170

175

Gly Ala Ala Arg Ala Trp Met Ala Gly Thr Leu Gln Leu Gly Arg Ala

180	185	190
Leu Arg Pro Arg Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr		
195	200	205
Asn Tyr Asp Phe Leu Ser Pro Asn Tyr Thr Gly Gln Cys Pro Ser Gly		
210	215	220
Ile Arg Ala Gln Asn Asp Gln Leu Gly Trp Leu Trp Gly Gln Ser Arg		
225	230	235
Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Met Pro Ala Val Leu Glu Gly Thr Gly		
245	250	255
Lys Ser Gln Met Tyr Val Gln His Arg Val Ala Glu Ala Phe Arg Val		
260	265	270
Ala Val Ala Ala Gly Asp Pro Asn Leu Pro Val Leu Pro Tyr Val Gln		
275	280	285
Ile Phe Tyr Asp Thr Thr Asn His Phe Leu Pro Leu Asp Glu Leu Glu		
290	295	300
His Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu		
305	310	315
Trp Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile		
325	330	335
Lys Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr		
340	345	350
Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg		
355	360	365
Cys Val Arg Arg Thr Ser His Pro Lys Ala Leu Leu Leu Leu Asn Pro		
370	375	380
Ala Ser Phe Ser Ile Gln Leu Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Ser Leu		
385	390	395
Arg Gly Ala Leu Ser Leu Glu Asp Gln Ala Gln Met Ala Val Glu Phe		
405	410	415
Lys Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Gln Ala Pro Trp Cys Glu Arg Lys		
420	425	430

Ser Met Trp

435

<210> 37

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hyaluronidase-2 [Precursor]

<400> 37

Met Arg Ala Gly Pro Gly Pro Thr Val Thr Leu Ala Leu Val Leu Ala

1 5 10 15

Val Ala Trp Ala Met Glu Leu Lys Pro Thr Ala Pro Pro Ile Phe Thr

20 25 30

Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Trp Asp Val Pro Thr Gln Asp Cys Gly

35 40 45

Pro Arg Leu Lys Val Pro Leu Asp Leu Asn Ala Phe Asp Val Gln Ala

50 55 60

Ser Pro Asn Glu Gly Phe Val Asn Gln Asn Ile Thr Ile Phe Tyr Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu Asp Trp Arg Pro Val Trp Val Arg Asn

130 135 140

Trp Gln Asp Lys Asp Val Tyr Arg Arg Leu Ser Arg Gln Leu Val Ala

145 150 155 160

Ser Arg His Pro Asp Trp Pro Pro Asp Arg Ile Val Lys Gln Ala Gln

165 170 175

Tyr Glu Phe Glu Phe Ala Ala Gln Gln Phe Met Leu Glu Thr Leu Arg

180	185	190
Tyr Val Lys Ala Val Arg Pro Arg His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe		
195	200	205
Pro Asp Cys Tyr Asn His Asp Tyr Val Gln Asn Trp Glu Ser Tyr Thr		
210	215	220
Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ala Arg Asn Asp Gln Leu Ala Trp		
225	230	235
240		
Leu Trp Ala Glu Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Glu		
245	250	255
Thr Leu Ala Ser Ser Arg His Gly Arg Asn Phe Val Ser Phe Arg Val		
260	265	270
Gln Glu Ala Leu Arg Val Ala Arg Thr His His Ala Asn His Ala Leu		
275	280	285
Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Ser Arg Arg Leu Thr Gly		
290	295	300
Leu Ser Glu Met Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu		
305	310	315
320		
Gly Ala Ala Gly Val Ile Leu Trp Gly Asp Ala Gly Tyr Thr Thr Ser		
325	330	335
Thr Glu Thr Cys Gln Tyr Leu Lys Asp Tyr Leu Thr Arg Leu Leu Val		
340	345	350
Pro Tyr Val Val Asn Val Ser Trp Ala Thr Gln Tyr Cys Ser Arg Ala		
355	360	365
Gln Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Pro Ser Ala Ser		
370	375	380
Thr Phe Leu His Leu Ser Thr Asn Ser Phe Arg Leu Val Pro Gly His		
385	390	395
400		
Ala Pro Gly Glu Pro Gln Leu Arg Pro Val Gly Glu Leu Ser Trp Ala		
405	410	415
Asp Ile Asp His Leu Gln Thr His Phe Arg Cys Gln Cys Tyr Leu Gly		
420	425	430

Trp Ser Gly Glu Gln Cys Gln Trp Asp His Arg Gln Ala Ala Gly Gly
435 440 445
Ala Ser Glu Ala Trp Ala Gly Ser His Leu Thr Ser Leu Leu Ala Leu
450 455 460
Ala Ala Leu Ala Phe Thr Trp Thr Leu
465 470
<210> 38
<211> 417
<212> PRT
<213>
> Homo sapiens
<220>
<223> Hyaluronidase-3 [Precursor]
<400> 38
Met Thr Thr Gln Leu Gly Pro Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Leu Cys
1 5 10 15
Leu Gly Cys Gly Gln Pro Leu Pro Gln Val Pro Glu Arg Pro Phe Ser
20 25 30
Val Leu Trp Asn Val Pro Ser Ala His Cys Glu Ala Arg Phe Gly Val
35 40 45
His Leu Pro Leu Asn Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn Arg Gly Gln His
50 55 60
Phe His Gly Gln Asn Met Thr Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Leu Gly Leu
65 70 75 80
Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Pro
85 90 95
Gln Ala Leu Pro Leu Asp Arg His Leu Ala Leu Ala Ala Tyr Gln Ile
100 105 110
His His Ser Leu Arg Pro Gly Phe Ala Gly Pro Ala Val Leu Asp Trp
115 120 125
Glu Glu Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Arg Arg Arg Ala
130 135 140
Tyr Gln Ala Ala Ser Trp Ala Trp Ala Gln Gln Val Phe Pro Asp Leu

145 150 155 160
 Asp Pro Gln Glu Gln Leu Tyr Lys Ala Tyr Thr Gly Phe Glu Gln Ala
 165 170 175
 Ala Arg Ala Leu Met Glu Asp Thr Leu Arg Val Ala Gln Ala Leu Arg

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

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

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

 370 375 380
 Gly Ser Leu Gly Asp Trp Lys Ser Phe Ser Cys His Cys Tyr Trp Gly
 385 390 395 400

Trp Ala Gly Pro Thr Cys Gln Glu Pro Arg Pro Gly Pro Lys Glu Ala
405 410 415

Val

<210> 39

<211> 481

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hyaluronidase-4

<400> 39

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

Val His Leu Thr Ser Trp Leu Leu Ile Phe Phe Ile Leu Lys Ser Ile
20 25 30

Ser Cys Leu Lys Pro Ala Arg Leu Pro Ile Tyr Gln Arg Lys Pro Phe
35 40 45

Ile Ala Ala Trp Asn Ala Pro Thr Asp Gln Cys Leu Ile Lys Tyr Asn
50 55 60

Leu Arg Leu Asn Leu Lys Met Phe Pro Val Ile Gly Ser Pro Leu Ala
65 70 75 80

Lys Ala Arg Gly Gln Asn Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu Gly
85 90 95

Tyr Tyr Pro Trp Tyr Thr Ser Gln Gly Val Pro Ile Asn Gly Gly Leu
100 105 110

Pro Gln Asn Ile Ser Leu Gln Val His Leu Glu Lys Ala Asp Gln Asp
115 120 125

Ile Asn Tyr Tyr Ile Pro Ala Glu Asp Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile
130 135 140

Asp Trp Glu Tyr Trp Arg Pro Gln Trp Ala Arg Asn Trp Asn Ser Lys
145 150 155 160

Asp Val Tyr Arg Gln Lys Ser Arg Lys Leu Ile Ser Asp Met Gly Lys

165	170	175
Asn Val Ser Ala Thr Asp Ile Glu Tyr Leu Ala Lys Val Thr Phe Glu		
180	185	190
Glu Ser Ala Lys Ala Phe Met Lys Glu Thr Ile Lys Leu Gly Ile Lys		
195	200	205
Ser Arg Pro Lys Gly Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Tyr Pro Asp Cys His		
210	215	220
Asn Tyr Asn Val Tyr Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Ser Cys Pro Glu Asp		
225	230	235
Glu Val Leu Arg Asn Asn Glu Leu Ser Trp Leu Trp Asn Ser Ser Ala		
245	250	255
Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Gly Val Trp Lys Ser Leu Gly Asp Ser Glu		
260	265	270
Asn Ile Leu Arg Phe Ser Lys Phe Arg Val His Glu Ser Met Arg Ile		
275	280	285
Ser Thr Met Thr Ser His Asp Tyr Ala Leu Pro Val Phe Val Tyr Thr		
290	295	300
Arg Leu Gly Tyr Arg Asp Glu Pro Leu Phe Phe Leu Ser Lys Gln Asp		
305	310	315
Leu Val Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Ile		
325	330	335
Val Ile Trp Gly Asp Met Asn Leu Thr Ala Ser Lys Ala Asn Cys Thr		
340	345	350
Lys Val Lys Gln Phe Val Ser Ser Asp Leu Gly Ser Tyr Ile Ala Asn		
355	360	365
Val Thr Arg Ala Ala Glu Val Cys Ser Leu His Leu Cys Arg Asn Asn		
370	375	380
Gly Arg Cys Ile Arg Lys Met Trp Asn Ala Pro Ser Tyr Leu His Leu		
385	390	395
Asn Pro Ala Ser Tyr His Ile Glu Ala Ser Glu Asp Gly Glu Phe Thr		
405	410	415

Val Lys Gly Lys Ala Ser Asp Thr Asp Leu Ala Val Met Ala Asp Thr
 420 425 430
 Phe Ser Cys His Cys Tyr Gln Gly Tyr Glu Gly Ala Asp Cys Arg Glu
 435 440 445
 Ile Lys Thr Ala Asp Gly Cys Ser Gly Val Ser Pro Ser Pro Gly Ser
 450 455 460

Leu Met Thr Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ala Ser Tyr Arg Ser Ile Gln
 465 470 475 480
 Leu

<210> 40

<211> 467

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-467

<400> 40

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
 20 25 30

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

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
 100 105 110
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

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

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460

Ile Asp Ala

465

<210> 41

<211> 477

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-477

<400> 41

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

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
165 170 175

Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380

 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445

 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu
 465 470 475
 <210> 42
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 precursor 1-478

 <400> 42
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys

 20 25 30
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

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

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

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

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

 275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro

465 470 475

<210> 43

<211> 479

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-479

<400> 43

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

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

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

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

 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln
 465 470 475
 <210> 44
 <211> 480
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-480

<400> 44

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg

65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
 210 215 220
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
 245 250 255
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
 275 280 285
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
 290 295 300
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
 305 310 315 320
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
 325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 465 470 475 480
 <210> 45
 <211> 481
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 precursor 1-481

 <400> 45
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
 20 25 30

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

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

 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe		
180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys		
195	200	205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys		
210	215	220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn		
225	230	235
240		
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser		
245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val		
260	265	270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val		
275	280	285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr		
290	295	300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu		
305	310	315
320		
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile		
325	330	335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu		
340	345	350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn		
355	360	365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln		
370	375	380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu		
385	390	395
400		
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr		
405	410	415

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe

<210> 46

<211> 483

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-483

<400> 46

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

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

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

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

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

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

355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430

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

 <210> 47
 <211> 432
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 mature 36-467

 <400> 47
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

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

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

<210> 48

<211> 448

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 mature 36-483

<400> 48

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430

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

435 440 445

<210> 49

<211> 1446

<212> DNA

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$

<223> DNA encoding soluble rHuPH20 "precursor"

<400> 49

atgggagtg c taaaattcaa gcacatcttt ttcagaagct ttgttaaatt aagtggagta 60
tccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttgct tgactctgaa tttcagagca 120
cctcctgtta ttccaaatgt gcccttcttc tgggcctgga atgcccccaag tgaattttgt 180
cttggaaaat ttgatgagcc actagatatg agcctcttct ctttcatagg aagccccga 240
ataaacgcca ccgggcaagg tgttacaata ttttatgttg atagacttgg ctactatcct 300
tacatagatt caatcacagg agtaactgtg aatggaggaa tccccagaa gatttcctta 360

caagaccatc tggacaaagc taagaaagac attacat ttt atatgccagt agacaatttg 420

ggaatggctg ttattgactg ggaagaatgg agaccactt gggcaagaaa ctggaaacct 480

aaagatgttt acaagaatag gtctattgaa ttgggtcagc aacaaaatgt acaacttagt 540

ctcacagagg cactgagaa agcaaaacaa gaatttgaaa aggcaggga ggatttcctg 600

gtagagacta taaaattggg aaaattactt cggccaaatc acttgtgggg ttattatctt 660

tttccggatt gttacaacca tcaactataag aaacccggtt acaatggaag ttgcttcaat 720

gtagaaataa aaagaaatga tgatctcagc tggttgtgga atgaaagcac tgctctttac 780

ccatccattt atttgaacac tcagcagtct cctgtagctg ctacactcta tgtgcgcaat 840

cgagttcggg aagccatcag agtttccaaa atacctgatg caaaaagtcc acttccggtt 900

tttgcataata cccgcatagt ttttactgat caagttttga aattcctttc tcaagatgaa 960

cttgtgtata catttggcga aactgttgct ctgggtgctt ctggaattgt aatatgggga 1020

accctcagta taatgcgaag tatgaaatct tgcttgctcc tagacaatta catggagact 1080

atactgaatc cttacataat caacgtcaca ctacgagcca aaatgtgtag ccaagtgtt 1140

tgccaggagc aaggagtgtg tataaggaaa aactggaatt caagtgacta tcttcacctc 1200

aaccagata attttgctat tcaacttgag aaaggtggaa agttcacagt acgtggaaaa 1260

ccgacacttg aagacctgga gcaattttct gaaaaatttt attgcagctg ttatagcacc 1320

ttgagttgta aggagaaagc tgatgtaaaa gacactgatg ctgttgatgt gtgtattgct 1380

gatgggtgtct gtatagatgc ttttctaaaa cctcccatgg agacagaaga acctcaaatt 1440

ttctac 1446

<210> 50

<211> 509

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 variant P48A

<400> 50

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Ala

35	40	45	
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe			
50	55	60	
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg			
65	70	75	80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu			
85	90	95	
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly			
100	105	110	
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys			
115	120	125	
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val			
130	135	140	
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro			
145	150	155	160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn			
165	170	175	
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe			
180	185	190	
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys			
195	200	205	
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys			
210	215	220	
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn			
225	230	235	240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser			
245	250	255	
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val			
260	265	270	
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val			
275	280	285	

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
500 505

<210> 51

<211> 509

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> precursor PH20 variant L499W

<400> 51

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

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

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

 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495

Ser Ile Trp Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu

500 505

<210> 52

<211> 6630

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HZ24 vector

<400> 52

tcaatattgg ccattagcca tattattcat tggttatata gcataaatca atattggcta 60
ttggccattg catacgttgt atctatatca taatatgtac atttatattg gctcatgtcc 120

aatatgaccg ccatgttggc attgattatt gactagtat taatagtaat caattacggg 180
gtcattagtt catagcccat atatggagtt ccgcgttaca taacttacgg taaatggccc 240
gcctggctga ccgccaacg accccgccc attgacgtca ataagacgt atgttcccat 300
agtaacgcca atagggactt tccattgacg tcaatgggtg gagtatttac ggtaaactgc 360
ccacttggca gtacatcaag tgtatcatat gccaagtcgg cccctattg acgtcaatga 420
cggtaaatgg cccgcctggc attatgccca gtacatgacc ttacgggact ttcctacttg 480
gcagtacatc tacgtattag tcatcgctat taccatgggtg atgcggtttt ggcagtacac 540
caatgggcgt ggatagcgtt ttgactcacg gggatttcca agtctccacc ccattgacgt 600

caatgggagt ttgttttggc accaaaatca acgggacttt ccaaagtgc gtaataaccc 660
cgccccgttg acgcaaattg gcggtaggcg tgtacgttgg gaggtctata taagcagagc 720
tcgttttagtg aaccgtcaga tcactagaag ctttattgcg gtagtttata acagttaa 780
tgctaacgca gtcagtgtt ctgacacaac agtctcgaac ttaagctgca gaagttggtc 840
gtgaggcact gggcaggtaa gtatcaaggt tacaagacag gtttaaggag accaatagaa 900
actgggcttg tcgagacaga gaagactcct gcgtttctga taggcaccta ttggtcttac 960
tgacatccac tttgccttc tctccacagg tgtccactcc cagttcaatt acagctctta 1020
aggctagagt acttaatacg actcactata ggctagcatg ggagtgttaa aattcaagca 1080

catctttttc agaagctttg ttaaatcaag tggagtatcc cagatagttt tcaccttcct 1140
tctgattcca tgttgcttga ctctgaattt cagagcacct cctgttattc caaatgtgcc 1200
tttctcttgg gcctggaatg ccccaagtga attttgtctt ggaaaatttg atgagccact 1260
agatatgagc ctcttctctt tcataggaag cccccgaata aacgccaccg ggcaagggtg 1320
tacaatattt tatgttgata gacttggcta ctatccttac atagattcaa tcacaggagt 1380
aactgtgaat ggaggaatcc cccagaagat ttccttaca gaccatctgg acaaagctaa 1440
gaaagacatt acattttata tgccagtaga caatttggga atggctgtta ttgactggga 1500
agaatggaga ccacttggg caagaaactg gaaacctaaa gatgtttaca agaataggtc 1560

tattgaattg gttcagcaac aaaatgtaca acttagtctc acagaggcca ctgagaaagc 1620
aaaacaagaa ttigaaaagg caggaagga tttcttgga gagactataa aattgggaaa 1680
attacttcgg ccaaatcact tgtgggggta ttatctttt cggattgtt acaaccatca 1740
ctataagaaa cccggttaca atggaagtig cttcaatgta gaaataaaaa gaaatgatga 1800
tctcagctgg ttgtggaatg aaagcactgc tctttacca tccatttatt tgaacactca 1860
gcagtctct gtagctgcta cactctatgt gcgcaatcga gttcgggaag ccatcagagt 1920
ttccaaaata ccgatgcaa aaagtcact tccggtttt gcatataccc gcatagtttt 1980
tactgatcaa gttttgaaat tcctttctca agatgaactt gtgtatacat ttggcgaaac 2040

tgttgctctg ggtgcttctg gaattgtaat atggggaacc ctcagtataa tgcgaagtat 2100
gaaatcttgc ttgtcctag acaattacat ggagactata ctgaatcctt acataatcaa 2160
cgtcacacta gcagccaaaa tgtgtagcca agtgccttgc caggagcaag gagtgtgtat 2220
aaggaaaaac tggaattcaa gtgactatct tcacctcaac ccagataatt ttgctattca 2280
acttgagaaa ggtggaaagt tcacagtacg tggaaaaccg acacttgaag acctggagca 2340
atcttctgaa aaattttatt gcagctgtta tagcaccttg agttgtaagg agaaagctga 2400
tgtaaaagac acigatgctg ttgatgtgtg tattgctgat ggtgtctgta tagatgcttt 2460
tctaaaacct ccatggaga cagaagaacc tcaaattttc tactaggat ccatagctaa 2520

cgccctctc cctcccccc ccctaactt actggccgaa gccgttggga ataagccgg 2580
tgtgcgtttg tctatatgtt atttccacc atattgccgt cttttggcaa tgtgagggcc 2640
cggaaacctg gccctgtctt cttgacgagc attcctaggg gtctttcccc tctcgccaaa 2700
ggaatgcaag gtctgttgaa tgtctgtaag gaagcagttc ctctggaagc ttcttgaaga 2760
caaacaactg ctgtagcgac cctttgcagg cagcggaacc cccacactgg cgacaggtgc 2820
ctctgcggcc aaaagccagc tgtataagat acacctgcaa aggcggcaca acccagtg 2880
cacgttgtga gttggatagt tgtggaaaga gtcaaatggc tctcctcaag cgtattcaac 2940

aaggggctga aggatgccca gaaggtaccc cattgtatgg gatctgatct ggggcctcgg 3000

tgccatgct ttacatgigt ttagtcgagg ttaaaaaaac gtctaggccc cccgaaccac 3060

ggggacgtgg ttttcctttg aaaaacacga tgataagctt gccacaaccc acagcggcgg 3120

ctgccatcat ggctcgacca ttgaactgca tcgtcgccgt gtcccaaat atggggattg 3180

gcaagaacgg agacctaccc tggcctccgc tcaggaacga gttcaagtac ttccaaagaa 3240

tgaccacaac ctcttcagtga gaaggtaaac agaactctgt gattatgggt aggaaaacct 3300

ggttctccat tcttgagaag aatcgacctt taaaggacag aattaatata gttctcagta 3360

gagaactcaa agaaccacca cgaggagctc attttcttgc caaaagtttg gatgatgcct 3420

taagacttat tgaacaaccg gaattggcaa gtaaagtaga catggtttgg atagtcggag 3480

gcagttctgt ttaccaggaa gccatgaatc aaccaggcca cctcagactc tttgtgacaa 3540

ggatcatgca ggaatttgaa agtgacacgt ttttccaga aattgatttg gggaaatata 3600

aacttctccc agaataccca ggcgtcctct ctgagggtcca ggaggaaaaa ggcatcaagt 3660

ataagtttga agtctacgag aagaaagact aaacgcgtgg tacctctaga gtcgaccggg 3720

gcggcgcgtt cgagcagaca tgataagata cattgatgag tttggacaaa ccacaactag 3780

aatgcagtga aaaaaatgct ttatttgtga aatttgtgat gctattgctt tatttgaac 3840

cattataagc tgcaataaac aagttaacaa caacaattgc attcatttta tgtttcaggt 3900

tcagggggag atgtgggagg ttttttaaag caagtaaaac cttacaaat gtggtaaaat 3960

cgataaggat cggggtggc gtaatagcga agaggccgc accgatcgcc cttcccaaca 4020

gttgcgcagc ctgaatggcg aatggacgcg cctgttagcg gcgcattaag cgcggcgggt 4080

gtgtgtggtt cgcgacgcgt gaccgtaca ctgtccagcg ccctagcgcc cgctcctttc 4140

gctttcttcc ctctctttct cgccacgttc gccggctttc cccgtcaagc tctaaatcgg 4200

gggtccctt tagggttccg atttagtgc ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat 4260

taggtgatg gttcacgtag tgggcatcg cctgataga cggtttttcg ccctttgacg 4320

ttggagtcca cgttctttta tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct 4380

atctcgggtt attcttttga tttataaggg attttgccga tttcggccta ttggttaaaa 4440

aatgagctga tttacaaaa atttaacgcg aattttaaca aaatattaac gcttacaatt 4500

tctgatgcg gtattttctc cttacgcac tgtgcggtat ttcacaccgc atatggtgca 4560

ctctcagtag aatctgctct gatgccgat agttaagcca gccccgacac ccgccaacac 4620

ccgtgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga caagctgtga 4680

ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcacgctc ataccgaaa cgcgcgagac 4740

gaaaggcct cgtgatacgc ctatttttat aggttaatgt catgataata atggtttctt 4800

agacgtcagg tggcactttt cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct 4860
 aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat 4920

 attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgcctttatt cctttttttg 4980
 cggcattttg ccttccgttt ttgtctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg 5040
 aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc 5100
 ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag cactttttaa gttctgctat 5160
 gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact 5220
 atttctcaga tgacttggtt gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca 5280
 tgacagtaag agaattatgc agtctgtcca taacctagag tgataaacact gcggccaact 5340
 tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgac aacatggggg 5400

 atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg 5460
 agcgtgacac cagatgcct gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg 5520
 aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg 5580
 caggaccact tctgcctcg gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat aaatctggag 5640
 ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc 5700
 gtatcgtagt tatctacag acgggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga 5760
 tcgtgagat aggtgcctca ctgattaagc attggttaact gtcagaccaa gtttactcat 5820
 atatacttta gattgattta aaacttcatt ttttaattaa aaggatctag gtgaagatcc 5880

 tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag 5940
 accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct 6000
 gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cgggtggttg tttcccgat caagagctac 6060
 caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc 6120
 tagtgtagcc gtagttaggc caccatttca agaactctgt agcaccgcct acatacctcg 6180
 ctctgcta at cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga taagtctgt cttaccgggt 6240
 tggactcaag acgatagtta ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt 6300
 gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc 6360

 tatgagaaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggatccg gtaagcggca 6420
 gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata 6480
 gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg 6540
 ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttctcg gccttttctg 6600
 ggctttttgc tcacatggct cgacagatct 6630

<210> 53

<211> 186

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> dihydrofolate reductase

<400> 53

Val Arg Pro Leu Asn Cys Ile Val Ala Val Ser Gln Asn Met Gly Ile

1 5 10 15
Gly Lys Asn Gly Asp Leu Pro Trp Pro Pro Leu Arg Asn Glu Phe Lys

20 25 30
Tyr Phe Gln Arg Met Thr Thr Thr Ser Ser Val Glu Gly Lys Gln Asn

35 40 45
Leu Val Ile Met Gly Arg Lys Thr Trp Phe Ser Ile Pro Glu Lys Asn

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

65 70 75 80
Glu Pro Pro Arg Gly Ala His Phe Leu Ala Lys Ser Leu Asp Asp Ala

85 90 95
Leu Arg Leu Ile Glu Gln Pro Glu Leu Ala Ser Lys Val Asp Met Val

100 105 110
Trp Ile Val Gly Gly Ser Ser Val Tyr Gln Glu Ala Met Asn Gln Pro

115 120 125
Gly His Leu Arg Leu Phe Val Thr Arg Ile Met Gln Glu Phe Glu Ser

130 135 140
Asp Thr Phe Phe Pro Glu Ile Asp Leu Gly Lys Tyr Lys Leu Leu Pro

145 150 155 160
Glu Tyr Pro Gly Val Leu Ser Glu Val Gln Glu Glu Lys Gly Ile Lys

165 170 175
Tyr Lys Phe Glu Val Tyr Glu Lys Lys Asp

180 185

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> His tag

<

400> 54

His His His His His His

1 5

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Flag tag

<400> 55

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 56

<211> 1449

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Gen2 mRNA sequence

<400> 56

atgggagtgc taaaattcaa gcacatcttt ttcagaagct ttgttaaadc aagtggagta 60
tcccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttget tgactctgaa tttcagagca 120
cctcctgtta ttccaaatgt gcctttcttc tgggcctgga atgcccccaag tgaattttgt 180

cttggaaaat ttgatgagcc actagatatg agcctcttct ctttcatagg aagcccccca 240
ataaacgcca ccgggcaagg tggtacaata ttttatgttg atagacttgg ctactatcct 300
tacatagatt caatcacagg agtaactgtg aatggaggaa tccccagaa gatttcctta 360
caagaccatc tggacaaagc taagaaagac attacatctt atatgccagt agacaatttg 420

ggaatggctg ttattgactg ggaagaatgg agaccacatt gggcaagaaa ctggaaacct 480
 aaagatgttt acaagaatag gtctattgaa ttggttcagc aacaaaatgt acaacttagt 540
 ctacagagg ccaactgagaa agcaaaacaa gaatttgaaa aggcaggga ggatttcctg 600
 gtagagacta taaaattggg aaaattactt cggccaaatc acttgtgggg ttattatctt 660

tttccggatt gttacaacca tcactataag aaacccggtt acaatggaag ttgcttcaat 720
 gtagaaataa aaagaaatga tgatctcagc tggtttgga atgaaagcac tgctctttac 780
 ccatccattt attgaacac tcagcagtct cctgtagctg ctacactcta tgtgcgcaat 840
 cgagttcggg aagccatcag agtttccaaa atacctgatg caaaaagtcc acttccggtt 900
 ttgcatata cccgcatagt ttttactgat caagtttga aattcctttc tcaagatgaa 960
 cttgtgtata catttgcca aactgttgct ctgggtgctt ctggaattgt aatatgggga 1020
 accctcagta taatgcgaag tatgaaatct tgcttgctcc tagacaatta catggagact 1080
 atactgaatc cttacataat caacgtcaca ctagcagcca aaatgtgtag tcaagtgcct 1140

tgccaggagc aaggagtgtg tataaggaaa aactggaatt caagtgacta tcttcacctc 1200
 aaccagata attttgcata tcaacttgag aaaggtggaa agttcacagt acgtggaaaa 1260
 ccgacacttg aagacctgga gcaattttct gaaaaatttt attgcagctg ttatagcacc 1320
 ttgagttgta aggagaaagc tgatgtaaaa gacactgatg ctgttgatgt gtgtattgct 1380
 gatgggtgct gtatagatgc ttttctaaaa cctcccatgg agacagaaga acctcaaatt 1440
 ttctactga 1449

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-447

<400> 57

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe

1 5 10 15

Tyr

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-446

<400> 58

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe

1 5 10 15

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-445

<400> 59

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

1 5 10 15

<210> 60

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-444

<400> 60

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln

1 5 10

<210> 61

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-443

<400> 61

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro

1 5 10

<210> 62

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> C-terminal peptide cleaved from soluble rHuPH20 aa

431-442

<400> 62

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu

1 5 10

<210> 63

<211> 520

<212> PRT

<213> Ovis aries

<220>

<223> PH20

<400> 63

Leu Asp Phe Pro Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ala Glu Arg Cys Val Lys Ile Phe Lys Leu Pro

20 25 30

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

35 40 45

Thr Gly Gln Phe Ile Thr Leu Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50

55

60

Pro His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Asn Thr Val Tyr Gly Gly Ile Pro

65

70

75

80

Gln Leu Gly Asn Leu Lys Asn His Leu Glu Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85

90

95

Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp

100

105

110

Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115

120

125

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

130

135

140

Ser Phe Pro Glu Ala Ser Lys Ile Ala Lys Val Asp Phe Glu Thr Ala

145

150

155

160

Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg

165

170

175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180

185

190

Asn Tyr Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Ser Asp Leu Glu Lys

195

200

205

Arg Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala Leu

210

215

220

Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Lys Leu Lys Ser Thr Pro Lys Ala

225

230

235

240

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

245

250

255

Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr His Arg Pro

260

265

270

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

275

280

285

Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile Met

290 295 300
 Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Met Gln Ser Cys Met Asn Leu

 305 310 315 320
 Gly Asn Tyr Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

 325 330 335
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asp Glu Gly Val Cys

 340 345 350
 Thr Arg Lys Gln Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Ile

 355 360 365
 Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Val Pro

 370 375 380
 Gly Lys Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Thr Phe Ser Asp Lys Phe Tyr

 385 390 395 400
 Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile Asn Cys Lys Lys Arg Val Asp Ile Lys

 405 410 415
 Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp Ile Cys Ile Glu

 420 425 430
 Gly Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Asp His Ser Ser Ser Gln Asn Glu

 435 440 445
 Ala Ser Thr Thr Thr Val Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr Thr Ala Thr

 450 455 460
 Thr Val Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys Gln Ser Pro Glu Cys Leu

 465 470 475 480
 Lys Val Arg Cys Leu Glu Ala Ile Ala Asn Val Thr Gln Thr Gly Cys

 485 490 495
 Gln Gly Val Lys Trp Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Gln Ser Ser Ile

 500 505 510
 Gln Asn Ile Lys Asn Gln Thr Thr

 515 520
 <210> 64
 <211> 474

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> precursor cow PH20

<400> 64

Met Gly Met Phe Arg Arg His His Ile Ser Phe Arg Ser Phe Ala Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Ala Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser

35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Val Glu Arg Cys Val Asn Arg Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gly Ile Pro Gln Leu Gly Asn Leu Lys Ser His Leu Glu Lys Ala

115 120 125

Lys Asn Asp Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala

130 135 140

Val Ile Asp Trp Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Pro Gln Leu Ser Phe Pro Glu Ala Ser Lys Ile Ala Lys Val Asp

180 185 190

Phe Glu Thr Ala Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly

195 200 205

Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp

210 215 220
 Cys Tyr Asn His Asn His Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Pro

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

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

 355 360 365
 Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His
 370 375 380
 Asp Gly Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu
 385 390 395 400
 His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys
 405 410 415
 Tyr Thr Val Pro Gly Thr Leu Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser

 420 425 430
 Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Asn Leu Ser Cys Lys Lys Arg
 435 440 445
 Val Asp Ile Lys Asn Val His Ser Val Asp Val Cys Met Ala Glu Asp
 450 455 460

Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro

465 470

<210> 65

<211> 517

<212> PRT

<213> Ovis aries

<220>

<223> PH20

<400> 65

Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp Ala

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

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

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

180 185 190
Tyr Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Ser Asp Leu Glu Lys Arg

195 200 205
Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala Leu Phe

210 215 220
Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Lys Leu Lys Ser Thr Pro Lys Ala Ala

225 230 235 240
Phe Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile Arg Leu Ser Lys Ile

245 250 255
Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr His Arg Pro Val

260 265 270
Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Gln Gly Asp Leu Val Asn

275 280 285
Ser Val Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile Met Trp

290 295 300
Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Met Gln Ser Cys Met Asn Leu Gly

305 310 315 320
Asn Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asp Glu Gly Val Cys

340 345 350
Thr Arg Lys Gln Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Met

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Val Pro Gly

370 375 380
Lys Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Thr Phe Ser Asp Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ala Asn Ile Asn Cys Lys Lys Arg Val Asp Ile Lys Asn

405 410 415
Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp Ile Cys Ile Glu Gly

420 425 430

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

435 440 445

Ser Thr Thr Thr Val Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr Thr Ala Thr Thr

450 455 460

Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys Gln Ser Pro Glu Cys Leu Lys Val

465 470 475 480

Arg Cys Leu Glu Ala Ile Ala Asn Val Thr Gln Thr Gly Cys Gln Gly

485 490 495

Val Lys Trp Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ile Gln Asn Ile Lys

500 505 510

Asn Gln Thr Thr Tyr

515

<210

> 66

<211> 1620

<212> DNA

<213> Ovis aries

<220>

<223> encoding sheep PH20

<400> 66

ttttccgtgt tggttggctc tggacttcag agcacccctc ctcatttcaa acacttcttt 60
cctctgggcc tggaatgcc cagctgaacg ttgtattaaa atctttaaac tacctccaga 120
tctgagactc ttctctgtaa aaggaagccc ccaaaaaagt gctacgggac aatttattac 180
attattttat gcigatagac ttggctacta tctcatata gatgaaaaa caggcaaac 240
tgtatatgga ggaattcccc agttgggaaa cttaaaaaat catttgaaa aagccaaaaa 300
agacattgcc tattacatac caaatgacag cgtgggcttg gcggtcattg actgggaaaa 360

ctggaggcct acctgggcaa gaaactggaa acctaaagat gtttacaggg atgagtctgt 420
tgagttggtt ctgcaaaaaa atccacaact cagtttccca gaggttcca agattgcaa 480
agtggatttt gagacagcag gaaagagttt catgcaagag actttaaac tgggaaaatt 540
acttcggcca aatcacttat ggggttatta tcttttctc gattgttaca atcataatta 600
taaccagcct acttacaatg gaaattgctc tgatttagaa aaaaggagaa atgatgatct 660
cgactggttg tggaaggaaa gcactgccct tttcccttct gtttatttga atatcaagtt 720
aaaatctact ccaaaagctg ccttctatgt tcgtaatcgt gtccaggaag ccattcggtt 780

gtctaaaata gcgagtgttg aaagtcact tcccgttttt gtatatcacc gtccagtttt 840

tactgatggg tcttcaacat accttttctca gggtagacctt gtgaattcgg ttggtgagat 900
cgttgtctta ggtgcctctg ggattataat gtggggcagt ctcaatctaa gcctaactat 960
gcaatcttgc atgaacctag gcaattactt gaacactaca ctgaatcctt acataatcaa 1020
cgtcacccta gcagccaaaa tgtgcagcca agtgctttgc cacgatgaag gagtgtgtac 1080
aaggaaacaa tggaattcaa gcgactatct tcacctgaac ccaatgaatt ttgctattca 1140
aactgggaaa ggtggaaaat acacagtacc tgggaaagtc acactgaag acctgcaaac 1200
gttttctgat aaattttatt gcagttgtta tgccaacatc aactgtaaga agagagttga 1260
tataaaaaat gttcatagtg ttaatgtatg tatggcagaa gacatttga tagagggcc 1320

tgtgaagtta caaccagtg atcattctc tagccagaat gaggcattca ctaccaccgt 1380
cagcagtatc tcacctcta ctacagccac cacagtatct ccatgtactc ctgagaaaca 1440
gtccctgag tgctcaaag tcaggtgttt ggaagccatc gccaacgtca ccaaacggg 1500
gtgtcaaggt gttaaagga agaacattc cagtcagtca agtattcaa atattaaaa 1560
tcaaacaacc tattaaaata taaattcagt gcttataaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

<210> 67

<211> 793

<212> PRT

<213> Arthrobacter sp.

<220>

<223> hyaluronan lyase (strain FB24)

<400> 67

Met Thr Arg Glu Phe Ser Arg Arg Thr Ala Leu Lys Gly Ala Ala Leu

1	5	10	15
Ser Gly Leu Leu Leu Ala Met Val His Gly Pro Ala His Ala Ala Ala			
20	25	30	
Thr Ala Asn Ala Thr Leu Thr Pro Ala Asp Phe Ala Gly Leu Arg Gln			
35	40	45	
Arg Trp Val Asp Gln Ile Thr Gly Arg Lys Val Leu Val Ala Gly Asp			
50	55	60	
Asn Asp Phe Val Thr Ala Leu Ala Ala Leu Asp Lys Lys Ala Arg Thr			
65	70	75	80

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

325	330	335	
Asn Thr Gly Phe Asp Leu Gly Ala Ser Thr Ile Glu Ser Ile Leu Leu			
340	345	350	
Leu Ala Arg Ala Val Asp Pro Val Thr Ala Arg Arg Trp Arg Ser Leu			
355	360	365	
Cys Leu Ala Trp Ile Asn Gln Asn Arg Lys Ala Pro Ile Leu Ala Asp			
370	375	380	
Ala Gly Val Gly Arg Thr Ala Leu Val Lys Glu Leu Leu Ala Met Gly			
385	390	395	400
Leu Thr Glu Thr Asp Leu Pro Gly Gly His Tyr Leu Phe Pro Ala Met			
405	410	415	
Asp Arg Thr Met His His Ser Gln Gly Trp Thr Leu Ser Thr Ala Met			
420	425	430	
Ala Ser Ser Arg Ile Ala Trp Tyr Glu Cys Gly Asn Gly Glu Asn Asn			
435	440	445	
Arg Gly Tyr His Thr Gly Ser Gly Met Thr Tyr Val Tyr Asp Gly Asp			
450	455	460	
Leu Gly Gln Tyr Asp Asp Ala Phe Trp Ala Thr Ala Asn His Cys Arg			
465	470	475	480
Leu Pro Gly Ile Thr Val Asp Thr Ser Ser Leu Pro Asp Lys Val Glu			
485	490	495	
Gly Glu Trp Gly Ala Ala Thr Pro Ala Asn Glu Trp Thr Gly Ser Thr			
500	505	510	
Ala Tyr Gly Asp Val Ala Ala Val Gly Gln His Leu Ile Gly Pro Gly			
515	520	525	
Gly Thr Gly Leu Thr Ala Arg Lys Ser Trp Phe Val Ser Lys Asp Val			
530	535	540	
Ile Val Cys Leu Gly Ala Asp Ile Arg Thr Gly Ser Gly Ser Arg Ile			
545	550	555	560
Glu Thr Val Val Asp His Arg Asn Leu His Ala Gly Phe Asn Ala Met			
565	570	575	

Gly Thr Ala Ala Gly Thr Val Ala Ala Thr Pro Gly His Pro Glu Val

580 585 590

Leu Thr Val Asp Arg Trp Val His Leu Glu Gly Phe Gly Gly Tyr Val

595 600 605

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

610 615 620

Ser Trp Ser Glu Val Asn Val Lys Gly Ser Ala Ala Arg Gln Thr Arg

625 630 635 640

Asn Tyr Ala Thr Leu Tyr Phe Asp His Gly His Glu Pro Glu Ala Ala

645 650 655

Ser Tyr Ala Tyr Leu Val Ala Pro Gly Ala Ser Ala Ser Met Thr Ser

660 665 670

Ser Leu Ser Gly Gln Ser Phe His Thr Val Leu Arg Asn Asp Glu Val

675 680 685

Ala Gln Ala Val Lys Phe Lys Lys Glu Lys Thr Thr Ala Ala Thr Phe

690 695 700

Trp Arg Pro Gly Thr Val Gly Asp Leu Ala Leu Ser Gly Pro Ala Cys

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

Phe Phe Arg Ile Ile Glu Gly Gln Gly Ala Ser Leu Ser His Gly Ala

755 760 765

Asp Gly Phe Thr Val Leu Glu Val Asp Ile Ala Asn His Ala Gly Arg

770 775 780

Thr Lys Gln Ile Glu Leu Ser Ala Glu

785 790

<210> 68

<211> 557

<212> PRT

<213> Bdellovibrio bacteriovorus

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 68

Met Thr Lys Phe Phe Phe Leu Leu Thr Leu Ile Ser Ala Thr Ala Phe

1 5 10 15

Ala Gln Ser Glu Pro Asp Trp Thr Ala Gly Val Pro Val Pro Pro Gly

20 25 30

Gly Arg Ser Asn Ile Tyr Ser Trp Asn Asp Phe Asp Phe Gln Ala Thr

35 40 45

Leu Asn Lys Gly Lys Ile His Ala Gln Val Tyr Pro Val Thr Val Thr

50 55 60

Gly Met Leu Pro Pro Tyr Glu Pro Val Arg Arg Leu Ile Glu Glu Lys

65 70 75 80

Asn Ser Asn Pro Leu Arg Lys Trp Ile Gln Ser Leu Met Lys Gly Leu

85 90 95

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

100 105 110

Lys Tyr Pro Leu Glu Asn Glu Arg Gly Val Tyr Ala Val Pro Tyr Pro

115 120 125

Asn Glu Ile Arg Pro Asp Thr Leu Met Gly Phe Gly Leu Ile Glu Arg

130 135 140

Asn Gly Ala Glu Gly Phe Thr Phe Ser Cys Ala Ala Cys His Ser Ser

145 150 155 160

Asn Leu Phe Gly Lys Thr Val Leu Gly Met Thr Asn Arg Phe Pro Arg

165 170 175

Ala Asn Glu Phe Phe Ile Lys Ala Lys Lys Val Met Pro Leu Met Asp

180 185 190

Pro His Ile Phe Gln Ala Tyr Thr Arg Ala Thr Asp Ala Glu Thr Ala

195 200 205

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

210	215	220	
Pro Ile Ala Leu Gly Leu Asp Thr Ser Leu Ala Gln Val Ser Leu Ser			
225	230	235	240
Leu Asn Arg Arg Ala Lys Asp Gly Tyr Ala Asn Tyr Ser Asp Lys Ala			
	245	250	255
Ala Arg Ser Pro Arg Ala Asp Ala Tyr Leu Asp Asn Lys Pro Ala Asp			
	260	265	270
Ser Lys Pro Ala Val Trp Trp Asn Val Lys Tyr Lys Asn Arg Trp Leu			
	275	280	285
Ser Asp Gly Ser Val Leu Ser Gly Asn Pro Ile Phe Thr Asn Leu Ile			
	290	295	300
Trp Asn Glu Ile Gly Arg Gly Ala Asp Leu His Glu Leu Glu Gln Trp			
305	310	315	320
Leu Ala Asp Asn Asp His Ile Ile Lys Glu Leu Thr Thr Ala Val Phe			
	325	330	335
Ala Ser Glu Ala Pro His Ile Thr Asp Phe Tyr Pro Ala Glu Lys Ile			
	340	345	350
Asp Leu Gly Arg Ala Lys Ala Gly Glu Gln Ile Phe Lys Asn Thr Cys			
	355	360	365
Ala Lys Cys His Gly His Tyr Glu Lys Ala Trp Asn Leu Pro Gln Ala			
	370	375	380
Leu Val Leu Ser Ala Ala Glu Arg Leu Lys Thr Val Glu Val Arg Tyr			
385	390	395	400
Lys Glu Lys Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Asp Pro Phe Arg Arg			
	405	410	415
Gln Gly Met Lys Ser Leu Glu Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ile Ser Lys			
	420	425	430
Lys Asn Gly Ile Val Ile Lys Ala Gln Glu Gly Tyr Val Pro Pro Pro			
	435	440	445
Leu Val Gly Ile Trp Ala Arg Trp Pro Tyr Met His Asn Asn Ser Ile			
	450	455	460

Pro Asn Leu Cys Val Leu Leu Thr Pro Ala Lys Lys Arg Pro Ser Ile
465 470 475 480

Tyr Tyr Ser Gly Glu Ala Leu Asn Lys Asp Thr Asp Tyr Asp Phe Ser
485 490 495

Cys Gly Gly Tyr Pro Ile Gly Asp Lys Thr Pro Lys Ala Trp Lys Thr
500 505 510

Arg Glu His Leu Tyr Asp Thr Arg Asn Pro Gly Met Gly Asn Met Gly
515 520 525

His Asp Glu Gly Ile Phe Ile Lys Asp Gly Lys Glu Ile Leu Ser Ala
530 535 540

Glu Asp Lys Tyr Asn Leu Ile Gln Phe Leu Gln Thr Leu
545 550 555

<210> 69

<211> 813

<212> PRT

<213> Propionibacterium acnes

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 69

Met Phe Gly Thr Pro Ser Arg Arg Thr Phe Leu Thr Ala Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ser Ala Met Ala Leu Ala Ala Ser Pro Thr Val Thr Asp Ala Ile Ala
20 25 30

Ala Pro Gly Pro Asp Ser Trp Ser Ala Leu Cys Glu Arg Trp Ile Asp
35 40 45

Ile Ile Thr Gly Arg Arg Ala Ala Arg Thr Ser Asp Pro Arg Ala Arg
50 55 60

Ala Ile Ile Ala Lys Thr Asp Arg Lys Val Ala Glu Ile Leu Thr Asp
65 70 75 80

Leu Val Ser Gly Ser Ser Arg Gln Thr Val Leu Ile Ser Ala Asp Leu
85 90 95

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

100 105 110

Ser Met Ala Cys Ala Trp Ala Thr Pro Gly Ser Ser Tyr His Lys Asp

115 120 125

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

130 135 140

Leu Arg Tyr Asn Pro Ser Gln Asp Glu Tyr Gly Asn Trp Trp Asp Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Asp Val Leu Pro Pro Glu Val Met Ser Ala Ala Ala Ala Gly Ile Asp

180 185 190

His Phe Ile Pro Asp Pro Trp Phe Gln Gln Pro Ala Ser Val Lys Pro

195 200 205

Thr Ala Asn Pro Val Gln Pro Val Val Ser Thr Gly Ala Asn Arg Met

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Arg Leu Arg His Ala Val Asp Gly Leu Pro Asp Ala Trp Arg Val

245 250 255

Thr Thr Glu Gly Asp Gly Phe Arg Ala Asp Gly Gly Phe Ile Gln His

260 265 270

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

275 280 285

Leu Ala Met Leu Phe Pro Leu Val Ser Gly Met Arg Phe Asp Ile Val

290 295 300

Glu Ser Ala Arg Lys Ala Phe His Asp Gln Val Glu Arg Gly Phe Ile

305 310 315 320

Pro Val Met Tyr Asn Gly Gln Ile Leu Asp Asp Val Arg Gly Arg Ser

325 330 335

Ile Ser Arg Ile Asn Glu Ser Ala Ala Met His Gly Ile Ser Ile Ala

340 345 350
Arg Ala Met Leu Met Met Ala Asp Ala Leu Pro Thr His Arg Ala Glu

355 360 365
Gln Trp Arg Gly Ile Val His Gly Trp Met Ala Arg Asn Thr Phe Asp

370 375 380
His Leu Ser Glu Pro Ser Thr Leu Val Asp Ile Ser Leu Phe Asp Ala

385 390 395 400
Ala Ala Lys Ala Arg Pro Val Pro Glu Ser Ser Thr Pro Ser Tyr Phe

405 410 415
Ala Ser Met Asp Arg Leu Val His Arg Thr Ala Asp Trp Leu Ile Thr

420 425 430
Val Ser Asn Cys Ser Asp Arg Ile Ala Trp Tyr Glu Tyr Gly Asn Gly

435 440 445
Glu Asn Glu Trp Ala Ser Arg Thr Ser Gln Gly Met Arg Tyr Leu Leu

450 455 460
Leu Pro Gly Asp Met Gly Gln Tyr Glu Asp Gly Tyr Trp Ala Thr Val

465 470 475 480
Asp Tyr Ser Ala Pro Thr Gly Thr Thr Val Asp Ser Thr Pro Leu Lys

485 490 495
Arg Ala Val Gly Ala Ser Trp Ala Ala Lys Thr Pro Thr Asn Glu Trp

500 505 510
Ser Gly Gly Leu Ala Ser Gly Ser Trp Ser Ala Ala Ala Ser His Ile

515 520 525
Thr Ser Gln Asp Ser Ala Leu Lys Ala Arg Arg Leu Trp Val Gly Leu

530 535 540
Lys Asp Ala Met Val Glu Leu Thr Thr Asp Val Thr Thr Asp Ala Ser

545 550 555 560
Arg Ala Ile Thr Val Val Glu His Arg Lys Val Ala Ser Ser Ser Thr

565 570 575
Lys Leu Leu Val Asp Gly Asn Arg Val Ser Ser Ala Thr Ser Phe Gln

580 585 590

Asn Pro Arg Trp Ala His Leu Asp Gly Val Gly Gly Tyr Val Phe Ala
 595 600 605
 Thr Asp Thr Asp Leu Ser Ala Asp Val Ala Thr Arg Lys Gly Thr Trp
 610 615 620
 Ile Asp Val Asn Pro Ser Arg Lys Val Lys Gly Ala Asp Glu Val Ile
 625 630 635 640
 Glu Arg Ala Tyr Ala Ser Leu His Val Thr His His Asp Arg Pro Val
 645 650 655
 Ala Trp Ala Leu Leu Pro Thr Ala Ser Arg Ser His Thr Met Ala Leu
 660 665 670
 Ala Thr Arg Pro Gly Val Glu Pro Phe Thr Val Leu Arg Asn Asp Ala
 675 680 685
 Thr Val Gln Ala Val Arg Ser Ala Gly Ala Leu Leu Thr Lys Asp Pro
 690 695 700
 Thr Val Val Thr Thr Leu Ala Phe Trp Lys Pro Ala Thr Cys Gly Gly
 705 710 715 720
 Val Ala Val Asn Arg Pro Ala Leu Val Gln Thr Arg Glu Ser Ala Asn
 725 730 735
 Gln Met Glu Val Val Ile Val Glu Pro Thr Gln Lys Arg Gly Ser Leu
 740 745 750
 Thr Val Thr Ile Glu Gly Ser Trp Lys Val Lys Thr Ala Asp Ser His
 755 760 765
 Val Asp Val Ser Cys Glu Asn Ala Ala Gly Thr Leu His Val Asp Thr
 770 775 780
 Ala Gly Leu Gly Gly Gln Ser Val Arg Val Thr Leu Ala Arg Gln Val
 785 790 795 800
 Thr Gln Thr Pro Ser Gly Gly Gly Arg His Asp Arg Ala
 805 810
 <210> 70
 <211> 1072
 <212> PRT

<213> Streptococcus agalactiae

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 70

Met Glu Ile Lys Lys Lys Tyr Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Leu Ile

1 5 10 15

Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn Asn Ser Tyr Gln Ala Lys Ala Glu Glu

20 25 30

Leu Thr Lys Thr Thr Ser Thr Ser Gln Ile Arg Asp Thr Gln Thr Asn

35 40 45

Asn Ile Glu Val Leu Gln Thr Glu Ser Thr Thr Val Lys Glu Thr Ser

50 55 60

Thr Thr Thr Thr Gln Gln Asp Leu Ser Asn Pro Thr Ala Ser Thr Ala

65 70 75 80

Thr Ala Thr Ala Thr His Ser Thr Met Lys Gln Val Val Asp Asn Gln

85 90 95

Thr Gln Asn Lys Glu Leu Val Lys Asn Gly Asp Phe Asn Gln Thr Asn

100 105 110

Pro Val Ser Gly Ser Trp Ser His Thr Ser Ala Arg Glu Trp Ser Ala

115 120 125

Trp Ile Asp Lys Glu Asn Thr Ala Asp Lys Ser Pro Ile Ile Gln Arg

130 135 140

Thr Glu Gln Gly Gln Val Ser Leu Ser Ser Asp Lys Gly Phe Arg Gly

145 150 155 160

Ala Val Thr Gln Lys Val Asn Ile Asp Pro Thr Lys Lys Tyr Glu Val

165 170 175

Lys Phe Asp Ile Glu Thr Ser Asn Lys Ala Gly Gln Ala Phe Leu Arg

180 185 190

Ile Met Glu Lys Lys Asp Asn Asn Thr Arg Leu Trp Leu Ser Glu Met

195 200 205

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

210 215 220

Lys Leu Asn Val Ser Glu Val Thr Leu Glu Leu Tyr Tyr Glu Lys Gly
225 230 235 240

Thr Gly Ser Ala Thr Phe Asp Asn Ile Ser Met Lys Ala Lys Gly Pro
245 250 255

Lys Asp Ser Glu His Pro Gln Pro Val Thr Thr Gln Ile Glu Glu Ser
260 265 270

Val Asn Thr Ala Leu Asn Lys Asn Tyr Val Phe Asn Lys Ala Asp Tyr
275 280 285

Gln Tyr Thr Leu Thr Asn Pro Ser Leu Gly Lys Ile Val Gly Gly Ile
290 295 300

Leu Tyr Pro Asn Ala Thr Gly Ser Thr Thr Val Lys Ile Ser Asp Lys
305 310 315 320

Ser Gly Lys Ile Ile Lys Glu Val Pro Leu Ser Val Thr Ala Ser Thr
325 330 335

Glu Asp Lys Phe Thr Lys Leu Leu Asp Lys Trp Asn Asp Val Thr Ile
340 345 350

Gly Asn His Val Tyr Asp Thr Asn Asp Ser Asn Met Gln Lys Ile Asn
355 360 365

Gln Lys Leu Asp Glu Thr Asn Ala Lys Asn Ile Lys Thr Ile Lys Leu
370 375 380

Asp Ser Asn His Thr Phe Leu Trp Lys Asp Leu Asp Asn Leu Asn Asn
385 390 395 400

Ser Ala Gln Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Arg Leu Glu Asp Leu Ala Lys
405 410 415

Gln Ile Thr Asn Pro His Ser Thr Ile Tyr Lys Asn Glu Lys Ala Ile
420 425 430

Arg Thr Val Lys Glu Ser Leu Ala Trp Leu His Gln Asn Phe Tyr Asn
435 440 445

Val Asn Lys Asp Ile Glu Gly Ser Ala Asn Trp Trp Asp Phe Glu Ile
450 455 460

Gly Val Pro Arg Ser Ile Thr Ala Thr Leu Ala Leu Met Asn Asn Tyr

465 470 475 480
 Phe Thr Asp Ala Glu Ile Lys Thr Tyr Thr Asp Pro Ile Glu His Phe
 485 490 495

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

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

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

 Ser Asp Ile Ala Asn Met Asn Lys Met Leu Asn Asp Ser Thr Val Ala
 690 695 700
 Thr Lys Pro Leu Lys Ser Asn Leu Ser Thr Phe Asn Ser Met Asp Arg
 705 710 715 720

Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys Asp Phe Gly Phe Ala Leu Ser Leu
 725 730 735
 His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr Glu Gly Met Asn Asp Glu Asn Thr
 740 745 750

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

 Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His
 820 825 830
 Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp Phe Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr
 835 840 845
 Ala Gln Lys Gly Trp Val Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly
 850 855 860
 Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn Gly Ile Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile
 865 870 875 880

 Asp Gln Arg Lys Asp Asp Ser Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn
 885 890 895
 Gly Lys Thr Ile Asp Leu Lys Gln Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asp
 900 905 910
 Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu Ser Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile Gly
 915 920 925
 Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser Thr Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln
 930 935 940

 Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile
 945 950 955 960
 Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly

965 970 975
 Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe
 980 985 990
 Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser
 995 1000 1005

Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile
 1010 1015 1020
 Lys His Asp Asn Gln Glu Ser Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn
 1025 1030 1035 1040
 Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn
 1045 1050 1055
 Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
 1060 1065 1070

<210> 71

<211> 1072

<212> PRT

<213> Streptococcus agalactiae 18RS21

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 71

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

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

Thr Gln Asn Lys Glu Leu Val Lys Asn Gly Asp Phe Asn Gln Thr Asn
100 105 110

Pro Val Ser Gly Ser Trp Ser His Thr Ser Ala Arg Glu Trp Ser Ala
115 120 125

Trp Ile Asp Lys Glu Asn Thr Ala Asp Lys Ser Pro Ile Ile Gln Arg
130 135 140

Thr Glu Gln Gly Gln Val Ser Leu Ser Ser Asp Lys Gly Phe Arg Gly
145 150 155 160

Ala Val Thr Gln Lys Val Asn Ile Asp Pro Thr Lys Lys Tyr Glu Val
165 170 175

Lys Phe Asp Ile Glu Thr Ser Asn Lys Ala Gly Gln Ala Phe Leu Arg
180 185 190

Ile Met Glu Lys Lys Asp Asn Asn Thr Arg Leu Trp Leu Ser Glu Met
195 200 205

Thr Ser Gly Thr Thr Asn Lys His Thr Leu Thr Lys Ile Tyr Asn Pro
210 215 220

Lys Leu Asn Val Ser Glu Val Thr Leu Glu Leu Tyr Tyr Glu Lys Gly
225 230 235 240

Thr Gly Ser Ala Thr Phe Asp Asn Ile Ser Met Lys Ala Lys Gly Pro
245 250 255

Lys Asp Ser Glu His Pro Gln Pro Val Thr Thr Gln Ile Glu Glu Ser
260 265 270

Val Asn Thr Ala Leu Asn Lys Asn Tyr Val Phe Asn Lys Ala Asp Tyr
275 280 285

Gln Tyr Thr Leu Thr Asn Pro Ser Leu Gly Lys Ile Val Gly Gly Ile
290 295 300

Leu Tyr Pro Asn Ala Thr Gly Ser Thr Thr Val Lys Ile Ser Asp Lys
305 310 315 320

Ser Gly Lys Ile Ile Lys Glu Val Pro Leu Ser Val Thr Ala Ser Thr
325 330 335

Glu Asp Lys Phe Thr Lys Leu Leu Asp Lys Trp Asn Asp Val Thr Ile

340 345 350
 Gly Asn His Val Tyr Asp Thr Asn Asp Ser Asn Met Gln Lys Ile Asn
 355 360 365

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

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

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

 Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Thr Asn Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr
 565 570 575
 Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly Leu Thr Gln Leu Leu Pro Ile Ile Gln
 580 585 590

Glu Thr Asp Tyr Lys Ile Ser Asn Gln Glu Leu Asp Met Val Tyr Lys
 595 600 605
 Trp Ile Asn Gln Ser Phe Leu Pro Leu Ile Val Lys Gly Glu Leu Met
 610 615 620

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

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

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

 Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His
 820 825 830
 Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp Phe Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr

835	840	845	
Ala Gln Lys Gly Trp Val	Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val	Phe Leu Gly	
850	855	860	
Ser Asn Ile Lys Asn Thr	Asn Gly Ile Gly Asn Val	Ser Thr Thr Ile	
865	870	875	880
Asp Gln Arg Lys Asp Asp	Ser Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr	Val Asn	
885	890	895	
Gly Lys Thr Ile Asp Leu	Lys Gln Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr	Asp	
900	905	910	
Thr Lys Ser Val Phe Leu	Glu Ser Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile	Gly	
915	920	925	
Tyr Ile Phe Phe Lys Asn	Ser Thr Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu	Gln	
930	935	940	
Thr Gly Thr Trp Asn Ser	Ile Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser	Ile	
945	950	955	960
Val Ser Asn Pro Phe Ile	Thr Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly		
965	970	975	
Asp Ser Tyr Gly Tyr Met	Met Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe		
980	985	990	
Asp Lys Leu Ala Asn Ser	Lys Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser		
995	1000	1005	
Lys Gln Gln Val Ile Tyr	Asp Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile		
1010	1015	1020	
Lys His Asp Asn Gln Glu	Ser Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn		
1025	1030	1035	1040
Lys Ala Gly Leu Tyr Leu	Val Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn		
1045	1050	1055	
Val Tyr Tyr Gln Pro Gln	Thr Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile		
1060	1065	1070	

<210> 72

<211> 1081

<212> PRT

<213> Streptococcus agalactiae serotype Ia

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 72

Met Glu Ile Lys Lys Lys His Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Leu Ile

1 5 10 15

Leu Gly Thr Ile Leu Val Asn Asn Ser Tyr Gln Ala Lys Ala Glu Glu

20 25 30

Phe Thr Lys Thr Thr Ser Thr Ser Gln Ile Arg Asp Thr Gln Thr Asn

35 40 45

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

50 55 60

Thr Thr Thr Thr Gln Gln Asp Leu Ser Asn Ser Thr Ala Ser Thr Ala

65 70 75 80

Thr Ala Thr Ala Thr His Ser Thr Met Lys Gln Val Val Asp Asn Gln

85 90 95

Thr Gln Asn Lys Glu Leu Val Lys Asn Gly Asp Phe Lys Glu Lys Ile

100 105 110

Ile Asp Lys Lys Ile Asp Lys Lys Ser Gln Trp Thr Asn Leu Tyr Gly

115 120 125

Ala Lys Asp Trp Asn Thr Tyr Ile Asp Gln Thr Lys Ser Val Asn Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Lys Gly Phe Arg Gly Ala Val Thr Gln Lys Val Asn Ile Asp Pro

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gln Ala Phe Leu Arg Ile Met Lys Lys Lys Asp Lys Asn Thr Arg

195 200 205

Leu Trp Leu Ser Glu Met Thr Ser Gly Thr Thr Asn Lys His Thr Leu

210	215	220	
Thr Lys Ile Tyr Asn Pro Lys Leu Asn Val Ser Glu Val Thr Leu Glu			
225	230	235	240
Leu Tyr Tyr Glu Lys Gly Thr Gly Ser Val Thr Phe Asp Asn Ile Ser			
	245	250	255
Met Lys Ala Lys Gly Pro Lys Asp Ser Glu His Pro Gln Pro Val Thr			
	260	265	270
Thr Gln Ile Glu Glu Ser Val Asn Thr Ala Leu Asn Lys Asn Tyr Val			
	275	280	285
Phe Asn Lys Ala Asp Tyr Gln Tyr Thr Leu Thr Asn Pro Ser Leu Gly			
290	295	300	
Lys Ile Val Gly Gly Ile Leu Tyr Pro Ser Ala Thr Gly Ser Thr Thr			
305	310	315	320
Val Lys Ile Ser Asp Lys Ser Gly Lys Ile Ile Lys Glu Val Pro Leu			
	325	330	335
Ser Val Thr Ala Ser Thr Glu Asp Asn Phe Thr Lys Leu Leu Asp Lys			
	340	345	350
Trp Asn Asp Val Thr Ile Gly Asn His Val Tyr Asp Thr Asn Asp Ser			
355	360	365	
Asn Met Gln Lys Leu Asn Gln Lys Leu Asp Glu Thr Asn Ala Lys Asn			
370	375	380	
Ile Lys Asp Ile Lys Leu Asp Ser Asn Arg Thr Phe Leu Trp Glu Asp			
385	390	395	400
Leu Lys Gly Leu Asn Asn Ser Ala Gln Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Arg			
	405	410	415
Leu Glu Asp Leu Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro His Ser Thr Ile Tyr			
420	425	430	
Lys Asn Glu Lys Ala Ile Arg Thr Val Lys Glu Ser Leu Ala Trp Leu			
435	440	445	
His Gln Asn Phe Tyr Asn Val Asn Lys Asp Ile Glu Gly Ser Ala Asn			
450	455	460	

Trp Trp Asp Phe Glu Ile Gly Val Pro Arg Ser Ile Thr Ala Thr Leu
 465 470 475 480
 Ala Leu Met Asn Asn Tyr Phe Thr Asp Ala Glu Ile Lys Thr Tyr Thr
 485 490 495

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

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

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

 Asn Asn Leu Lys Ser Tyr Ser Asp Ile Ala Asn Met Asn Lys Leu Leu
 690 695 700
 Asn Asp Ser Thr Val Ala Thr Lys Pro Leu Lys Ser Asn Leu Ser Thr

705	710	715	720
Phe Asn Ser Met Asp Arg Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys Asp Phe			
	725	730	735
Gly Phe Ala Leu Ser Leu His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr Glu Gly			
	740	745	750
Met Asn Asp Glu Asn Thr Arg Gly Trp Tyr Thr Gly Asp Gly Met Phe			
	755	760	765
Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp Gln Ser His Tyr Ser Asn His Phe Trp Pro			
	770	775	780
Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Ala Gly Thr Thr Glu Lys Asp Thr Gly			
785	790	795	800
Arg Glu Asp Thr Ile Lys Lys Leu Met Asn Arg Tyr Asp Lys Thr Asn			
	805	810	815
Lys Asn Ser Lys Val Met Thr Gly Gln Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe			
	820	825	830
Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp			
	835	840	845
Phe Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr Ala Gln Lys Gly Trp Val Ile			
	850	855	860
Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn			
865	870	875	880
Gly Val Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile Asp Gln Arg Lys Asp Asp Ser			
	885	890	895
Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn Gly Lys Thr Val Asp Leu Lys			
	900	905	910
Gln Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asp Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu			
	915	920	925
Ser Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile Gly Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser			
	930	935	940
Thr Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile			
945	950	955	960

Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr
 965 970 975
 Ile Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met
 980 985 990
 Val Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys
 995 1000 1005

Glu Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp
 1010 1015 1020
 Lys Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile Lys His Asp Asn Gln Glu Ser
 1025 1030 1035 1040
 Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val
 1045 1050 1055
 Gln Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr
 1060 1065 1070

Met Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
 1075 1080

<210> 73

<211> 984

<212> PRT

<213> Streptococcus agalactiae serotype III

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 73

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

65	70							75							80			
Asp	Pro	Thr	Lys	Lys	Tyr	Glu	Val	Lys	Phe	Asp	Ile	Glu	Thr	Ser	Asn			
				85							90						95	
Lys	Ala	Gly	Gln	Ala	Phe	Leu	Arg	Ile	Met	Glu	Lys	Lys	Asp	Asn	Asn			
				100							105						110	
Thr	Arg	Leu	Trp	Leu	Ser	Glu	Met	Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Asn	Lys	His			
				115							120						125	
Thr	Leu	Thr	Lys	Ile	Tyr	Asn	Pro	Lys	Leu	Asn	Val	Ser	Glu	Val	Thr			
				130							135						140	
Leu	Glu	Leu	Tyr	Tyr	Glu	Lys	Gly	Thr	Gly	Ser	Ala	Thr	Phe	Asp	Asn			
				145							150						155	
Ile	Ser	Met	Lys	Ala	Lys	Gly	Pro	Lys	Asp	Ser	Glu	His	Pro	Gln	Pro			
				165							170						175	
Val	Thr	Thr	Gln	Ile	Glu	Glu	Ser	Val	Asn	Thr	Ala	Leu	Asn	Lys	Asn			
				180							185						190	
Tyr	Val	Phe	Asn	Lys	Ala	Asp	Tyr	Gln	Tyr	Thr	Leu	Thr	Asn	Pro	Ser			
				195							200						205	
Leu	Gly	Lys	Ile	Val	Gly	Gly	Ile	Leu	Tyr	Pro	Asn	Ala	Thr	Gly	Ser			
				210							215						220	
Thr	Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Asp	Lys	Ser	Gly	Lys	Ile	Ile	Lys	Glu	Val			
				225							230						235	
Pro	Leu	Ser	Val	Thr	Ala	Ser	Thr	Glu	Asp	Lys	Phe	Thr	Lys	Leu	Leu			
				245							250						255	
Asp	Lys	Trp	Asn	Asp	Val	Thr	Ile	Gly	Asn	His	Val	Tyr	Asp	Thr	Asn			
				260							265						270	
Asp	Ser	Asn	Met	Gln	Lys	Ile	Asn	Gln	Lys	Leu	Asp	Glu	Thr	Asn	Ala			
				275							280						285	
Lys	Asn	Ile	Lys	Thr	Ile	Lys	Leu	Asp	Ser	Asn	His	Thr	Phe	Leu	Trp			
				290							295						300	
Lys	Asp	Leu	Asp	Asn	Leu	Asn	Asn	Ser	Ala	Gln	Leu	Thr	Ala	Thr	Tyr			
				305							310						315	
																	320	

Arg Arg Leu Glu Asp Leu Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro His Ser Thr
 325 330 335
 Ile Tyr Lys Asn Glu Lys Ala Ile Arg Thr Val Lys Glu Ser Leu Ala
 340 345 350
 Trp Leu His Gln Asn Phe Tyr Asn Val Asn Lys Asp Ile Glu Gly Ser
 355 360 365
 Ala Asn Trp Trp Asp Phe Glu Ile Gly Val Pro Arg Ser Ile Thr Ala
 370 375 380
 Thr Leu Ala Leu Met Asn Asn Tyr Phe Thr Asp Ala Glu Ile Lys Thr
 385 390 395 400
 Tyr Thr Asp Pro Ile Glu His Phe Val Pro Asp Ala Gly Tyr Phe Arg
 405 410 415
 Lys Thr Leu Asp Asn Pro Phe Lys Ala Leu Gly Gly Asn Leu Val Asp
 420 425 430
 Met Gly Arg Val Lys Ile Ile Glu Gly Leu Leu Arg Lys Asp Asn Thr
 435 440 445
 Ile Ile Glu Lys Thr Ser His Ser Leu Lys Asn Leu Phe Thr Thr Ala
 450 455 460
 Thr Lys Ala Glu Gly Phe Tyr Ala Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Thr
 465 470 475 480
 Asn Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly Leu
 485 490 495
 Thr Gln Leu Leu Pro Ile Ile Gln Glu Thr Asp Tyr Lys Ile Ser Asn
 500 505 510
 Gln Glu Leu Asp Met Val Tyr Lys Trp Ile Asn Gln Ser Phe Leu Pro
 515 520 525
 Leu Ile Val Lys Gly Glu Leu Met Asp Met Ser Arg Gly Arg Ser Ile
 530 535 540
 Ser Arg Glu Ala Ala Ser Ser His Ala Ala Ala Val Glu Val Leu Arg
 545 550 555 560
 Gly Phe Leu Arg Leu Ala Asn Met Ser Asn Glu Glu Arg Asn Leu Asp

565 570 575
 Leu Lys Ser Thr Ile Lys Thr Ile Ile Thr Ser Asn Lys Phe Tyr Asn
 580 585 590
 Val Phe Asn Asn Leu Lys Ser Tyr Ser Asp Ile Ala Asn Met Asn Lys
 595 600 605
 Met Leu Asn Asp Ser Thr Val Ala Thr Lys Pro Leu Lys Ser Asn Leu

 610 615 620
 Ser Thr Phe Asn Ser Met Asp Arg Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys
 625 630 635 640
 Asp Phe Gly Phe Ala Leu Ser Leu His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr
 645 650 655
 Glu Gly Met Asn Asp Glu Asn Thr Arg Asp Trp Tyr Thr Gly Asp Gly
 660 665 670
 Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp Gln Ser His Tyr Ser Asn His Phe

 675 680 685
 Trp Pro Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Ala Gly Thr Thr Glu Lys Asp
 690 695 700
 Ala Lys Arg Glu Asp Thr Thr Lys Glu Phe Met Ser Lys His Ser Lys
 705 710 715 720
 Asp Ala Lys Glu Lys Thr Gly Gln Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe Val
 725 730 735
 Gly Ser Val Lys Leu Asn Asp His Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp Phe

 740 745 750
 Thr Asn Trp Asp Arg Thr Leu Thr Ala Gln Lys Gly Trp Val Ile Leu
 755 760 765
 Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn Gly
 770 775 780
 Ile Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile Asp Gln Arg Lys Asp Asp Ser Lys
 785 790 795 800
 Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn Gly Lys Thr Ile Asp Leu Lys Gln

 805 810 815

Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asp Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu Ser
820 825 830
Lys Glu Pro Gly Arg Asn Ile Gly Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser Thr
835 840 845
Ile Asp Ile Glu Arg Lys Glu Gln Thr Gly Thr Trp Asn Ser Ile Asn
850 855 860
Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile
865 870 875 880
Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val
885 890 895
Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe Asp Lys Leu Ala Asn Ser Lys Glu
900 905 910
Val Glu Leu Leu Glu Asn Ser Ser Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asp Lys
915 920 925
Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile Lys His Asp Asn Gln Glu Ser Leu
930 935 940
Ile Asn Asn Gln Phe Lys Met Asn Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gln
945 950 955 960
Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met
965 970 975
Thr Lys Thr Asp Gln Leu Ala Ile
980

<210> 74

<211> 807

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus (strain COL)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 74

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

20	25	30
Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp		
35	40	45
Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp		
50	55	60
Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Thr		
65	70	75
Glu Lys Glu Ala Thr Asn Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Gly		
85	90	95
Arg Lys Tyr Leu Trp Ser Gly Ala Glu Thr Leu Glu Thr Asn Ser Ser		
100	105	110
His Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met		
115	120	125
Arg Asn Pro Lys Thr Thr Leu Asn Thr Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val		
130	135	140
Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro		
145	150	155
Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly		
165	170	175
Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Lys		
180	185	190
Ser Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Gln Phe Ser Asn Glu		
195	200	205
Glu Lys Lys Lys Phe Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Asp Ser		
210	215	220
Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Leu Ala Lys Gly Gly		
225	230	235
Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Cys Ile Ile Glu		
245	250	255
Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys Val		
260	265	270

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

 Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Gln Asn Asp Thr Thr Leu
 325 330 335
 Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu
 340 345 350
 Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr
 355 360 365
 Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
 370 375 380

 Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys
 385 390 395 400
 Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Asn Asp Tyr Leu Asn
 405 410 415
 Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser
 420 425 430
 Ile Ser Lys Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
 435 440 445

 Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
 450 455 460
 Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu
 465 470 475 480
 Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn
 485 490 495
 Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Trp Val Thr Ala Asp Met
 500 505 510

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

515	520	525	
Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val			
530	535	540	
Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys			
545	550	555	560
Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val			
565	570	575	
Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val			
580	585	590	
Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr Asp			
595	600	605	
Asp Lys Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Asn Asn Ser Val Phe			
610	615	620	
Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn			
625	630	635	640
Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys			
645	650	655	
Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr			
660	665	670	
Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val			
675	680	685	
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu			
690	695	700	
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn			
705	710	715	720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe			
725	730	735	
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile			
740	745	750	
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro			
755	760	765	

Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
770 775 780

Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly
785 790 795 800

Val His Phe Glu Leu Thr Lys
805

<210> 75

<211> 420

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus (strain MRSA252)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 75

Met Thr Tyr Arg Met Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu

1 5 10 15
Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Ile

20 25 30
Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Thr Asp

35 40 45
Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Ile Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp

50 55 60
Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Glu Ala Thr

65 70 75 80
Glu Asn Glu Ala Glu Lys Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Asp

85 90 95
Arg Lys Tyr Leu Trp Glu Ser Ser Lys Asp Leu Asp Thr Lys Ser Ala

100 105 110
Asp Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Glu Ala Met

115 120 125
Lys His Lys Asn Thr Lys Leu Lys Thr Asp Glu Asn Lys Thr Lys Val

130 135 140
Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro

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

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

 260 265 270
 Phe Thr Tyr Ala Gln Asn Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe
 275 280 285
 Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly
 290 295 300
 Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro Met
 305 310 315 320
 Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Ser Asn Gln Asn Asp Thr Thr Leu

 325 330 335
 Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu
 340 345 350
 Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr
 355 360 365
 Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
 370 375 380
 Asp Thr Met Asp Lys Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys

 385 390 395 400

Thr Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Thr Asp Tyr Leu Ser
405 410 415
Ser Tyr Ser Asp
420
<210> 76
<211> 806
<212> PRT
<213> Staphylococcus aureus (strain MRSA252)
<220>
<223> hyaluronan lyase
<400> 76
Met Thr Asn Lys Met Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
1 5 10 15
Leu Met Thr Gly Val Ile Ala Leu Asn Asn Gly Glu Phe Arg Asn Val
20 25 30
Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp
35 40 45
Tyr Glu Lys Leu Lys Lys Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
50 55 60
Gln Tyr Asp Glu Asn Asn Gln Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Lys
65 70 75 80
Glu Lys Glu Ala Lys Lys Leu Leu Asp Asp Met Lys Thr Asp Thr Asn
85 90 95
Arg Thr Tyr Leu Trp Ser Gly Ala Glu Asn Leu Glu Thr Asn Ser Ser
100 105 110
His Met Thr Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ser Met
115 120 125
Gln His Lys Asn Thr Val Leu Lys Thr Val Glu Asn Lys Leu Lys Ile
130 135 140
Lys Glu Ala Leu Asp Trp Met His Lys Asn Val Tyr Gly Lys Asn Pro
145 150 155 160
Ser Gln Lys Val Glu Asp Leu Thr Lys Asn Arg Lys Gly Gln Thr Thr

165	170	175
Pro Lys Asn Asn Ser Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro		
180	185	190
Arg Ala Leu Thr Asn Thr Leu Leu Leu Met Asp Asp Met Leu Thr Lys		
195	200	205
Asp Glu Met Lys Asn Tyr Ser Lys Pro Ile Ser Thr Tyr Ala Pro Ser		
210	215	220
Ser Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Glu Ser Glu Asp Ala Lys Gly		
225	230	235
Gly Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Ser Val Ile		
245	250	255
Glu Glu Asp Val Asp Met Leu Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys		
260	265	270
Val Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Gly Lys Gly Arg Asn Gly		
275	280	285
Phe Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr		
290	295	300
Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro		
305	310	315
Met Ile Lys Glu Ser Pro Phe Lys Thr Thr Gln Asp Asn Ala Thr Leu		
325	330	335
Ser Asn Trp Ile Asp Glu Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu		
340	345	350
Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr		
355	360	365
Ser His Thr Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Asn		
370	375	380
Asp Thr Met Asp Asp Ser Thr Lys Thr Arg Tyr Lys Gln Ile Val Lys		
385	390	395
Thr Ser Val Asn Ser Asp Ser Ser Tyr Asn Gln Asn Asn Tyr Leu Asn		
405	410	415

Ser Tyr Ser Asp Ile Ala Lys Met Lys Lys Leu Met Asn Asp Ser Thr
 420 425 430
 Ile Ser Lys Asn Asp Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
 435 440 445
 Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
 450 455 460
 Ser Met Thr Ser Lys Asn Ile Ala Arg Tyr Glu Asn Ile Asn Gly Glu

 465 470 475 480
 Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn
 485 490 495
 Ser Asp Val Lys His Tyr Arg Asp Asn Phe Trp Ala Thr Ala Asp Met
 500 505 510
 Thr Cys Leu Pro Gly Thr Thr Thr Leu Asn Asp Met Pro Ser Thr Asn
 515 520 525
 Thr Lys Asn Asp Lys Ser Phe Val Gly Gly Thr Lys Leu Asn Asn Lys

 530 535 540
 Tyr Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys Thr Leu Thr
 545 550 555 560
 Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Leu Gly
 565 570 575
 Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val Thr Ser Val
 580 585 590
 Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Lys Leu Phe Lys Asp Asp Ile Glu

 595 600 605
 Ile Thr Thr Ser Asp Val Asn Ala Gln Glu Thr His Ser Val Phe Leu
 610 615 620
 Glu Ser Asn Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp Lys
 625 630 635 640
 Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Ser Glu
 645 650 655
 Ile Asn Lys Ser Gln Lys Lys Asp Asp Lys Lys Asp Glu Tyr Tyr Glu

660 665 670
Val Thr Gln Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val Leu
675 680 685
Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Ser Asp Phe Lys Ser Lys Asn Asn Asn Val
690 695 700
Ser Ile Val Lys Gln Asp Glu Asp Phe His Val Ile Lys Asp Asn Asp
705 710 715 720
Gly Val Phe Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Asn Thr Lys Ser Phe Asp

725 730 735
Ile Asn Gly Ile Thr Val Glu Leu Lys Glu Lys Gly Met Phe Val Ile
740 745 750
Lys Lys Lys Asp Asp Lys Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Tyr Asn Pro Glu
755 760 765
Thr Thr Asn Thr Ala Ser Asn Ile Glu Ser Lys Ile Phe Ile Lys Gly
770 775 780
Tyr Thr Ile Thr Asn Lys Ser Val Ile Asn Ser Asn Asp Ala Gly Val

785 790 795 800
Asn Phe Glu Leu Thr Lys

805

<210> 77

<211> 815

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus (strain MSSA476)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 77

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

35

40

45

Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
 50 55 60
 Lys Tyr Asp Glu Lys Asn Asp Ala Met Lys Lys Lys Phe Glu Ala Thr
 65 70 75 80
 Glu Asn Glu Ala Lys Lys Leu Leu Ser Glu Met Lys Thr Glu Ser Asp
 85 90 95
 Arg Lys Tyr Leu Trp Glu Asn Ser Lys Asp Leu Asp Thr Lys Ser Ala
 100 105 110
 Asp Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met
 115 120 125
 Lys His Lys Asp Thr Lys Leu Lys Ile Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val
 130 135 140
 Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro
 145 150 155 160
 Asp Lys Lys Val Ala Asp Leu Thr Ser Asn Phe Lys Asn Lys Thr Ser
 165 170 175
 Arg Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Arg
 180 185 190
 Ala Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Gln Phe Ser Asn Asp
 195 200 205
 Glu Lys Lys Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Glu Ser
 210 215 220
 Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Gln Pro Glu Gln Ala Lys Gly Gly
 225 230 235 240
 Asn Leu Val Asp Ile Ala Lys Val Lys Leu Leu Glu Ser Ile Ile Glu
 245 250 255
 Glu Asp Lys Asp Ile Thr Lys Asn Ser Ile Asp Ala Phe Asn Lys Val
 260 265 270
 Phe Thr Tyr Val Gln Ser Asn Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe
 275 280 285
 Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly

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

 355 360 365
 Ser His Thr Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
 370 375 380
 Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Gln Ile Val Lys
 385 390 395 400
 Thr Ser Val Lys Ser Asp Ser Ser Tyr Gly Gln Asn Asp Thr Leu Ser
 405 410 415
 Ser Tyr Ser Asp Ile Ser Lys Met Lys Ser Leu Met Glu Asp Ser Thr

 420 425 430
 Ile Ser Thr Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
 435 440 445
 Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
 450 455 460
 Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu
 465 470 475 480
 Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn

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

Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Asp Lys Gln Thr Thr Ala Ser Asp Asn Gln Gly Thr Asn Ser Val Phe

610 615 620

Leu Glu Ser Thr Asn Lys Pro Lys Asn Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu

625 630 635 640

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

645 650 655

Ser Asp Ile Asn Lys Ser Gln Lys Gln Asp Ser Lys Thr Asn Gln Tyr

660 665 670

Tyr Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Thr Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr

675 680 685

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

690 695 700

Lys Val Thr Val Val Lys Gln Asp Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp

705 710 715 720

Asn Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Ser Thr Gln Thr

725 730 735

Phe Ile Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe

740 745 750

Ile Leu Lys Lys Lys Asp Asp Lys Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn

755 760 765

Pro Glu Ser Thr Asn Thr Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met

770 775 780

Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser

785	790										795					800				
Gly	Val	Arg	Phe	Glu	Leu	Gln	Gln	Thr	Leu	Asn	Lys	Asp	Asp	Asn						
				805					810					815						
<210> 78																				
<211> 807																				
<212> PRT																				
<213> Staphylococcus aureus (strain NCTC 8325)																				
<220>																				
<223> hyaluronan lyase																				
<400> 78																				
Met	Thr	Tyr	Arg	Ile	Lys	Lys	Trp	Gln	Lys	Leu	Ser	Thr	Ile	Thr	Leu					
1		5			10					15										
Leu	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Gly	Glu	Phe	Arg	Ser	Val					
20				25					30											
Asp	Lys	His	Gln	Ile	Ala	Val	Ala	Asp	Thr	Asn	Val	Gln	Thr	Pro	Asp					
35				40					45											
Tyr	Glu	Lys	Leu	Arg	Asn	Thr	Trp	Leu	Asp	Val	Asn	Tyr	Gly	Tyr	Asp					
50		55			60															
Lys	Tyr	Asp	Glu	Asn	Asn	Pro	Asp	Met	Lys	Lys	Lys	Phe	Asp	Ala	Thr					
65		70			75					80										
Glu	Lys	Glu	Ala	Thr	Asn	Leu	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Thr	Glu	Ser	Gly					
85				90					95											
Arg	Lys	Tyr	Leu	Trp	Ser	Gly	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Thr	Asn	Ser	Ser					
100				105					110											
His	Met	Thr	Arg	Thr	Tyr	Arg	Asn	Ile	Glu	Lys	Ile	Ala	Glu	Ala	Met					
115				120					125											
Arg	Asn	Pro	Lys	Thr	Thr	Leu	Asn	Thr	Asp	Glu	Asn	Lys	Lys	Lys	Val					
130		135			140															
Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Trp	Leu	His	Lys	Asn	Ala	Tyr	Gly	Lys	Glu	Pro					
145		150			155					160										
Asp	Lys	Lys	Val	Lys	Glu	Leu	Ser	Glu	Asn	Phe	Thr	Lys	Thr	Thr	Glu					

165	170	175	
Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Lys			
180	185	190	
Ser Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Gln Phe Ser Asn Glu			
195	200	205	
Glu Lys Lys Lys Phe Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Asp Ser			
210	215	220	
Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Leu Ala Lys Gly Gly			
225	230	235	240
Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Cys Ile Ile Glu			
245	250	255	
Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys Val			
260	265	270	
Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe			
275	280	285	
Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly			
290	295	300	
Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro Met			
305	310	315	320
Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Gln Asn Asp Thr Thr Leu			
325	330	335	
Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu			
340	345	350	
Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr			
355	360	365	
Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser			
370	375	380	
Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys			
385	390	395	400
Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Asn Asp Tyr Leu Asn			
405	410	415	

Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser

420 425 430

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

435 440 445

Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu

450 455 460

Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu

465 470 475 480

Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn

485 490 495

Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Trp Val Thr Ala Asp Met

500 505 510

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

515 520 525

Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val

530 535 540

Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Asp Lys Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Asn Asn Ser Val Phe

610 615 620

Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn

625 630 635 640

Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys

645 650 655

Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr

660 665 670
Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val

675 680 685
Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu

690 695 700
Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn

705 710 715 720
Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe

725 730 735
Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile

740 745 750
Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro

755 760 765
Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr

770 775 780
Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly

785 790 795 800
Val His Phe Glu Leu Thr Lys

805

<210> 79

<211> 809

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus (strain bovine RF122)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 79

Met Thr Tyr Arg Met Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu

1 5 10 15

Leu Met Ala Gly Gly Ile Thr Phe Asn Asp Ser Glu Phe Arg Ser Val

20 25 30

Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asn

35	40	45
Tyr Glu Lys Leu Lys Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp		
50	55	60
Lys Tyr Asp Glu Ser Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Glu Ala Thr		
65	70	75
Glu Lys Glu Ala Arg Lys Leu Leu Ser Glu Met Lys Thr Glu Ser Asp		
85	90	95
Arg Lys Tyr Leu Trp Glu Asn Ser Lys Asp Leu Asp Thr Lys Ser Ala		
100	105	110
Asp Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met		
115	120	125
Lys His Pro Lys Thr Thr Leu Lys Asn Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val		
130	135	140
Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro		
145	150	155
Gly Lys Lys Val Ala Asp Leu Lys Thr Asn Phe Ser Lys Ser Ala Pro		
165	170	175
Gln Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro		
180	185	190
Arg Ala Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Lys Glu Asp Phe Thr Asp		
195	200	205
Glu Glu Lys Lys Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Lys		
210	215	220
Ser Asp Glu Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Pro Ala Lys Gly		
225	230	235
Gly Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Ser Ile Ile		
245	250	255
Glu Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Asn Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys		
260	265	270
Val Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Asp Lys Glu Arg Asn Gly		
275	280	285

Phe Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Lys Asp Val Pro Tyr Thr
290 295 300

Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro
305 310 315 320

Met Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Gln Asn Asn Thr Thr
325 330 335

Leu Thr Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly
340 345 350

Glu Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu
355 360 365

Thr Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu
370 375 380

Ser Asp Ala Met Asp Glu Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Gln Ile Val
385 390 395 400

Lys Asn Ser Val Lys Ser Asp Ser Ser Tyr Gly Gln Asn Asp Thr Leu
405 410 415

Ser Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Ser
420 425 430

Thr Ile Ser Thr Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Ala
435 440 445

Met Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly
450 455 460

Leu Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Asn Ile Asn Gly
465 470 475 480

Glu Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr
485 490 495

Asn Ser Asp Val Arg His Tyr Arg Asp Asn Phe Trp Ala Thr Ala Asp
500 505 510

Met Lys Arg Leu Ala Asp Thr Thr Thr Leu Glu Asn Glu Glu Pro Lys
515 520 525

Gly Thr Asp Val Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys

530 535 540
 Phe Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp
 545 550 555 560

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

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

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

 Phe Ile Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr
 755 760 765
 Asn Pro Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser
 770 775 780

Met Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Asn Thr Asn Glu
 785 790 795 800
 Ser Gly Val Arg Phe Glu Leu Thr Lys
 805

<210> 80

<211> 807

<212> PRT

<213>

> Staphylococcus aureus (strain bovine RF122)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 80

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

165 170 175
 Ser Lys Lys Asn Asn Ser Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr

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

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

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

 370 375 380
 Ser Asp Thr Met Asp Glu Ser Thr Lys Thr Lys Tyr Lys Gln Ile Val
 385 390 395 400
 Lys Thr Ser Val Lys Ser Asp Ser Ser Tyr Asp Ser Asn Asp Thr Leu
 405 410 415

Asn Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Lys Leu Met Asn Asp Ser
 420 425 430
 Thr Ile Ser Lys Asn Asp Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp
 435 440 445
 Met Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Glu Leu Asp Phe Ala Phe Gly
 450 455 460
 Leu Ser Met Thr Ser Lys Asn Ile Ala Arg Tyr Glu Asn Ile Asn Gly
 465 470 475 480
 Glu Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr
 485 490 495
 Asn Ser Asp Val Lys His Tyr Arg Asp Asn Phe Trp Ala Thr Ala Asp
 500 505 510
 Met Thr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Thr Leu Asn Asp Met Pro Ser Thr
 515 520 525
 Asn Thr Lys Asn Asp Lys Ser Phe Val Gly Gly Thr Lys Leu Asn Asn
 530 535 540
 Lys Tyr Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys Thr Leu
 545 550 555 560
 Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val Phe Ile
 565 570 575
 Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val Thr Ser
 580 585 590
 Val Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Lys Leu Phe Lys Gly Asp Ile
 595 600 605
 Glu Ile Thr Thr Ser Asp Val Asn Ala Gln Glu Thr His Ser Val Phe
 610 615 620
 Leu Glu Ser Asn Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp
 625 630 635 640
 Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Ser
 645 650 655
 Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Thr Asp Asp Lys Lys Asp Glu Tyr Tyr

660 665 670
 Glu Val Thr Gln Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val
 675 680 685
 Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Ser Asp Phe Lys Ser Lys Asn Asn Asn

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

755 760 765
 Thr Ser Thr Asn Ser Thr Ser Asn Lys Glu Ser Lys Ile Ser Val Thr
 770 775 780
 Gly Tyr Thr Ile Thr Asn Gln Ser Val Ser Asn Phe Lys Glu Ser Asp
 785 790 795 800
 Ile His Phe Glu Leu Thr Lys

805

<210> 81

<211> 807

<212> PRT

<213> Staphylococcus aureus (strain USA300)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400>

81
 Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
 1 5 10 15
 Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val
 20 25 30
 Asp Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Pro Asp
 35 40 45

Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
 50 55 60

Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Thr
 65 70 75 80

Glu Lys Glu Ala Thr Asn Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Gly
 85 90 95

Arg Lys Tyr Leu Trp Ser Gly Ala Glu Thr Leu Glu Thr Asn Ser Ser
 100 105 110

His Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met
 115 120 125

Arg Asn Pro Lys Thr Thr Leu Asn Thr Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val
 130 135 140

Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys Glu Pro
 145 150 155 160

Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly
 165 170 175

Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Lys
 180 185 190

Ser Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Gln Phe Ser Asn Glu
 195 200 205

Glu Lys Lys Lys Phe Thr Ala Pro Ile Lys Thr Phe Ala Pro Asp Ser
 210 215 220

Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Leu Ala Lys Gly Gly
 225 230 235 240

Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Cys Ile Ile Glu
 245 250 255

Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys Val
 260 265 270

Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe
 275 280 285

Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Gln Asp Val Pro Tyr Thr Gly

290 295 300
 Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Gln Met Met Pro Met
 305 310 315 320

 Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Gln Asn Asp Thr Thr Leu
 325 330 335
 Lys Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Pro Leu Ile Tyr Lys Gly Glu
 340 345 350
 Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr
 355 360 365
 Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Leu Leu Arg Leu Ser
 370 375 380

 Asp Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys
 385 390 395 400
 Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Gln Asn Asp Tyr Leu Asn
 405 410 415
 Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser
 420 425 430
 Ile Ser Lys Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Met
 435 440 445

 Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly Leu
 450 455 460
 Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu
 465 470 475 480
 Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn
 485 490 495
 Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Trp Val Thr Ala Asp Met
 500 505 510

 Lys Arg Leu Ser Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asn Glu Ile Leu Lys Asp
 515 520 525
 Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val
 530 535 540

Asp Asp Gln His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Gln Asp Lys
 545 550 555 560
 Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Leu Asn Asp Lys Ile Val
 565 570 575

 Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Pro Val
 580 585 590
 Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr Asp
 595 600 605
 Asp Lys Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Asn Asn Ser Val Phe
 610 615 620
 Leu Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asn
 625 630 635 640

 Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys
 645 650 655
 Glu Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr
 660 665 670
 Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val
 675 680 685
 Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu
 690 695 700

 Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn
 705 710 715 720
 Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Gln Thr Phe
 725 730 735
 Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe Ile
 740 745 750
 Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro
 755 760 765

 Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr
 770 775 780
 Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly

785	790										795										800									
Val	His	Phe	Glu	Leu	Thr	Lys																								
					805																									
<210> 82																														
<211> 1066																														
<212> PRT																														
<213> Streptococcus pneumoniae																														
<220>																														
<223> hyaluronan lyase																														
<400> 82																														
Met	Gln	Thr	Lys	Thr	Lys	Lys	Leu	Ile	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Leu	Val															
1					5					10					15															
Leu	Ser	Gly	Phe	Leu	Leu	Asn	His	Tyr	Met	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Glu															
				20				25				30																		
Thr	Thr	Thr	Asn	Thr	Ile	Gln	Gln	Ser	Gln	Lys	Glu	Val	Gln	Tyr	Gln															
				35				40				45																		
Gln	Arg	Asp	Thr	Lys	Asn	Leu	Val	Glu	Asn	Gly	Asp	Phe	Gly	Gln	Thr															
50				55				60																						
Glu	Asp	Gly	Ser	Ser	Pro	Trp	Thr	Gly	Ser	Lys	Ala	Gln	Gly	Trp	Ser															
65				70				75				80																		
Ala	Trp	Val	Asp	Gln	Lys	Asn	Ser	Ala	Asp	Ala	Ser	Thr	Arg	Val	Ile															
				85				90				95																		
Glu	Ala	Lys	Asp	Gly	Ala	Ile	Thr	Ile	Ser	Ser	His	Glu	Lys	Leu	Arg															
100				105				110																						
Ala	Ala	Leu	His	Arg	Met	Val	Pro	Ile	Glu	Ala	Lys	Lys	Lys	Tyr	Lys															
115				120				125																						
Leu	Arg	Phe	Lys	Ile	Lys	Thr	Asp	Asn	Lys	Ile	Gly	Ile	Ala	Lys	Val															
130				135				140																						
Arg	Ile	Ile	Glu	Glu	Ser	Gly	Lys	Asp	Lys	Arg	Leu	Trp	Asn	Ser	Ala															
145				150				155				160																		
Thr	Thr	Ser	Gly	Thr	Lys	Asp	Trp	Gln	Thr	Ile	Glu	Ala	Asp	Tyr	Ser															
				165				170				175																		

Pro Thr Leu Asp Val Asp Lys Ile Lys Leu Glu Leu Phe Tyr Glu Thr
180 185 190

Gly Thr Gly Thr Val Ser Phe Lys Asp Ile Glu Leu Val Glu Val Ala
195 200 205

Asp Gln Leu Ser Glu Asp Ser Gln Thr Asp Lys Gln Leu Glu Glu Lys
210 215 220

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

Thr Tyr Lys Val Glu Asn Pro Asp Val Ala Ser Val Lys Asn Gly Ile
245 250 255

Leu Glu Pro Leu Lys Glu Gly Thr Thr Asn Val Ile Val Ser Lys Asp
260 265 270

Gly Lys Glu Val Lys Lys Ile Pro Leu Lys Ile Leu Ala Ser Val Lys
275 280 285

Asp Ala Tyr Thr Asp Arg Leu Asp Asp Trp Asn Gly Ile Ile Ala Gly
290 295 300

Asn Gln Tyr Tyr Asp Ser Lys Asn Glu Gln Met Ala Lys Leu Asn Gln
305 310 315 320

Glu Leu Glu Gly Lys Val Ala Asp Ser Leu Ser Ser Ile Ser Ser Gln
325 330 335

Ala Asp Arg Thr Tyr Leu Trp Glu Lys Phe Ser Asn Tyr Lys Thr Ser
340 345 350

Ala Asn Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Glu Glu Met Ala Lys Gln
355 360 365

Val Thr Asn Pro Ser Ser Arg Tyr Tyr Gln Asp Glu Thr Val Val Arg
370 375 380

Thr Val Arg Asp Ser Met Glu Trp Met His Lys His Val Tyr Asn Ser
385 390 395 400

Glu Lys Ser Ile Val Gly Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro
405 410 415

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

420 425 430
 Glu Glu Ile Lys Lys Tyr Thr Asp Val Ile Glu Lys Phe Val Pro Asp
 435 440 445
 Pro Glu His Phe Arg Lys Thr Thr Asp Asn Pro Phe Lys Ala Leu Gly
 450 455 460

 Gly Asn Leu Val Asp Met Gly Arg Val Lys Val Ile Ala Gly Leu Leu
 465 470 475 480
 Arg Lys Asp Asp Gln Glu Ile Ser Ser Thr Ile Arg Ser Ile Glu Gln
 485 490 495
 Val Phe Lys Leu Val Asp Gln Gly Glu Gly Phe Tyr Gln Asp Gly Ser
 500 505 510
 Tyr Ile Asp His Thr Asn Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val
 515 520 525

 Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Leu Pro Val Ile Gln Lys Thr Lys
 530 535 540
 Asn Pro Ile Asp Lys Asp Lys Met Gln Thr Met Tyr His Trp Ile Asp
 545 550 555 560
 Lys Ser Phe Ala Pro Leu Leu Val Asn Gly Glu Leu Met Asp Met Ser
 565 570 575
 Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Ala Asn Ser Glu Gly His Val Ala Ala
 580 585 590

 Val Glu Val Leu Arg Gly Ile His Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu Gly
 595 600 605
 Glu Thr Lys Gln Cys Leu Gln Ser Leu Val Lys Thr Ile Val Gln Ser
 610 615 620
 Asp Ser Tyr Tyr Asp Val Phe Lys Asn Leu Lys Thr Tyr Lys Asp Ile
 625 630 635 640
 Ser Leu Met Gln Ser Leu Leu Ser Asp Ala Gly Val Ala Ser Val Pro
 645 650 655

 Arg Pro Ser Tyr Leu Ser Ala Phe Asn Lys Met Asp Lys Thr Ala Met
 660 665 670

Tyr Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly Phe Gly Leu Ser Leu Phe Ser Ser
 675 680 685
 Arg Thr Leu Asn Tyr Glu His Met Asn Lys Glu Asn Lys Arg Gly Trp
 690 695 700
 Tyr Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Gly Asp Leu Ser His
 705 710 715 720

 Tyr Ser Asp Gly Tyr Trp Pro Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Pro Gly
 725 730 735
 Thr Thr Glu Thr Asp Ala Lys Arg Ala Asp Ser Asp Thr Gly Lys Val
 740 745 750
 Leu Pro Ser Ala Phe Val Gly Thr Ser Lys Leu Asp Asp Ala Asn Ala
 755 760 765
 Thr Ala Thr Met Asp Phe Thr Asn Trp Asn Gln Thr Leu Thr Ala His
 770 775 780

 Lys Ser Trp Phe Met Leu Lys Asp Lys Ile Ala Phe Leu Gly Ser Asn
 785 790 795 800
 Ile Gln Asn Thr Ser Thr Asp Thr Ala Ala Thr Thr Ile Asp Gln Arg
 805 810 815
 Lys Leu Glu Ser Gly Asn Pro Tyr Lys Val Tyr Val Asn Asp Lys Glu
 820 825 830
 Ala Ser Leu Thr Glu Gln Glu Lys Asp Tyr Pro Glu Thr Gln Ser Val
 835 840 845

 Phe Leu Glu Ser Phe Asp Ser Lys Lys Asn Ile Gly Tyr Phe Phe Phe
 850 855 860
 Lys Lys Ser Ser Ile Ser Met Ser Lys Ala Leu Gln Lys Gly Ala Trp
 865 870 875 880
 Lys Asp Ile Asn Glu Gly Gln Ser Asp Lys Glu Val Glu Asn Glu Phe
 885 890 895
 Leu Thr Ile Ser Gln Ala His Lys Gln Asn Arg Asp Ser Tyr Gly Tyr
 900 905 910

 Met Leu Ile Pro Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn Gln Met Ile Lys

915 920 925
 Glu Leu Glu Ser Ser Leu Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Gln Ser Val
 930 935 940
 Tyr Asp Ala Lys Gln Gly Val Trp Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp Ser
 945 950 955 960
 Val Ser Thr Ile Ser Asn Gln Phe Gln Val Leu Lys Arg Gly Val Tyr
 965 970 975

 Thr Ile Arg Lys Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Tyr Tyr Asn Pro
 980 985 990
 Glu Thr Gln Glu Ser Ala Pro Asp Gln Glu Val Phe Lys Lys Leu Glu
 995 1000 1005
 Gln Ala Ala Gln Pro Gln Val Gln Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys Ser
 1010 1015 1020
 Glu Glu Glu Lys Asn His Ser Asp Gln Lys Asn Leu Pro Gln Thr Gly
 1025 1030 1035 1040

 Glu Gly Gln Ser Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Ala
 1045 1050 1055
 Phe Tyr Leu Phe Arg Arg Gly Lys Asn Asn
 1060 1065

 <210> 83
 <211> 1078
 <212> PRT
 <213> Streptococcus pneumoniae (strain ATCC BAA-255/R6)
 <220>
 <223> hyaluronan lyase
 <400> 83
 Met Ile Leu Gln Tyr Val Tyr Trp Ser Val Tyr Met Gln Thr Lys Thr
 1 5 10 15
 Lys Lys Leu Ile Val Ser Leu Ser Ser Leu Val Leu Ser Gly Phe Leu

 20 25 30
 Leu Asn His Tyr Met Thr Val Gly Ala Glu Glu Thr Thr Thr Asn Thr
 35 40 45

Ile Gln Gln Ser Gln Lys Glu Val Gln Tyr Gln Gln Arg Asp Thr Lys
 50 55 60
 Asn Leu Val Glu Asn Gly Asp Phe Gly Gln Thr Glu Asp Gly Ser Ser
 65 70 75 80
 Pro Trp Thr Gly Ser Lys Ala Gln Gly Trp Ser Ala Trp Val Asp Gln
 85 90 95
 Lys Asn Ser Ser Ala Asp Ala Ser Thr Arg Val Ile Glu Ala Lys Asp
 100 105 110
 Gly Ala Ile Thr Ile Ser Ser Pro Glu Lys Leu Arg Ala Ala Val His
 115 120 125
 Arg Met Val Pro Ile Glu Ala Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Arg Phe Lys
 130 135 140
 Ile Lys Thr Asp Asn Lys Val Gly Ile Ala Lys Val Arg Ile Ile Glu
 145 150 155 160
 Glu Ser Gly Lys Asp Lys Arg Leu Trp Asn Ser Ala Thr Thr Ser Gly
 165 170 175
 Thr Lys Asp Trp Gln Thr Ile Glu Ala Asp Tyr Ser Pro Thr Leu Asp
 180 185 190
 Val Asp Lys Ile Lys Leu Glu Leu Phe Tyr Glu Thr Gly Thr Gly Thr
 195 200 205
 Val Ser Phe Lys Asp Ile Glu Leu Val Glu Val Ala Asp Gln Pro Ser
 210 215 220
 Glu Asp Ser Gln Thr Asp Lys Gln Leu Glu Glu Lys Ile Asp Leu Pro
 225 230 235 240
 Ile Gly Lys Lys His Val Phe Ser Leu Ala Asp Tyr Thr Tyr Lys Val
 245 250 255
 Glu Asn Pro Asp Val Ala Ser Val Lys Asn Gly Ile Leu Glu Pro Leu
 260 265 270
 Lys Glu Gly Thr Thr Asn Val Ile Val Ser Lys Asp Gly Lys Glu Val
 275 280 285
 Lys Lys Ile Pro Leu Lys Ile Leu Ala Ser Val Lys Asp Thr Tyr Thr

290 295 300
 Asp Arg Leu Asp Asp Trp Asn Gly Ile Ile Ala Gly Asn Gln Tyr Tyr
 305 310 315 320
 Asp Ser Lys Asn Glu Gln Met Ala Lys Leu Asn Gln Glu Leu Glu Gly
 325 330 335
 Lys Val Ala Asp Ser Leu Ser Ser Ile Ser Ser Gln Ala Asp Arg Ile

 340 345 350
 Tyr Leu Trp Glu Lys Phe Ser Asn Tyr Lys Thr Ser Ala Asn Leu Thr
 355 360 365
 Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Glu Glu Met Ala Lys Gln Val Thr Asn Pro
 370 375 380
 Ser Ser Arg Tyr Tyr Gln Asp Glu Thr Val Val Arg Thr Val Arg Asp
 385 390 395 400
 Ser Met Glu Trp Met His Lys His Val Tyr Asn Ser Glu Lys Ser Ile

 405 410 415
 Val Gly Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Arg Ala Ile Asn
 420 425 430
 Asn Thr Leu Ser Leu Met Lys Glu Tyr Phe Ser Asp Glu Glu Ile Lys
 435 440 445
 Lys Tyr Thr Asp Val Ile Glu Lys Phe Val Pro Asp Pro Glu His Phe
 450 455 460
 Arg Lys Thr Thr Asp Asn Pro Phe Lys Ala Leu Gly Gly Asn Leu Val

 465 470 475 480
 Asp Met Gly Arg Val Lys Val Ile Ala Gly Leu Leu Arg Lys Asp Asp
 485 490 495
 Gln Glu Ile Ser Ser Thr Ile Arg Ser Ile Glu Gln Val Phe Lys Leu
 500 505 510
 Val Asp Gln Gly Glu Gly Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His
 515 520 525
 Thr Asn Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly

 530 535 540

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

 595 600 605
 Arg Gly Ile His Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu Gly Glu Thr Lys Gln
 610 615 620
 Arg Leu Gln Ser Leu Val Lys Thr Ile Val Gln Ser Asp Ser Tyr Tyr
 625 630 635 640
 Asp Val Phe Lys Asn Leu Lys Thr Tyr Lys Asp Ile Ser Leu Met Gln
 645 650 655
 Ser Leu Leu Ser Asp Ala Gly Val Ala Ser Val Pro Arg Thr Ser Tyr

 660 665 670
 Leu Ser Ala Phe Asn Lys Met Asp Lys Thr Ala Met Tyr Asn Ala Glu
 675 680 685
 Lys Gly Phe Gly Phe Gly Leu Ser Leu Phe Ser Ser Arg Thr Leu Asn
 690 695 700
 Tyr Glu His Met Asn Lys Glu Asn Lys Arg Gly Trp Tyr Thr Ser Asp
 705 710 715 720
 Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Gly Asp Leu Ser His Tyr Ser Asp Gly

 725 730 735
 Tyr Trp Pro Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Pro Gly Thr Thr Glu Thr
 740 745 750
 Asp Ala Lys Arg Ala Asp Ser Asp Thr Gly Lys Val Leu Pro Ser Ala
 755 760 765
 Phe Val Gly Thr Ser Lys Leu Asp Asp Ala Asn Ala Thr Ala Thr Met
 770 775 780
 Asp Phe Thr Asn Trp Asn Gln Thr Leu Thr Ala His Lys Ser Trp Phe

785 790 795 800
 Met Leu Lys Asp Lys Ile Ala Phe Leu Gly Ser Asn Ile Gln Asn Thr
 805 810 815
 Ser Thr Asp Thr Ala Ala Thr Thr Ile Asp Gln Arg Lys Leu Glu Ser
 820 825 830
 Ser Asn Pro Tyr Lys Val Tyr Val Asn Asp Lys Glu Ala Ser Leu Thr
 835 840 845
 Glu Gln Glu Lys Asp Tyr Pro Glu Thr Gln Ser Val Phe Leu Glu Ser

 850 855 860
 Ser Asp Ser Lys Lys Asn Ile Gly Tyr Phe Phe Phe Lys Lys Ser Ser
 865 870 875 880
 Ile Ser Met Ser Lys Ala Leu Gln Lys Gly Ala Trp Lys Asp Ile Asn
 885 890 895
 Glu Gly Gln Ser Asp Lys Glu Val Glu Asn Glu Phe Leu Thr Ile Ser
 900 905 910
 Gln Ala His Lys Gln Asn Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Leu Ile Pro

 915 920 925
 Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn Gln Met Ile Lys Glu Leu Glu Ser
 930 935 940
 Ser Leu Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Gln Ser Val Tyr Asp Ala Lys
 945 950 955 960
 Gln Gly Val Trp Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp Ser Val Ser Thr Ile
 965 970 975
 Ser Asn Gln Phe Gln Val Leu Lys Arg Gly Val Tyr Thr Ile Arg Lys

 980 985 990
 Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Tyr Tyr Asn Pro Glu Thr Gln Glu
 995 1000 1005
 Ser Ala Pro Asp Gln Glu Val Phe Lys Lys Leu Glu Gln Ala Ala Gln
 1010 1015 1020
 Pro Gln Val Gln Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys Ser Glu Glu Glu Lys
 1025 1030 1035 1040

Asn His Ser Asp Gln Lys Asn Leu Pro Gln Thr Gly Glu Gly Gln Ser

1045

1050

1055

Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Ala Phe Tyr Leu Phe

1060

1065

1070

Arg Arg Gly Lys Asn Asn

1075

<210> 84

<211> 1067

<212> PRT

<213> Streptococcus pneumoniae serotype 2 (strain D39/N)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 84

Met Gln Thr Lys Thr Lys Lys Leu Ile Val Ser Leu Ser Ser Leu Val

1

5

10

15

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

20

25

30

Thr Thr Thr Asn Thr Ile Gln Gln Ser Gln Lys Glu Val Gln Tyr Gln

35

40

45

Gln Arg Asp Thr Lys Asn Leu Val Glu Asn Gly Asp Phe Gly Gln Thr

50

55

60

Glu Asp Gly Ser Ser Pro Trp Thr Gly Ser Lys Ala Gln Gly Trp Ser

65

70

75

80

Ala Trp Val Asp Gln Lys Asn Ser Ser Ala Asp Ala Ser Thr Arg Val

85

90

95

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

100

105

110

Arg Ala Ala Val His Arg Met Val Pro Ile Glu Ala Lys Lys Lys Tyr

115

120

125

Lys Leu Arg Phe Lys Ile Lys Thr Asp Asn Lys Val Gly Ile Ala Lys

130

135

140

Val Arg Ile Ile Glu Glu Ser Gly Lys Asp Lys Arg Leu Trp Asn Ser
145 150 155 160
Ala Thr Thr Ser Gly Thr Lys Asp Trp Gln Thr Ile Glu Ala Asp Tyr
165 170 175
Ser Pro Thr Leu Asp Val Asp Lys Ile Lys Leu Glu Leu Phe Tyr Glu
180 185 190
Thr Gly Thr Gly Thr Val Ser Phe Lys Asp Ile Glu Leu Val Glu Val
195 200 205
Ala Asp Gln Pro Ser Glu Asp Ser Gln Thr Asp Lys Gln Leu Glu Glu
210 215 220
Lys Ile Asp Leu Pro Ile Gly Lys Lys His Val Phe Ser Leu Ala Asp
225 230 235 240
Tyr Thr Tyr Lys Val Glu Asn Pro Asp Val Ala Ser Val Lys Asn Gly
245 250 255
Ile Leu Glu Pro Leu Lys Glu Gly Thr Thr Asn Val Ile Val Ser Lys
260 265 270
Asp Gly Lys Glu Val Lys Lys Ile Pro Leu Lys Ile Leu Ala Ser Val
275 280 285
Lys Asp Thr Tyr Thr Asp Arg Leu Asp Asp Trp Asn Gly Ile Ile Ala
290 295 300
Gly Asn Gln Tyr Tyr Asp Ser Lys Asn Glu Gln Met Ala Lys Leu Asn
305 310 315 320
Gln Glu Leu Glu Gly Lys Val Ala Asp Ser Leu Ser Ser Ile Ser Ser
325 330 335
Gln Ala Asp Arg Ile Tyr Leu Trp Glu Lys Phe Ser Asn Tyr Lys Thr
340 345 350
Ser Ala Asn Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Glu Glu Met Ala Lys
355 360 365
Gln Val Thr Asn Pro Ser Ser Arg Tyr Tyr Gln Asp Glu Thr Val Val
370 375 380
Arg Thr Val Arg Asp Ser Met Glu Trp Met His Lys His Val Tyr Asn

385			390			395			400							
Ser	Glu	Lys	Ser	Ile	Val	Gly	Asn	Trp	Trp	Asp	Tyr	Glu	Ile	Gly	Thr	
				405			410			415						
Pro	Arg	Ala	Ile	Asn	Asn	Thr	Leu	Ser	Leu	Met	Lys	Glu	Tyr	Phe	Ser	
				420			425			430						
Asp	Glu	Glu	Ile	Lys	Lys	Tyr	Thr	Asp	Val	Ile	Glu	Lys	Phe	Val	Pro	
				435			440			445						
Asp	Pro	Glu	His	Phe	Arg	Lys	Thr	Thr	Asp	Asn	Pro	Phe	Lys	Ala	Leu	
450							455			460						
Gly	Gly	Asn	Leu	Val	Asp	Met	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Ile	Ala	Gly	Leu	
465				470						475			480			
Leu	Arg	Lys	Asp	Asp	Gln	Glu	Ile	Ser	Ser	Thr	Ile	Arg	Ser	Ile	Glu	
				485						490			495			
Gln	Val	Phe	Lys	Leu	Val	Asp	Gln	Gly	Glu	Gly	Phe	Tyr	Gln	Asp	Gly	
				500			505							510		
Ser	Tyr	Ile	Asp	His	Thr	Asn	Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Ala	Tyr	Gly	Asn	
515							520							525		
Val	Leu	Ile	Asp	Gly	Leu	Ser	Gln	Leu	Leu	Pro	Val	Ile	Gln	Lys	Thr	
530							535			540						
Lys	Asn	Pro	Ile	Asp	Lys	Asp	Lys	Met	Gln	Thr	Met	Tyr	His	Trp	Ile	
545				550						555			560			
Asp	Lys	Ser	Phe	Ala	Pro	Leu	Leu	Val	Asn	Gly	Glu	Leu	Met	Asp	Met	
				565						570			575			
Ser	Arg	Gly	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Ala	Asn	Ser	Glu	Gly	His	Val	Ala	
				580						585			590			
Ala	Val	Glu	Val	Leu	Arg	Gly	Ile	His	Arg	Ile	Ala	Asp	Met	Ser	Glu	
595							600							605		
Gly	Glu	Thr	Lys	Gln	Arg	Leu	Gln	Ser	Leu	Val	Lys	Thr	Ile	Val	Gln	
610							615							620		
Ser	Asp	Ser	Tyr	Tyr	Asp	Val	Phe	Lys	Asn	Leu	Lys	Thr	Tyr	Lys	Asp	
625				630						635			640			

Ile Ser Leu Met Gln Ser Leu Leu Ser Asp Ala Gly Val Ala Ser Val
645 650 655

Pro Arg Thr Ser Tyr Leu Ser Ala Phe Asn Lys Met Asp Lys Thr Ala
660 665 670

Met Tyr Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly Phe Gly Leu Ser Leu Phe Ser
675 680 685

Ser Arg Thr Leu Asn Tyr Glu His Met Asn Lys Glu Asn Lys Arg Gly
690 695 700

Trp Tyr Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Gly Asp Leu Ser
705 710 715 720

His Tyr Ser Asp Gly Tyr Trp Pro Thr Val Asn Pro Tyr Lys Met Pro
725 730 735

Gly Thr Thr Glu Thr Asp Ala Lys Arg Ala Asp Ser Asp Thr Gly Lys
740 745 750

Val Leu Pro Ser Ala Phe Val Gly Thr Ser Lys Leu Asp Asp Ala Asn
755 760 765

Ala Thr Ala Thr Met Asp Phe Thr Asn Trp Asn Gln Thr Leu Thr Ala
770 775 780

His Lys Ser Trp Phe Met Leu Lys Asp Lys Ile Ala Phe Leu Gly Ser
785 790 795 800

Asn Ile Gln Asn Thr Ser Thr Asp Thr Ala Ala Thr Thr Ile Asp Gln
805 810 815

Arg Lys Leu Glu Ser Ser Asn Pro Tyr Lys Val Tyr Val Asn Asp Lys
820 825 830

Glu Ala Ser Leu Thr Glu Gln Glu Lys Asp Tyr Pro Glu Thr Gln Ser
835 840 845

Val Phe Leu Glu Ser Ser Asp Ser Lys Lys Asn Ile Gly Tyr Phe Phe
850 855 860

Phe Lys Lys Ser Ser Ile Ser Met Ser Lys Ala Leu Gln Lys Gly Ala
865 870 875 880

Trp Lys Asp Ile Asn Glu Gly Gln Ser Asp Lys Glu Val Glu Asn Glu

885 890 895
Phe Leu Thr Ile Ser Gln Ala His Lys Gln Asn Gly Asp Ser Tyr Gly
900 905 910

Tyr Met Leu Ile Pro Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn Gln Met Ile
915 920 925

Lys Glu Leu Glu Ser Ser Leu Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Gln Ser
930 935 940

Val Tyr Asp Ala Lys Gln Gly Val Trp Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp
945 950 955 960

Ser Val Ser Thr Ile Ser Asn Gln Phe Gln Val Leu Lys Arg Gly Val
965 970 975

Tyr Thr Ile Arg Lys Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Tyr Tyr Asn
980 985 990

Pro Glu Thr Gln Glu Ser Ala Pro Asp Gln Glu Val Phe Lys Lys Leu
995 1000 1005

Glu Gln Ala Ala Gln Pro Gln Val Gln Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys
1010 1015 1020

Ser Glu Glu Glu Lys Asn His Ser Asp Gln Lys Asn Leu Pro Gln Thr
1025 1030 1035 1040

Gly Glu Gly Gln Ser Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly
1045 1050 1055

Ala Phe Tyr Leu Phe Arg Arg Gly Lys Asn Asn
1060 1065

<210> 85

<211> 805

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotype M1

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 85

Met Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser
1 5 10 15

Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile

65 70 75 80

Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Asp Lys Thr Asn Pro Asp Met Val Thr

85 90 95

Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr

100 105 110

Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys

115 120 125

Asp Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu

130 135 140

Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro Glu Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp

145 150 155 160

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

165 170 175

His Ala Tyr Asn Leu Asp Arg Glu Asn His Gln Thr Thr Gly Lys Glu

180 185 190

Asn Lys Glu Asn Trp Trp Val Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Arg Ala Ile

195 200 205

Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Pro Tyr Phe Thr Gln Glu Glu Ile

210 215 220

Leu Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Glu Lys Phe Val Pro Asp Pro Thr Arg

225 230 235 240

Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser Pro Phe Glu Ala Asn Ser Gly

245 250 255

Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys Leu Ile Ser Gly Ile Leu Arg

260 265 270
Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr Ile Lys Ala Ile Glu Lys Val

275 280 285
Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Leu

290 295 300
Ile Asp His Val Val Thr Asn Ala Gln Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly

305 310 315 320
Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser

325 330 335
Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr Lys Ser Pro Ile Lys Ala Asp

340 345 350
Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile Asn His Ser Phe Phe Pro Ile

355 360 365
Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser

370 375 380
Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala

385 390 395 400
Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu Glu Pro His Arg Leu Ala Leu

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

420 425 430
Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu

435 440 445
Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val

450 455 460
Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His

465 470 475 480
Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr

485 490 495
Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly

500 505 510

Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr
515 520 525
Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu
530 535 540
Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu Asn Ile Lys Thr Asn Tyr Gln
545 550 555 560
Gln Val Gly Met Thr Gly Leu Ser Asp Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys
565 570 575
Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp
580 585 590
Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys
595 600 605
Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys Asn Gln Ser Ser His Lys Ala
610 615 620
Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu Asn Gln Lys Tyr Pro Tyr Cys
625 630 635 640
Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp
645 650 655
Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln
660 665 670
Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys
675 680 685
Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser
690 695 700
Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln
705 710 715 720
Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn
725 730 735
Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp
740 745 750
Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala Val Tyr Asp His Asp Ser

755 760 765
Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Gly Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser
770 775 780
Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr Ser Phe Pro His Pro Val

785 790 795 800
Arg Gln Asn Gln Gln
805

<210> 86

<211> 780

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotype M2 (strain MGAS10)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 86

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

Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Ile
35 40 45

Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
50 55 60

Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65 70 75 80

Glu Lys Lys Val Val Gln Pro Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
85 90 95

Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Asp Lys
100 105 110

Thr Asn Pro Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala
115 120 125

Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
130 135 140

Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr
145 150 155 160

Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro
165 170 175

Glu Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp
180 185 190

Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn
195 200 205

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

Ile Gly Thr Pro Arg Ala Ile Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Pro
225 230 235 240

Tyr Phe Thr Gln Glu Glu Ile Leu Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Glu Lys
245 250 255

Phe Val Pro Asp Pro Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser
260 265 270

Pro Phe Glu Ala Asn Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys
275 280 285

Leu Ile Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr
290 295 300

Ile Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly
305 310 315 320

Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Leu Ile Asp His Val Val Thr Asn Thr Gln
325 330 335

Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn
340 345 350

Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr
355 360 365

Lys Ser Pro Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile
370 375 380

Asn His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met

385 390 395 400
 Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala
 405 410 415

 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu
 420 425 430
 Glu Pro His Arg Leu Glu Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr
 435 440 445
 Gln Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His
 450 455 460
 Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val
 465 470 475 480

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

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

 Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly
 610 615 620
 Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys
 625 630 635 640

Asn Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu
645 650 655

Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp
660 665 670

Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
675 680 685

Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
690 695 700

Arg Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
705 710 715 720

Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
725 730 735

Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Glu Gly Asp Arg Tyr
740 745 750

Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
755 760 765

Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn
770 775 780

<210> 87

<211> 868

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotype M4 (strain MGAS10)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 87

Met Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser

1 5 10 15
Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr
20 25 30

Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Lys Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln
35 40 45

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

50 55 60
 Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile

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

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

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

 260 265 270
 Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr Ile Lys Ala Ile Glu Lys Val
 275 280 285
 Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Leu
 290 295 300

Ile Asp His Val Val Thr Asn Ala Gln Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly
305 310 315 320
Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser
325 330 335
Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr Lys Ser Pro Ile Glu Ala Asp
340 345 350
Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile Asn His Ser Phe Phe Pro Ile
355 360 365
Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser
370 375 380
Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala
385 390 395 400
Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu Glu Pro His Arg Leu Ala Leu
405 410 415
Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr Gln Gly Asn Val Phe Tyr Asn
420 425 430
Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu
435 440 445
Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val
450 455 460
Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His
465 470 475 480
Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr
485 490 495
Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly
500 505 510
Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr
515 520 525
Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu
530 535 540
Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu Asn Ile Lys Thr Asn Tyr Gln

545 550 555 560
 Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys
 565 570 575
 Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp

 580 585 590
 Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys
 595 600 605
 Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys Asn Gln Ser Ser His Lys Ala
 610 615 620
 Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys
 625 630 635 640
 Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp

 645 650 655
 Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln
 660 665 670
 Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys
 675 680 685
 Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser
 690 695 700
 Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln

 705 710 715 720
 Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn
 725 730 735
 Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp
 740 745 750
 Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala Val Tyr Asp His Asp Ser
 755 760 765
 Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu Lys Lys Ala Thr Thr Phe Ser

 770 775 780
 Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr Ser Phe Pro His Pro Val
 785 790 795 800

Lys Gln Asn Gln Gln Gln Lys Leu Ala His Gln Gly Ile Ala Ala Lys
805 810 815
Asn Asn Ala Leu Asn Ser His Lys Ile Pro His Lys Arg Gln Arg Arg
820 825 830
Leu Pro Arg Thr Gly Tyr Gln Ser Ser Ser Leu Glu Phe Leu Gly Gly
835 840 845
Ala Leu Val Ala Ser Phe Asn His Ile Thr Lys Pro Phe Arg Lys Lys
850 855 860
Asp Leu Arg Ile
865
<210> 88
<211> 828
<212> PRT
<213> Streptococcus pyogenes serotype M6
<220>
<223> hyaluronan lyase
<400> 88
Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asp Gln Phe Thr Phe Ile Ile Ser Phe
1 5 10 15
Leu Tyr Trp Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His
20 25 30
Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met
35 40 45
Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
50 55 60
Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65 70 75 80
Glu Lys Lys Val Val Gln Pro Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
85 90 95
Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Asp Lys
100 105 110
Thr Asn Pro Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala

115 120 125
 Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
 130 135 140
 Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr

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

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

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

 340 345 350
 Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr
 355 360 365

Lys Ser Pro Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile
 370 375 380
 Asn His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met
 385 390 395 400
 Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala
 405 410 415
 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu
 420 425 430
 Glu Pro His Arg Leu Ala Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr
 435 440 445
 Gln Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His
 450 455 460
 Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Phe Val Pro Val
 465 470 475 480
 Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu
 485 490 495
 Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe
 500 505 510
 Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His
 515 520 525
 Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu
 530 535 540
 Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu
 545 550 555 560
 Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu
 565 570 575
 Asn Ile Lys Thr Asp Tyr Gln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp
 580 585 590
 Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala
 595 600 605
 Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly

610 615 620
 Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys
 625 630 635 640
 Asn Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu
 645 650 655
 Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp

660 665 670
 Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
 675 680 685
 Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
 690 695 700
 Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
 705 710 715 720
 Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn

725 730 735
 Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr
 740 745 750
 Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
 755 760 765
 Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala
 770 775 780
 Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu

785 790 795 800
 Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe
 805 810 815
 Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln

820 825
 <210> 89
 <211> 556
 <212> PRT
 <213> Streptococcus pyogenes serotype M12 (strain MGAS2)
 <220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 89

Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Gln Ser Thr Phe Ile Ile Ser Phe
1 5 10 15

Leu Tyr Trp Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His
20 25 30

Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met
35 40 45

Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
50 55 60

Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65 70 75 80

Glu Lys Lys Val Val Gln Pro Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
85 90 95

Leu Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Asp Lys
100 105 110

Thr Asn Pro Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala
115 120 125

Gln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Glu Asn Arg Thr
130 135 140

Tyr Leu Gly Asn Met Gln Arg Ile Ile Pro Leu Leu Leu Ile Ser Arg
145 150 155 160

Lys Leu Thr Ala Ile Leu Lys Lys Ile Ser Lys Met Lys Ser Leu Met
165 170 175

Glu Asp Ser Thr Ile Ser Thr Asn Gly Leu Thr Gln Gln Leu Lys Ile
180 185 190

Tyr Asn Asp Met Asp Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Gly Leu Asp Phe
195 200 205

Ala Phe Gly Leu Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser
210 215 220

Ile Asn Gly Glu Asn Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser

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

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

 Lys Asn Pro Val Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala Asn Asp Tyr Lys
 340 345 350
 Leu Tyr Lys Asp Asp Thr Gln Thr Thr Asn Ser Asp Asn Gln Glu Thr
 355 360 365
 Asn Ser Leu Phe Leu Glu Ser Thr Asn Ser Thr Gln Asn Asn Ile Gly
 370 375 380
 Tyr His Phe Leu Asn Glu Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His
 385 390 395 400

 Thr Gly Lys Trp Ser Asp Ile Asn Lys Ser Gln Lys Asp Ile Gln Lys
 405 410 415
 Thr Asp Glu Tyr Tyr Glu Val Thr Gln Lys His Ser Asn Thr Asp Ser
 420 425 430
 Lys Tyr Ala Tyr Val Leu Tyr Pro Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys
 435 440 445
 Ser Lys Ala Ser Lys Val Thr Val Val Lys Gln Glu Asp Asp Phe His
 450 455 460

 Val Val Lys Asp Asn Glu Ser Val Trp Ala Gly Ile Asn Tyr Ser Asp
 465 470 475 480

Ser Ala Lys Thr Phe Glu Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala
485 490 495

Lys Gly Met Phe Ile Leu Thr Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Cys
500 505 510

Ser Phe Tyr Asn Pro Glu Ser Thr Asn Ser Val Ser Asp Ile Glu Ser
515 520 525

Lys Ile Ser Met Thr Gly Tyr Ser Ile Ile Asn Lys Asn Thr Ser Thr
530 535 540

Ser Asn Glu Ser Gly Val Arg Phe Glu Leu Thr Lys
545 550 555

<210> 90

<211> 635

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotype M12 (strain MGAS2)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 90

Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn His
1 5 10 15

Gln Thr Thr Gly Lys Glu Asn Lys Glu Asn Trp Trp Val Tyr Glu Ile
20 25 30

Gly Thr Pro Arg Ala Ile Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Pro Tyr
35 40 45

Phe Thr Gln Glu Glu Ile Leu Lys Tyr Thr Ala Pro Ile Glu Lys Phe
50 55 60

Val Pro Asp Pro Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser Pro
65 70 75 80

Phe Glu Ala Ser Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys Leu
85 90 95

Ile Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr Ile
100 105 110

Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly Phe

115 120 125
 Tyr Gln Asp Gly Ser Leu Ile Asp His Val Val Thr Asn Ala Gln Ser
 130 135 140
 Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val

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

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

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

 340 345 350
 His Tyr Ser Glu Asn Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu Pro
 355 360 365

Gly Thr Thr Glu Thr Glu Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu Asn
 370 375 380
 Ile Lys Thr Asn Tyr Gln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp Asp
 385 390 395 400
 Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala Ala
 405 410 415
 Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly Trp
 420 425 430
 Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys Asn
 435 440 445
 Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu Asn
 450 455 460
 Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp Leu
 465 470 475 480
 Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu Glu
 485 490 495
 Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro Thr
 500 505 510
 Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn Ile
 515 520 525
 Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn Thr
 530 535 540
 Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala
 545 550 555 560
 Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr Ile
 565 570 575
 Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala
 580 585 590
 Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu Lys
 595 600 605
 Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr

610 615 620
 Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
 625 630 635
 <210> 91
 <211> 828
 <212> PRT
 <213> Streptococcus pyogenes serotype M12 (strain MGAS9)
 <220>
 <223> hyaluronan lyase
 <400> 91
 Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Gln Ser Thr Phe Ile Ile Ser Phe
 1 5 10 15

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

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

 Tyr Leu Trp Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr
 145 150 155 160
 Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys Gln Ile Thr Asn Pro
 165 170 175

Glu Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp
 180 185 190
 Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn
 195 200 205

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

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

 Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn
 340 345 350
 Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr
 355 360 365
 Lys Ser Pro Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile
 370 375 380
 Asn His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met
 385 390 395 400

 Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala
 405 410 415
 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu

420 425 430
 Glu Pro His Arg Leu Ala Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr
 435 440 445
 Gln Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His
 450 455 460

 Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val
 465 470 475 480
 Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu
 485 490 495
 Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe
 500 505 510
 Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His
 515 520 525

 Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu
 530 535 540
 Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu
 545 550 555 560
 Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu
 565 570 575
 Asn Ile Lys Thr Asn Tyr Gln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp
 580 585 590

 Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala
 595 600 605
 Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly
 610 615 620
 Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys
 625 630 635 640
 Asn Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu
 645 650 655

 Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp
 660 665 670

Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
675 680 685
Glu Ser Asp Asp Pro Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
690 695 700
Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn
705 710 715 720

Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
725 730 735
Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr
740 745 750
Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
755 760 765
Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala
770 775 780

Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu
785 790 795 800
Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe
805 810 815
Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
820 825

<210> 92

<211> 828

<212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotype M28

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 92

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

35 40 45
 Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
 50 55 60
 Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Met Leu Thr Thr Thr Asp Ser

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

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

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

 260 265 270
 Pro Phe Glu Ala Asn Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys
 275 280 285

Leu Ile Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr
 290 295 300
 Ile Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly
 305 310 315 320
 Phe Tyr Gln Asp Gly Ser Leu Ile Asp His Val Val Thr Asn Ala Gln
 325 330 335
 Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn
 340 345 350
 Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Gln Leu Ile Pro Ile Ile Gln Lys Thr
 355 360 365
 Lys Ser Ser Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile
 370 375 380
 Asn His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met
 385 390 395 400
 Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Gln Ser His Val Ala
 405 410 415
 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu
 420 425 430
 Glu Pro His Arg Leu Ala Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr
 435 440 445
 Gln Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His
 450 455 460
 Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Pro Val
 465 470 475 480
 Gln Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu
 485 490 495
 Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe
 500 505 510
 Ser Asn Arg Thr Gln Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His
 515 520 525
 Gly Trp Phe Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu

530 535 540
 Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu
 545 550 555 560
 Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu Gln Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu
 565 570 575
 Asn Ile Lys Thr Asn Tyr Gln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp

 580 585 590
 Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala
 595 600 605
 Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Gly
 610 615 620
 Trp Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys
 625 630 635 640
 Asn Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Gln Arg Lys Glu

 645 650 655
 Asn Gln Lys His Pro Tyr His Ala Tyr Val Asn Asn Gln Pro Val Asp
 660 665 670
 Leu Asn Asn Gln Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Leu
 675 680 685
 Glu Ser Asp Asp Ser Ala Gln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro
 690 695 700
 Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn

705 710 715 720
 Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn
 725 730 735
 Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr
 740 745 750
 Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Gln Glu Phe Glu Thr Tyr
 755 760 765
 Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn Asp Lys Leu Ala

770 775 780

Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Gln Met His Val Ile His Tyr Glu
785 790 795 800

Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe
805 810 815

Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Gln Asn Gln Gln
820 825

<210> 93

<211> 522

<212> PRT

<213> Streptococcus suis

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 93

Met Gly Phe Phe Ile Ser Gln Ser Lys Gln His Tyr Gly Ile Arg Lys
1 5 10 15

Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
20 25 30

Thr Arg Val Ala Ala Asn Gln Leu Pro Ser Thr Glu Thr Ala Ser Pro
35 40 45

Gln Ser Ser Gln Leu Val Glu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val
50 55 60

Asn Leu Thr Thr Glu Ala Val Met Thr Ser Glu Val Ser Ser Glu Val
65 70 75 80

Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu Thr Gln Pro Ser Ser Thr Ala Ala Glu
85 90 95

Thr Leu Ala Ser Pro Gln Ala Val Gln Ala Thr Lys Glu Glu Glu Lys
100 105 110

Asn Leu Val Ala Asn Gly Glu Phe Ala Ser Thr Thr Ala Ala Ser Gly
115 120 125

Asn Trp Ala Asp Pro Ala Ala Thr Asn Trp Glu Thr Trp Ile Pro Ala
130 135 140

Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Gln Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu

145	150	155	160
His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr Arg Val Ala Val His Gln Thr Val			
	165	170	175
Asp Val Asp Pro Asn Lys Arg Tyr Leu Phe Ser Tyr Asn Val Glu Thr			
	180	185	190
Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val Arg Val Arg Leu Arg Ser Leu Thr			
	195	200	205
Ala Glu Gly Lys Asp Leu Ser Pro Gln Glu Phe Ala Tyr Thr Pro Tyr			
	210	215	220
Lys Asn Gly Ser Gln Ala Glu His Ile Glu Gln Ile Leu Thr Val Ser			
225	230	235	240
Pro Glu Thr Arg Lys Leu Lys Val Glu Leu Phe Phe Glu Asn Ser Val			
	245	250	255
Gly Gln Ala Trp Leu Asp Asn Ile Ser Leu Val Glu Tyr Val Glu Lys			
	260	265	270
Thr Pro Glu Thr Pro Glu Pro Ser Leu Glu Leu Val Gln Pro Glu Thr			
	275	280	285
Gly Gln Ile Ser Leu Ala Ser Asn Lys Val Tyr Leu Pro Val Arg Pro			
	290	295	300
Asp Leu Thr Tyr Arg Ile Ala Asp Ala Ala Val Ala Ile Val Glu Lys			
305	310	315	320
Asn Met Ile Arg Pro Leu Ala Ala Gly Lys Thr Gln Val Asp Val Tyr			
	325	330	335
Asp Lys Asp Thr Lys Leu Ser Ser Phe Glu Leu Thr Val Thr Glu His			
	340	345	350
Gln Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu Arg Asn Asn Trp Glu Asp Ile Ser			
	355	360	365
Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Gln Ser Asn Asp Thr Gln Met Lys Ala Phe			
	370	375	380
Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val Ala Ser Ser Leu Lys Lys Trp Val			
385	390	395	400

Glu Pro Thr Asn Gln Gly Lys Thr Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser
405 410 415

Lys Ser Ser His Leu Thr Thr Val Tyr Arg Arg Leu Glu Gln Met Ala
420 425 430

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

Ile Asp Leu Val Arg Lys Gly Met Asn Trp Leu Tyr Thr Asn Val Tyr
450 455 460

Asn Glu Asn Lys Ser Ile Asp Gly Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly
465 470 475 480

Thr Pro Arg Ala Val Val Asn Thr Leu Ile Tyr Met His Pro Tyr Phe
485 490 495

Ser Gln Glu Glu Ile Leu Thr Tyr Thr Lys Pro Ile Ser Lys Phe Val
500 505 510

Pro Asp Pro Thr Thr Ile Ser Val Lys His
515 520

<210> 94

<211> 1164

<212> PRT

<213> Streptococcus suis

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 94

Met Gly Phe Phe Ile Ser Gln Ser Lys Gln His Tyr Gly Ile Arg Lys
1 5 10 15

Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
20 25 30

Thr Arg Val Ala Ala Asn Gln Leu Pro Ser Thr Glu Thr Ala Ser Pro
35 40 45

Gln Ser Ser Gln Leu Val Glu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val
50 55 60

Met Thr Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu

65 70 75 80
 Thr Gln Pro Ser Ser Thr Thr Ala Glu Thr Leu Ala Ser Pro Gln Ala
 85 90 95
 Val Gln Ala Thr Lys Glu Glu Lys Asn Leu Val Ala Asn Gly Glu Phe

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

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

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

 290 295 300
 Ala Ala Val Ala Thr Val Glu Lys Asn Met Ile Arg Pro Leu Ala Ala
 305 310 315 320

Gly Lys Thr Gln Val Asp Val Tyr Asp Lys Asp Thr Lys Leu Ser Ser
325 330 335
Phe Glu Leu Ile Val Thr Glu His Gln Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu
340 345 350
Arg Asn Asn Trp Glu Asp Ile Ser Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Gln Ser
355 360 365
Asn Asp Ala Gln Met Lys Ala Phe Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val
370 375 380
Ala Ser Ser Leu Glu Lys Trp Val Glu Pro Thr Glu Gln Ser Lys Thr
385 390 395 400
Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser Lys Ser Ser His Leu Thr Thr Val
405 410 415
Tyr Arg Arg Leu Glu Gln Met Ala Gln Val Val Glu Asn Pro Asp Ser
420 425 430
Ala Tyr Tyr His Asp Arg Ser Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Gly Met
435 440 445
Asn Trp Leu Tyr Ala Asn Val Tyr Asn Glu Asn Lys Ser Ile Asp Gly
450 455 460
Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Ser Arg Ala Val Val Asn Thr
465 470 475 480
Leu Ile Tyr Met His Pro Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Ile Leu Thr Tyr
485 490 495
Thr Lys Pro Ile Ser Lys Phe Val Pro Asp Pro Thr Thr Ile Arg Lys
500 505 510
Thr Leu Thr Asn Pro Val Pro Ala Val Gly Gly Asn Gln Thr Asp Leu
515 520 525
Ser Lys Val Ala Ile Leu Glu Gly Ala Leu Arg Glu Asp Ala Asp Arg
530 535 540
Val Arg Ala Gly Ala Gln Gly Leu Thr Thr Ile Met Lys Phe Val Asp
545 550 555 560
Lys Gly Glu Gly Phe Tyr Arg Asp Gly Ser Phe Ile Asp His Thr Asn

565 570 575
 Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Glu Gly Phe Ser
 580 585 590
 Gln Leu Leu Pro Val Ile Gln Pro Thr Glu Phe Ala Leu Lys Glu Glu
 595 600 605
 Gln Thr Asn Ile Leu Tyr Glu Trp Ile Glu Lys Ala Phe Met Pro Ile

 610 615 620
 Leu Val Arg Gly Glu Leu Met Asp Met Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser
 625 630 635 640
 Arg Ala Thr Gly Glu Ser His Val Gln Ala Met Glu Ile Leu Arg Ser
 645 650 655
 Leu Val Arg Ile Ala Glu Ser Ala Gln Pro Glu Gln Lys Thr Lys Leu
 660 665 670
 Leu Ser Phe Val Lys Ala Gln Leu Thr Ser Asp Thr Phe Tyr Asp Ser

 675 680 685
 Tyr Arg Ser Leu Lys Ser Tyr Lys Asp Ile Asp Leu Val Asn Lys Leu
 690 695 700
 Leu Ala Asp Asn Gln Ile Pro Ala Glu Val Asp Lys Asp Tyr Ile Ala
 705 710 715 720
 Ala Phe Asn Asn Met Asp Lys Phe Val Tyr Arg Ser Ala Gln Glu Gly
 725 730 735
 Phe Thr Phe Ala Leu Ser Met Tyr Ser Ser Arg Thr Gln Asn Tyr Glu

 740 745 750
 Asp Met Asn Asn Glu Asn Arg Lys Gly Trp Tyr Thr Ala Asp Gly Met
 755 760 765
 Val Tyr Leu Tyr Asn Asp Asp Leu Ser His Tyr Ser Asn His Tyr Trp
 770 775 780
 Ala Thr Val Asp Pro Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Thr Thr Lys Asp
 785 790 795 800
 Lys Arg Glu Asp Gly Ser Gly Glu Val Thr Leu Ala Ser Asp Phe Val

 805 810 815

Gly Ala Ser Gln Leu Gly Asn Arg Leu Ala Thr Ile Ala Met Asp Phe
 820 825 830
 Asn Asn Trp Asn Asn Ser Leu Thr Ala Arg Lys Ala Trp Ile Val Leu
 835 840 845
 Gly Asn Lys Ile Val Phe Leu Gly Thr Asp Ile Gln His Gln Ser Ala
 850 855 860
 Gln Gly Ala Glu Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Leu Leu Thr Gly Glu

 865 870 875 880
 Lys Tyr Ser Tyr Tyr Ile Asn Gly Gln Pro Val Asp Leu Ser Lys Glu
 885 890 895
 Val Val Thr Asp Lys Thr Gln Ser Phe Tyr Met Thr Asn Gly Lys Asp
 900 905 910
 Asn Gln Ser Ile Gly Tyr Val Phe Leu Asn Gln Leu Pro Thr His Ala
 915 920 925
 Lys Leu Asp Gln Arg Thr Gly Lys Trp Ser Asp Ile Asn Tyr Asn Gln

 930 935 940
 Ser Lys Glu Glu Val Ser Asn Ser Phe Val Ser Leu Trp His Glu His
 945 950 955 960
 Ala Gln Thr Ser Ser Asn Tyr Ala Tyr Val Leu Val Pro Asn Gln Ser
 965 970 975
 Met Glu Lys Val Asn Gln Ala Ala Ala Ser Val Lys Leu Leu His Gln
 980 985 990
 Asp Arg Asp Leu Gln Val Val Tyr Asp Gln Glu Gln Asn Val Trp Gly

 995 1000 1005
 Val Val Lys Tyr Thr Asp Thr Ala Tyr Lys Leu Thr Asp Asp Ile Thr
 1010 1015 1020
 Leu Thr Asp Ala Gly Leu Tyr Thr Ile Gln Lys Val Glu Gly Gly Tyr
 1025 1030 1035 1040
 Arg Ile Ala Phe Tyr Asn Pro Ser Thr Arg Thr Val Lys Asn Gly Ile
 1045 1050 1055
 Glu Leu Thr Lys Ala Gly Ser Ser Leu Thr Val Glu Met Glu Pro Thr

1060 1065 1070
 Ala Ala Tyr Pro Ser Thr Val Trp Lys Val Thr Met Pro Glu Gly Ser
 1075 1080 1085
 Asp Lys Gln Thr Gly Ser Val Glu Lys Thr Glu Lys Glu Glu Lys Gln
 1090 1095 1100
 Leu Lys Glu Asn Gln Pro Ser Ser Glu Val Lys Gln Val Val His His
 1105 1110 1115 1120
 Ala Ala Glu Lys Thr Lys Pro Ser Lys Pro Arg Leu Pro Gln Thr Gly

1125 1130 1135
 Glu Glu Ala Ser Leu Gly Leu Gly Phe Leu Gly Leu Leu Thr Leu Gly
 1140 1145 1150

Ala Val Val Asp Phe Lys Cys Arg Arg Ser His Ser
 1155 1160

<210> 95

<211> 1164

<212> PRT

<213> Streptococcus suis

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 95

Met Gly Phe Phe Ile Ser Gln Ser Lys Gln His Tyr Gly Ile Arg Lys
 1 5 10 15

Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
 20 25 30

Thr Arg Val Ala Ala Asn Gln Leu Pro Ser Thr Glu Thr Ala Ser Pro
 35 40 45

Gln Ser Ser Gln Leu Val Glu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val
 50 55 60

Met Thr Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu
 65 70 75 80

Thr Gln Pro Ser Ser Thr Thr Ala Glu Thr Leu Ala Ser Pro Gln Ala
 85 90 95

Val Gln Ala Thr Lys Glu Glu Lys Asn Leu Val Ala Asn Gly Glu Phe
100 105 110

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

Asn Trp Glu Thr Trp Ile Pro Ala Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Gln
130 135 140

Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr
145 150 155 160

Arg Val Ala Val His Gln Thr Val Asp Val Asp Pro Asn Lys Arg Tyr
165 170 175

Leu Phe Ser Tyr Asp Val Glu Thr Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val
180 185 190

Arg Val Arg Leu Arg Ser Leu Thr Ala Glu Gly Lys Asp Leu Ser Pro
195 200 205

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

Ile Glu Gln Ile Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr Arg Lys Leu Lys Val
225 230 235 240

Glu Leu Phe Phe Glu Asn Ser Val Gly Gln Ala Trp Leu Asp Asn Ile
245 250 255

Ser Leu Val Glu Tyr Val Glu Lys Thr Pro Glu Thr Pro Glu Gln Ser
260 265 270

Pro Glu Leu Val Gln Pro Glu Thr Gly Gln Ile Ser Leu Ala Ser Asn
275 280 285

Lys Val Tyr Leu Pro Val Arg Pro Asp Leu Thr Tyr Arg Ile Ala Asp
290 295 300

Ala Ala Val Ala Thr Val Glu Lys Asn Met Ile Arg Pro Leu Ala Ala
305 310 315 320

Gly Lys Thr Gln Val Asp Val Tyr Asp Lys Asp Thr Lys Leu Ser Ser
325 330 335

Phe Glu Leu Ile Val Thr Glu His Gln Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu

340 345 350
 Arg Asn Asn Trp Glu Asp Ile Ser Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Gln Ser
 355 360 365
 Asn Asp Ala Gln Met Lys Ala Phe Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val
 370 375 380
 Ala Ser Ser Leu Glu Lys Trp Val Glu Pro Thr Glu Gln Ser Lys Thr
 385 390 395 400

 Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser Lys Ser Ser His Leu Thr Thr Val
 405 410 415
 Tyr Arg Arg Leu Glu Gln Met Ala Gln Val Val Glu Asn Pro Asp Ser
 420 425 430
 Ala Tyr Tyr His Asp Arg Ser Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Gly Met
 435 440 445
 Asn Trp Leu Tyr Thr Asn Val Tyr Asn Glu Asn Lys Ser Ile Asp Gly
 450 455 460

 Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Arg Ala Val Val Asn Thr
 465 470 475 480
 Leu Ile Tyr Met His Pro Tyr Phe Ser Gln Glu Glu Ile Leu Thr Tyr
 485 490 495
 Thr Lys Pro Ile Ser Lys Phe Val Pro Asp Pro Thr Thr Ile Arg Lys
 500 505 510
 Thr Leu Thr Asn Pro Val Pro Ala Val Gly Gly Asn Gln Thr Asp Leu
 515 520 525

 Ser Lys Val Ala Ile Leu Glu Gly Ala Leu Arg Glu Asp Ala Asp Arg
 530 535 540
 Val Arg Ala Gly Ala Gln Gly Leu Thr Thr Ile Met Lys Phe Val Asp
 545 550 555 560
 Lys Gly Glu Gly Phe Tyr Arg Asp Gly Ser Phe Ile Asp His Thr Asn
 565 570 575
 Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Glu Gly Phe Ser
 580 585 590

Gln Leu Leu Pro Val Ile Gln Pro Thr Glu Phe Ala Leu Lys Glu Glu
595 600 605

Gln Thr Asn Ile Leu Tyr Glu Trp Ile Glu Lys Ala Phe Met Pro Ile
610 615 620

Leu Val Arg Gly Glu Leu Met Asp Met Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser
625 630 635 640

Arg Ala Thr Gly Glu Ser His Val Gln Ala Met Glu Ile Leu Arg Ser
645 650 655

Leu Val Arg Ile Ala Glu Ser Ala Gln Pro Glu Gln Lys Thr Lys Leu
660 665 670

Leu Ser Phe Val Lys Ala Gln Leu Thr Ser Asp Thr Phe Tyr Asp Ser
675 680 685

Tyr Arg Ser Leu Lys Ser Tyr Lys Asp Ile Asp Leu Val Asn Lys Leu
690 695 700

Leu Ala Asp Asn Gln Ile Pro Ala Glu Val Asp Lys Asp Tyr Ile Ala
705 710 715 720

Ala Phe Asn Asn Met Asp Lys Phe Val Tyr Arg Ser Ala Gln Glu Gly
725 730 735

Phe Thr Phe Ala Leu Ser Met Tyr Ser Ser Arg Thr Gln Asn Tyr Glu
740 745 750

Asp Met Asn Asn Glu Asn Arg Lys Gly Trp Tyr Thr Ala Asp Gly Met
755 760 765

Val Tyr Leu Tyr Asn Asp Asp Leu Ser His Tyr Ser Asn His Tyr Trp
770 775 780

Ala Thr Val Asp Pro Tyr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Thr Thr Lys Asp
785 790 795 800

Lys Arg Glu Asp Gly Ser Gly Glu Val Thr Leu Ala Ser Asp Phe Val
805 810 815

Gly Ala Ser Gln Leu Gly Asn Arg Leu Ala Thr Ile Ala Met Asp Phe
820 825 830

Asn Asn Trp Asn Asn Ser Leu Thr Ala Arg Lys Ala Trp Ile Val Leu

835	840	845
Gly Asn Lys Ile Val Phe Leu Gly Thr Asp Ile Gln His Gln Ser Ala		
850	855	860
Gln Gly Ala Glu Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Leu Leu Thr Gly Glu		
865	870	875
Lys Tyr Ser Tyr Tyr Ile Asn Gly Gln Pro Val Asp Leu Ser Lys Glu		
885	890	895
Val Val Thr Asp Lys Thr Gln Ser Phe Tyr Met Thr Asn Gly Lys Asp		
900	905	910
Asn Gln Ser Ile Gly Tyr Val Phe Leu Asn Gln Leu Pro Thr His Ala		
915	920	925
Lys Leu Asp Gln Arg Thr Gly Lys Trp Ser Asp Ile Asn Tyr Asn Gln		
930	935	940
Ser Lys Glu Glu Val Ser Asn Ser Phe Val Ser Leu Trp His Glu His		
945	950	955
Ala Gln Thr Ser Ser Asn Tyr Ala Tyr Val Leu Val Pro Asn Gln Ser		
965	970	975
Met Glu Lys Val Asn Gln Ala Ala Ala Ser Val Lys Leu Leu His Gln		
980	985	990
Asp Arg Asp Leu Gln Val Val Tyr Asp Gln Glu Gln Asn Val Trp Gly		
995	1000	1005
Val Val Lys Tyr Thr Asp Thr Ala Tyr Lys Leu Thr Asp Asp Ile Thr		
1010	1015	1020
Leu Thr Asp Ala Gly Leu Tyr Thr Ile Gln Lys Val Glu Gly Gly Tyr		
1025	1030	1035
Arg Ile Ala Phe Tyr Asn Pro Ser Thr Arg Thr Val Lys Asn Gly Ile		
1045	1050	1055
Glu Leu Thr Lys Ala Gly Ser Ser Leu Thr Val Glu Met Glu Pro Thr		
1060	1065	1070
Ala Ala Tyr Pro Ser Thr Val Trp Lys Val Thr Met Pro Glu Gly Ser		
1075	1080	1085

Asp Lys Gln Thr Gly Ser Val Glu Lys Thr Glu Lys Glu Glu Lys Gln
1090 1095 1100

Leu Lys Glu Asn Gln Pro Ser Ser Glu Val Lys Gln Val Val His His
1105 1110 1115 1120

Ala Ala Glu Lys Thr Lys Pro Ser Lys Pro Arg Leu Pro Gln Thr Gly
1125 1130 1135

Glu Glu Ala Ser Leu Gly Leu Gly Phe Leu Gly Leu Leu Thr Leu Gly
1140 1145 1150

Ala Val Val Asp Phe Lys Cys Arg Arg Ser His Ser
1155 1160

<210> 96

<211

> 802

<212> PRT

<213> *Vibrio fischeri* (strain ATCC 700601 / ES114)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 96

Met Tyr Met Ile Lys Lys His Arg Leu Asn Thr Ile Ala Leu Ser Met
1 5 10 15

Leu Phe Leu Phe Thr Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Lys Asn Thr Gln Thr
20 25 30

Pro Gln Tyr Leu Pro Ser Asp Phe Glu Gln Val Arg Glu Asn Trp Ala
35 40 45

Glu Asn Tyr Leu Gly Asp Pro Ala Ile Thr Phe Asp Gln Thr Leu Lys
50 55 60

Asn Met Val Thr Ser Thr Asn Ser Ser Ala Gln Lys His Trp Asp Ser
65 70 75 80

Met Thr Pro Gln Pro Asn Ala Ser Gly Ile Trp Asp Asp Leu Pro Leu
85 90 95

Ile Asp Lys Asp Thr Thr Leu Gly Pro Asn Ile Arg Asn Ser Tyr Gln
100 105 110

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

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

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

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

355	360	365
Asp Ser Asp Lys Asn Lys Gln Leu Ser Ser Leu Ile Lys Thr Gln Ile		
370	375	380
Thr Asp Asp Thr Tyr Gln Asn Phe Phe Asp Lys Ile Tyr Tyr Val Ser		
385	390	395
Thr Tyr Gln Ala Ala Gln His Ile Val Asn Asp Pro Thr Val Ser Leu		
405	410	415
Lys Asp Pro Leu Ile Gly Asn Phe Ser Tyr Pro Ser Met Asp Arg Ile		
420	425	430
Val His Arg Arg Thr Asp Trp Ala Phe Ala Leu Ala Met His Ser Tyr		
435	440	445
Arg Ile Gly Asn Tyr Glu Cys Met Asn Gly Glu Asn Leu Lys Gly Trp		
450	455	460
Phe Thr Gly Asp Gly Met Ile Tyr Leu Tyr Asn Asp Gln Leu Asp His		
465	470	475
Tyr Thr Gly Tyr Trp Pro Thr Val Asn Ala Ser Arg Met Pro Gly Thr		
485	490	495
Thr Val Asp Ser Gln Ile Met Ala Asp Cys Ser Gly Glu Arg Val Gly		
500	505	510
Gly Asn Val Asn Thr Asn Met Gln Trp Val Gly Ser Thr Ser Leu Asn		
515	520	525
Asn Tyr Gly Ile Ala Gly Met Gln Phe Tyr Asn Trp Ser Asp Thr Leu		
530	535	540
Ser Ala Tyr Lys Ser Trp Phe Met Phe Asp Asn Glu Val Val Met Leu		
545	550	555
Gly Ser Asn Ile Lys Asp Gln Ser Asn Ala Asn Asn Ile Thr Thr Ile		
565	570	575
Glu Asn Arg Lys Arg Leu Ala Glu Thr Lys Leu Phe Ile Asp Gly Thr		
580	585	590
Glu Gln Ala Ala Leu Pro Tyr Gln Gly Ala Pro Ala Thr Phe Ser Ile		
595	600	605

Arg Asn Lys Thr Leu Ala Asn Ser Asp Leu Ser Tyr Val Met Leu Thr
610 615 620

Pro Lys Thr Ile Ser Ile Ser Gln Asn Asp Val Asp Gly Asn Trp Ser
625 630 635 640

Asp Ile Gly Asn Ser Lys Gly Asp Val Ser Asp Ser Tyr Leu Gln Ala
645 650 655

Thr Leu Thr Gln Val Asp Gln Ala Asp Tyr Gln Tyr Ala Leu Leu Pro
660 665 670

Asn Gln Asn Asn Asp Thr Val Gln Asn Tyr Ala Gln His Pro Asp Val
675 680 685

Thr Val Leu Arg Gln Asp Glu Gln Ala His Ala Val Gln Glu Asn Thr
690 695 700

Leu Asn Ile Ile Ala Ala Asn Asn Trp Lys Asn Asn Pro Val Asn Ile
705 710 715 720

Thr Asp Thr Ile Thr Leu Asn Ser Met Met Gly Phe Met Ile Lys Glu
725 730 735

Glu Ser Ser Asn Thr Phe Thr Val Ala Val Ser Glu Pro Ile Gln Thr
740 745 750

Ile Asp Ser Val Asn Phe Thr Phe Asp Lys Gln Gly Ile Val Ile Lys
755 760 765

Glu Asp Ile Glu Asn Arg Val Val Leu Asn Gly Thr Thr Leu Thr Ile
770 775 780

Asn Thr Ser Gly Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Phe Gln Val Thr Ile
785 790 795 800

Gln Asp

<210> 97

<211> 517

<212> PRT

<213> Synechococcus sp. (strain RCC307)

<220>

<223> hyaluronan lyase

<400> 97

Met Gly Ala Pro Ala Ile Pro Lys Val Pro Arg Ser Pro Ser Lys Ser

1 5 10 15

Glu His Thr Thr Arg Pro Asn Ser Gly Glu Ser Glu Val Val Arg Gln

20 25 30

Ala Glu Glu Leu Phe Glu Gln Thr Leu Val Asn Val Arg Gly Gln Leu

35 40 45

Ala Gly Ala Val Ala Ala Leu Glu Ser Ser Val His Asp Ser Glu Leu

50 55 60

Asn Tyr Gly Glu Ile Phe Leu Arg Asp Asn Val Pro Val Met Val Tyr

65 70 75 80

Leu Leu Leu Arg Gly Arg Phe Glu Ile Val Arg His Phe Leu Asp Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Arg Ser Ile Gly Arg Ile Thr Ser Val Asp Ala Ser Leu Trp Trp Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Pro Ser Phe Tyr Glu Pro Pro Val Leu Phe Val Pro Asp Cys

180 185 190

Ala Phe Met Ile Asp Arg Pro Met Asp Val Trp Gly Ala Pro Leu Glu

195 200 205

Val Glu Val Leu Leu Phe Gly Cys Leu Lys Ser Cys Cys Gln Leu Met

210 215 220

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

225 230 235 240
 Leu Glu Leu Thr Arg Thr Trp Met Arg Asp Leu Arg Val Tyr Leu Leu
 245 250 255

 Asn His Tyr Trp Val Thr Ser Lys Thr Met Gln Val Leu Arg Arg Arg
 260 265 270
 Pro Thr Glu Gln Tyr Gly Asp Tyr Gln Ser Arg Asn Glu Phe Asn Val
 275 280 285
 Gln Pro Glu Val Ile Pro His Trp Leu Gln Glu Trp Leu Asp Asp Arg
 290 295 300
 Gly Gly Tyr Leu Ile Gly Asn Met Arg Thr Gly Arg Pro Asp Phe Arg
 305 310 315 320

 Phe Tyr Ser Leu Gly Asn Ala Leu Gly Ser Leu Phe Gly Leu Leu Thr
 325 330 335
 Gly Pro Gln Gln Leu Ala Leu Phe Arg Leu Val Ile His Asn Arg Gln
 340 345 350
 His Leu Met Ala Glu Met Pro Met Arg Ile Cys His Pro Pro Met Asp
 355 360 365
 Gln Asp Glu Trp Ile Thr Asn Thr Gly Met Asp Pro Lys Asn Trp Pro
 370 375 380

 Trp Ser Tyr His Asn Gly Gly His Trp Pro Ser Leu Leu Trp Pro Met
 385 390 395 400
 Ala Ala Ala Val Leu Met His Gln Arg Leu Tyr Pro Asn Asp Asp Leu
 405 410 415
 Leu Leu Leu Gly Gln Thr Arg Thr Met Leu Glu Glu Cys Tyr Trp Gln
 420 425 430
 Gln Leu Asn Gln Leu Pro Arg Gln Gln Trp Ala Glu Tyr Phe Asp Gly
 435 440 445

 Pro Thr Gly Thr Trp Val Gly Gln Gln Ala Arg Ile Asn Gln Thr Trp
 450 455 460
 Thr Ile Val Gly Phe Leu Leu Leu His His Leu Met Arg Lys Ala Pro
 465 470 475 480

Gln Asp Val Lys Leu Leu Asp Leu Asp Asp Val Gly Pro Leu Arg Leu
485 490 495
Ser Phe Gln Asp Gln His Glu Lys Ser Ser Thr Asp Glu Arg Lys Ser
500 505 510

Phe Leu Lys Asn Tyr
515

<210> 98

<211> 1021

<212> PRT

<213> *Proteus vulgaris*

<220>

<223> chondroitin-sulfate-ABC endolyase

<400> 98

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

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

Phe Trp Leu Tyr Asn Glu Lys Pro Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp
115 120 125
Phe Gly Glu Lys Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ala Gln Ala Gly Phe Lys
130 135 140
Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Trp Arg Ala Val Gly Val Ser Leu Asn

145	150	155	160
Asn Asp Leu Glu Asn Arg Glu Met Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser			
	165	170	175
Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val			
	180	185	190
Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Pro Ser Asn Val Ser Gln Gly Glu Ile			
	195	200	205
Tyr Ile Asp Arg Ile Met Phe Ser Val Asp Asp Ala Arg Tyr Gln Trp			
	210	215	220
Ser Asp Tyr Gln Val Lys Thr Arg Leu Ser Glu Pro Glu Ile Gln Phe			
225	230	235	240
His Asn Val Lys Pro Gln Leu Pro Val Thr Pro Glu Asn Leu Ala Ala			
	245	250	255
Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu Ile Asn Glu Phe Val Gly Gly Glu			
	260	265	270
Lys Glu Thr Asn Leu Ala Leu Glu Glu Asn Ile Ser Lys Leu Lys Ser			
	275	280	285
Asp Phe Asp Ala Leu Asn Ile His Thr Leu Ala Asn Gly Gly Thr Gln			
290	295	300	
Gly Arg His Leu Ile Thr Asp Lys Gln Ile Ile Ile Tyr Gln Pro Glu			
305	310	315	320
Asn Leu Asn Ser Gln Asp Lys Gln Leu Phe Asp Asn Tyr Val Ile Leu			
	325	330	335
Gly Asn Tyr Thr Thr Leu Met Phe Asn Ile Ser Arg Ala Tyr Val Leu			
	340	345	350
Glu Lys Asp Pro Thr Gln Lys Ala Gln Leu Lys Gln Met Tyr Leu Leu			
355	360	365	
Met Thr Lys His Leu Leu Asp Gln Gly Phe Val Lys Gly Ser Ala Leu			
	370	375	380
Val Thr Thr His His Trp Gly Tyr Ser Ser Arg Trp Trp Tyr Ile Ser			
385	390	395	400

Thr Leu Leu Met Ser Asp Ala Leu Lys Glu Ala Asn Leu Gln Thr Gln
405 410 415

Val Tyr Asp Ser Leu Leu Trp Tyr Ser Arg Glu Phe Lys Ser Ser Phe
420 425 430

Asp Met Lys Val Ser Ala Asp Ser Ser Asp Leu Asp Tyr Phe Asn Thr
435 440 445

Leu Ser Arg Gln His Leu Ala Leu Leu Leu Leu Glu Pro Asp Asp Gln
450 455 460

Lys Arg Ile Asn Leu Val Asn Thr Phe Ser His Tyr Ile Thr Gly Ala
465 470 475 480

Leu Thr Gln Val Pro Pro Gly Gly Lys Asp Gly Leu Arg Pro Asp Gly
485 490 495

Thr Ala Trp Arg His Glu Gly Asn Tyr Pro Gly Tyr Ser Phe Pro Ala
500 505 510

Phe Lys Asn Ala Ser Gln Leu Ile Tyr Leu Leu Arg Asp Thr Pro Phe
515 520 525

Ser Val Gly Glu Ser Gly Trp Asn Asn Leu Lys Lys Ala Met Val Ser
530 535 540

Ala Trp Ile Tyr Ser Asn Pro Glu Val Gly Leu Pro Leu Ala Gly Arg
545 550 555 560

His Pro Phe Asn Ser Pro Ser Leu Lys Ser Val Ala Gln Gly Tyr Tyr
565 570 575

Trp Leu Ala Met Ser Ala Lys Ser Ser Pro Asp Lys Thr Leu Ala Ser
580 585 590

Ile Tyr Leu Ala Ile Ser Asp Lys Thr Gln Asn Glu Ser Thr Ala Ile
595 600 605

Phe Gly Glu Thr Ile Thr Pro Ala Ser Leu Pro Gln Gly Phe Tyr Ala
610 615 620

Phe Asn Gly Gly Ala Phe Gly Ile His Arg Trp Gln Asp Lys Met Val
625 630 635 640

Thr Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Asn Val Trp Ser Ser Glu Ile Tyr Asn

645	650	655
Lys Asp Asn Arg Tyr Gly Arg Tyr Gln Ser His Gly Val Ala Gln Ile		
660	665	670
Val Ser Asn Gly Ser Gln Leu Ser Gln Gly Tyr Gln Gln Glu Gly Trp		
675	680	685
Asp Trp Asn Arg Met Glu Gly Ala Thr Thr Ile His Leu Pro Leu Lys		
690	695	700
Asp Leu Asp Ser Pro Lys Pro His Thr Leu Met Gln Arg Gly Glu Arg		
705	710	715
Gly Phe Ser Gly Thr Ser Ser Leu Glu Gly Gln Tyr Gly Met Met Ala		
725	730	735
Phe Asn Leu Ile Tyr Pro Ala Asn Leu Glu Arg Phe Asp Pro Asn Phe		
740	745	750
Thr Ala Lys Lys Ser Val Leu Ala Ala Asp Asn His Leu Ile Phe Ile		
755	760	765
Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr		
770	775	780
Leu Phe Gln His Ala Ile Thr Pro Thr Leu Asn Thr Leu Trp Ile Asn		
785	790	795
Gly Gln Lys Ile Glu Asn Met Pro Tyr Gln Thr Thr Leu Gln Gln Gly		
805	810	815
Asp Trp Leu Ile Asp Ser Asn Gly Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Gln Ala		
820	825	830
Glu Lys Val Asn Val Ser Arg Gln His Gln Val Ser Ala Glu Asn Lys		
835	840	845
Asn Arg Gln Pro Thr Glu Gly Asn Phe Ser Ser Ala Trp Ile Asp His		
850	855	860
Ser Thr Arg Pro Lys Asp Ala Ser Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp		
865	870	875
Ala Thr Pro Glu Lys Met Gly Glu Met Ala Gln Lys Phe Arg Glu Asn		
885	890	895

Asn Gly Leu Tyr Gln Val Leu Arg Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile
 900 905 910
 Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr Gly Tyr Ala Phe Tyr Gln Pro Ala
 915 920 925
 Ser Ile Glu Asp Lys Trp Ile Lys Lys Val Asn Lys Pro Ala Ile Val
 930 935 940

 Met Thr His Arg Gln Lys Asp Thr Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro
 945 950 955 960
 Asp Leu Asn Met Thr Arg Gln Lys Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asn
 965 970 975
 Val Thr Ile Asn Gly Lys Trp Gln Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val
 980 985 990
 Lys Tyr Gln Val Ser Gly Asp Asn Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr
 995 1000 1005

 Phe Gly Ile Pro Gln Glu Ile Lys Leu Ser Pro Leu Pro
 1010 1015 1020
 <210> 99
 <211> 684
 <212> PRT
 <213> Pedobacter heparinus
 <220>
 <223> chondroitin AC lyase
 <400> 99
 Pro Ala Leu Leu Ile Ala Gln Gln Thr Gly Thr Ala Glu Leu Ile Met
 1 5 10 15
 Lys Arg Val Met Leu Asp Leu Lys Lys Pro Leu Arg Asn Met Asp Lys
 20 25 30
 Val Ala Glu Lys Asn Leu Asn Thr Leu Gln Pro Asp Gly Ser Trp Lys
 35 40 45
 Asp Val Pro Tyr Lys Asp Asp Ala Met Thr Asn Trp Leu Pro Asn Asn
 50 55 60
 His Leu Leu Gln Leu Glu Thr Ile Ile Gln Ala Tyr Ile Glu Lys Asp

65 70 75 80
 Ser His Tyr Tyr Gly Asp Asp Lys Val Phe Asp Gln Ile Ser Lys Ala
 85 90 95
 Phe Lys Tyr Trp Tyr Asp Ser Asp Pro Lys Ser Arg Asn Trp Trp His

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

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

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

 290 295 300
 Asp Ala Ile Ala Arg Thr Asp Ser Thr Val Ala Ala Gly Tyr Lys Ile
 305 310 315 320

Glu Pro Tyr His His Gln Phe Trp Asn Gly Asp Tyr Val Gln His Leu
 325 330 335
 Arg Pro Ala Tyr Ser Phe Asn Val Arg Met Val Ser Lys Arg Thr Arg
 340 345 350
 Arg Ser Glu Ser Gly Asn Lys Glu Asn Leu Leu Gly Arg Tyr Leu Ser
 355 360 365
 Asp Gly Ala Thr Asn Ile Gln Leu Arg Gly Pro Glu Tyr Tyr Asn Ile
 370 375 380
 Met Pro Val Trp Glu Trp Asp Lys Ile Pro Gly Ile Thr Ser Arg Asp
 385 390 395 400
 Tyr Leu Thr Asp Arg Pro Leu Thr Lys Leu Trp Gly Glu Gln Gly Ser
 405 410 415
 Asn Asp Phe Ala Gly Gly Val Ser Asp Gly Val Tyr Gly Ala Ser Ala
 420 425 430
 Tyr Ala Leu Asp Tyr Asp Ser Leu Gln Ala Lys Lys Ala Trp Phe Phe
 435 440 445
 Phe Asp Lys Glu Ile Val Cys Leu Gly Ala Gly Ile Asn Ser Asn Ala
 450 455 460
 Pro Glu Asn Ile Thr Thr Thr Leu Asn Gln Ser Trp Leu Asn Gly Pro
 465 470 475 480
 Val Ile Ser Thr Ala Gly Lys Thr Gly Arg Gly Lys Ile Thr Thr Phe
 485 490 495
 Lys Ala Gln Gly Gln Phe Trp Leu Leu His Asp Ala Ile Gly Tyr Tyr
 500 505 510
 Phe Pro Glu Gly Ala Asn Leu Ser Leu Ser Thr Gln Ser Gln Lys Gly
 515 520 525
 Asn Trp Phe His Ile Asn Asn Ser His Ser Lys Asp Glu Val Ser Gly
 530 535 540
 Asp Val Phe Lys Leu Trp Ile Asn His Gly Ala Arg Pro Glu Asn Ala
 545 550 555 560
 Gln Tyr Ala Tyr Ile Val Leu Pro Gly Ile Asn Lys Pro Glu Glu Ile

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

 610 615 620
 Lys Pro Cys Ala Val Leu Ile Lys His Ile Asn Gly Lys Gln Val Ile
 625 630 635 640
 Trp Ala Ala Asp Pro Leu Gln Lys Glu Lys Thr Ala Val Leu Ser Ile
 645 650 655
 Arg Asp Leu Lys Thr Gly Lys Thr Asn Arg Val Lys Ile Asp Phe Pro
 660 665 670
 Gln Gln Glu Phe Ala Gly Ala Thr Val Glu Leu Lys

 675 680
 <210> 100
 <211> 844
 <212> PRT
 <213> Victivallis vadensis ATCC BAA-548
 <220>
 <223> chondroitin AC lyase
 <400> 100
 Met His Arg Lys Ile Val Phe Pro Leu Phe Val Leu Leu Phe Thr Ala
 1 5 10 15
 Phe Ala Ala Phe Ala Ala Ser Gln Pro Gln Trp Lys Trp Arg Gln Ser
 20 25 30
 Lys Tyr Cys Arg Ile Thr Glu His Ala Gly Lys Lys Leu Leu Thr Val
 35 40 45

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

Ile Arg Leu Arg Asn Ser Gly Ile Ser Arg Pro Asp Asn Leu His Asn
85 90 95

Gly Ile Lys Phe Gln Leu Tyr Phe Arg Asp Gly Asn Gly Thr Glu Arg
100 105 110

Trp Thr Gln Ala Glu Ile Pro His Glu Pro Phe Pro Trp Arg Arg Phe
115 120 125

Arg Phe Ser Glu Arg Ile Pro Ala Asp Ala Thr Ser Gly Thr Leu Arg
130 135 140

Leu Gly Leu Gln Gly Ser Ser Gly Asn Val Glu Phe Asp Leu Asp Ser
145 150 155 160

Leu Gln Ile Arg Pro Leu Asp Pro Glu Leu Ser Pro Val Pro Pro Thr
165 170 175

Pro Glu Gln Ile Arg Glu Cys Glu Leu Ile Glu Ser Arg Leu Arg Ala
180 185 190

Gly Leu Pro Ala Gln Gln Pro Pro Pro Gly Pro Glu Val Lys Lys Leu
195 200 205

Leu Glu Arg Gln Asn Gly Asp Gly Thr Phe Arg Asp Leu Asp Tyr Ser
210 215 220

Ala Arg Asn Arg Ser Ile Trp Pro Ala Ala Arg His Leu Lys Arg Thr
225 230 235 240

Phe Glu Leu Ala Leu Ala Arg Ala Thr Pro Gly His Ala Leu Tyr Arg
245 250 255

Asp Pro Ala Ala Gly Glu Ala Val Arg Lys Ala Val Ala Trp Trp Ala
260 265 270

Glu Arg Gln Pro Gln Asn Gly Asn Trp Trp Trp Asn Asp Met Tyr Val
275 280 285

Pro Lys Ile Leu Gly Asn Ile Leu Leu Leu Ser Pro Glu Leu Phe Pro
290 295 300

Asp Gly Pro Arg Arg Arg Ala Ala Leu Asn Val Cys Arg Gln Ala Cys
305 310 315 320

Phe Leu Ser Arg Tyr Thr Gly Asn Asn Arg Val Phe Ile Ala Ala Asn

325	330	335	
Ile Phe Cys Arg Ala Leu Leu Glu Arg Asn Leu Pro Val Met Asp Arg			
340	345	350	
Ala Ala Ala Val Leu Ser Glu Glu Ile Arg Phe Ala Pro Ala Glu His			
355	360	365	
Lys Thr Ala Trp Ser Phe Gly Gly Ile Arg Ala Asp Gly Cys Tyr His			
370	375	380	
Gln His Gly Pro Gln Ile Gln Phe Gly Asn Tyr Gly Gly Glu Phe Leu			
385	390	395	400
Ala Asn Ile Ala Tyr Trp Ser Asn Ile Leu Lys Glu Thr His Trp Glu			
405	410	415	
Leu Ser Pro Glu Gln Trp Arg Ile Met Arg His Leu Thr Phe Asn Gly			
420	425	430	
Phe Gln Trp Val Leu Trp Arg Gly Arg Met Asp Leu Leu Ala Cys Gly			
435	440	445	
Arg Gln Leu Gly Arg Asn Ala Ala Glu Thr Lys Gly Glu Arg Thr Leu			
450	455	460	
Asn Ala Phe Ala Gln Leu Arg Asn Ala Asp Pro Gly Asp Arg Ala Pro			
465	470	475	480
Tyr Asp Ala Ala Leu Arg Arg Asn Arg Asp Gly Glu Asn Thr Leu Thr			
485	490	495	
Gly Asn Arg His Phe Trp Asn Ser Asp Tyr Met Val His Arg Arg Pro			
500	505	510	
Thr Trp Tyr Ala Ser Val Arg Met Asn Ser Val Arg Val Arg Pro Ile			
515	520	525	
Glu Asp Asp Thr Asn Trp Asp Asn Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Ser Asp			
530	535	540	
Gly Ala Cys Leu Val Met Arg Ser Gly Arg Glu Tyr Glu Asn Ile Thr			
545	550	555	560
Ala Cys Trp Asp Trp Thr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Leu Pro Lys Thr			
565	570	575	

Pro Val Tyr Thr Gly Glu Asp Ala Arg Arg Phe Gly Leu Lys Ile Gly
580 585 590

Gly Gly Asp Leu Pro Arg Trp Thr His Ser Arg Asn Trp Arg Gln Leu
595 600 605

Gly Glu Thr Gly Phe Val Gly Gly Val Thr Asp Gly Glu Arg Gly Ala
610 615 620

Ala Val Tyr Thr Gln Asp Leu Asp Gly Val Arg Ala Arg Lys Ala Trp
625 630 635 640

Phe Phe Asp Arg Asp Ala Ile Tyr Cys Leu Gly Ser Gly Ile Thr Ser
645 650 655

Thr Ser Pro Tyr Glu Val Ala Thr Thr Val Asn Ser Cys Leu Arg Asn
660 665 670

Gly Glu Ile Gln Gln Gly Asp Gly Trp Phe Arg His Asp Gly Ile Gly
675 680 685

Tyr Arg Gly Glu Asn Leu Lys Leu Thr Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp
690 695 700

Trp Arg Tyr Val Glu Gly Gly Leu Thr Arg Pro Val Pro Glu Thr Lys
705 710 715 720

Glu Leu Phe Thr Leu Thr Val Glu His Gly Val Lys Pro Arg Asn Ala
725 730 735

Ser Tyr Ile Tyr Thr Ile Leu Pro Gly Ala Thr Pro Glu Glu Thr Ala
740 745 750

Gly Thr Pro Pro Gly Arg Val Leu Arg Asn Thr Pro Glu Cys Gln Ala
755 760 765

Val Glu Phe Ala Asp Gly Val Arg Ala Ala Ile Phe Tyr Glu Pro Gly
770 775 780

Arg Leu Asp Asp Phe Glu Thr Asp Thr Pro Gly Val Phe Leu Ile Gly
785 790 795 800

Lys Gly Thr Val His Ala Ala Asp Pro Thr Gly Arg His Ser Ser Phe
805 810 815

Thr Leu Lys Leu Asn Gly Val Ser Arg Lys Val Pro Leu Pro Ala Gly

820 825 830
Glu Phe Ala Gly Gln Ser Val Lys Ile Val Leu Lys
835 840
<210> 101
<211> 510
<212> PRT
<213> Pan troglodytes
<220>
<223> Chimpanzee PH20
<400> 101
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65 70 75 80
Ile Asn Val Thr Gly Gln Asp Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145 150 155 160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
165 170 175

Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile Arg Val
275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr Thr
290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Ser Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Asp
485 490 495
Leu Cys Asp Leu Tyr Leu Val Pro Thr Ser Tyr Leu Ile Leu
500 505 510

<210> 102

<211> 512

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<220>

<223> Precursor Rhesus Monkey PH20

<400> 102

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

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

Ile Asn Ile Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Leu Thr Thr Gly Val Thr Val His Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Val Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ser Lys
 115 120 125
 Gln Asp Ile Leu Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
 130 135 140

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

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

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

 Val Ile Trp Gly Ser Leu Ser Ile Thr Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Thr Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Asp Ile Arg Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val His Gly Lys Pro Thr Val Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys
420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Ser Leu Lys Pro Pro Val Glu Thr Glu Gly Ser Pro Pro
465 470 475 480
Ile Phe Tyr Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Ile
485 490 495
Trp Arg Leu Glu Val Trp Asp Gln Gly Ile Ser Arg Ile Gly Phe Phe
500 505 510

<210> 103

<211> 505

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-505

<400> 103

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
 50 55 60
 Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg

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

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

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

 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
 275 280 285
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
 305 310 315 320
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 465 470 475 480
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
 485 490 495
 Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser

500 505

<210> 104

<211> 503

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-503

<400> 104

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
 245 250 255

 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
 275 280 285
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
 290 295 300
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
 305 310 315 320

 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
 325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380

 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445

 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile

500

<210> 105

<211> 501

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-501

<400> 105

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
485 490 495
Ser Ile Leu Phe Leu
500
<210
> 106
<211> 499
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> PH20 precursor 1-499
<400> 106
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

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

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

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

 305 310 315 320
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
 325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 465 470 475 480
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
 485 490 495
 Ser Ile Leu

<210> 107

<211> 497

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-497

<400> 107

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

35 40 45
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

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

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

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

 245 250 255
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
 275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415

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

420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495

Ser

<210> 108

<211> 495

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-495

<400> 108

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

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

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

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

 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile
 485 490 495
 <210> 109
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> PH20 precursor 1-493
 <400> 109
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
 20 25 30
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
 35 40 45
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

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

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

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

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met

485 490

<210> 110

<211> 491

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-489

<400> 110

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

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

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala
485 490

<210> 111

<211> 489

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-489

<400> 111

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

 325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

 340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

 355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

 370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

 420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

 435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

 450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu

485

<210> 112

<211> 490

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-490

<400> 112

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1	5	10	15
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys			
	20	25	30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro			
	35	40	45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe			
	50	55	60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg			
65	70	75	80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu			
	85	90	95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly			
	100	105	110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys			
	115	120	125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val			
	130	135	140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro			
145	150	155	160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn			
	165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe			
	180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys			
	195	200	205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys			
	210	215	220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn			
225	230	235	240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser			
	245	250	255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
485 490

<210> 113

<211> 487

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-487

<400> 113

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415

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

420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser

485

<210> 114

<211> 485

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-485

<400> 114

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser

485

<210

> 115

<211> 484

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-484

<400> 115

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

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

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala

<210> 116

<211> 476

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-476

<400> 116

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

 325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu
 465 470 475
 <210> 117
 <211> 475
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 precursor 1-475
 <400> 117
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys

20	25	30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro		
35	40	45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe		
50	55	60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg		
65	70	75
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu		
85	90	95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly		
100	105	110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys		
115	120	125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val		
130	135	140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro		
145	150	155
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn		
165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe		
180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys		
195	200	205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys		
210	215	220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn		
225	230	235
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser		
245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val		
260	265	270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr
465 470 475

<210> 118

<211> 474

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-474

<400> 118

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415

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

420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu

465 470

<210> 119

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-473

<400> 119

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
165 170 175

Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
 210 215 220
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
 245 250 255
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
 260 265 270

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

 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400

 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met
465 470

<210> 120
<211> 472
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> PH20 precursor 1-472
<400> 120

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

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro

465 470

<210> 121

<211> 471

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-471

<400> 121

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg

65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro

465 470

<210> 122

<211> 470

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-470

<400> 122

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys

465 470
<210> 123

<211> 469
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<220>

<223> PH20 precursor 1-469
<400> 123

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

 325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

 340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

 355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

 370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

 420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

 435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

 450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu

465

<210> 124

<211> 468

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-468

<400> 124

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

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

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe

465

<210> 125

<211> 466

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-466

<400> 125

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg

65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp

465

<210> 126

<211> 465

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-465

<400> 126

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

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

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

 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
 370 375 380
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys

 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460

Ile

465

<210> 127

<211> 464

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-464

<400> 127

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg

65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460

<210> 128

<211> 462

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-462

<400> 128

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe		
180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys		
195	200	205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys		
210	215	220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn		
225	230	235
		240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser		
245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val		
260	265	270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val		
275	280	285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr		
290	295	300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu		
305	310	315
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile		
325	330	335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu		
340	345	350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn		
355	360	365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln		
370	375	380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu		
385	390	395
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr		
405	410	415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly
450 455 460

<210> 129
<211> 460
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> PH20 precursor 1-460
<400> 129

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

 405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala
 450 455 460
 <210> 130
 <211> 458
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 precursor 1-458

 <400> 130
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
 20 25 30
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
 35 40 45
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
 50 55 60

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

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

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys
450 455

<210> 131

<211> 456

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-456

<400> 131

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp

450 455

<210> 132

<211> 454

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-454

<400> 132

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala

450

<210> 133

<211> 452

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-452

<400> 133

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

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

20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

 325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

 340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

 355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

 370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

 420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

 435 440 445
Val Lys Asp Thr

450

<210> 134

<211> 450

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-450

<400> 134

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85

90

95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100

105

110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115

120

125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130

135

140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145

150

155

160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165

170

175

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

180

185

190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195

200

205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210

215

220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225

230

235

240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245

250

255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260

265

270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275

280

285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys

450

<210> 135

<211> 508

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-508

<400> 135

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

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

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495
Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser
500 505

<210> 136

<211> 506

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-506

<400> 136

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210	215	220	
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn			
225	230	235	240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser			
	245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val			
	260	265	270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val			
	275	280	285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr			
	290	295	300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu			
305	310	315	320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile			
	325	330	335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu			
	340	345	350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn			
	355	360	365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln			
	370	375	380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu			
385	390	395	400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr			
	405	410	415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys			
	420	425	430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp			
	435	440	445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys			
	450	455	460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val
500 505

<210> 137

<211> 504

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-504

<400> 137

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35 40 45

Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55 60

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

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335

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

340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser

500

<210> 138

<211> 502

<212> PRT

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$

<223> PH20 precursor 1-502

<400> 138

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495
Ser Ile Leu Phe Leu Ile

500

<210> 139

<211> 500

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-500

<400> 139

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495
Ser Ile Leu Phe

500

<210> 140

<211> 498

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-498

<400> 140

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290 295 300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305 310 315 320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
325 330 335

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

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

485 490 495

Ser Ile

<210> 141

<211> 496

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-496

<400> 141

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

 145 150 155 160
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

 165 170 175
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe

 180 185 190
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

 195 200 205
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

 210 215 220
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
 225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

 245 250 255
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

 275 280 285
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
 290 295 300
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
 305 310 315 320
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

 325 330 335
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

 340 345 350
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
 355 360 365
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

 370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
 385 390 395 400
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

405 410 415
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
 420 425 430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
 485 490 495

<210> 142

<211> 494

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-494

<400> 142

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1 5 10 15
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
 35 40 45
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

50 55 60

Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
 65 70 75 80
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85

90

95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100

105

110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115

120

125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130

135

140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145

150

155

160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165

170

175

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

180

185

190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195

200

205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210

215

220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225

230

235

240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245

250

255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260

265

270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275

280

285

Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290

295

300

Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305

310

315

320

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325

330

335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340 345 350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
355 360 365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415

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

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe
485 490

<210> 143

<211> 492

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-492

<400> 143

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

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

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405 410 415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr

485 490

<210> 144

<211> 488

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-488

<400> 144

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
 245 250 255
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
 260 265 270
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
 275 280 285
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
 290 295 300

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

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

 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 465 470 475 480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr

485

<210> 145

<211> 486

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 precursor 1-486

<400> 145

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn

225 230 235 240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser

245 250 255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val

260 265 270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val

275 280 285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

290 295 300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu

305 310 315 320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile

325 330 335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu

340 345 350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn

355 360 365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln

370 375 380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

385 390 395 400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr

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

420 425 430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp

435 440 445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

450 455 460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile

465 470 475 480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro

485

<210> 146

<211> 472

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> mature PH20 36-507

<400> 146

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala

465 470

<210> 147

<211> 470

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> mature PH20 36-505

<400> 147

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser

465 470
<210> 148

<211> 468
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<220>

<223> mature PH20 36-503
<400> 148

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

 325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

 340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

 355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

 370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

 420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

 435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

 450 455 460
Phe Leu Ile Ile

465

<210> 149

<211> 466

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> mature PH20 36-501

<400> 149

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

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

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
450 455 460
Phe Leu

465

<210> 150

<211> 464

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> mature PH20 36-499

<400> 150

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460

<210> 151

<211> 462

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-497

<400> 151

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

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

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

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

 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser
 450 455 460
 <210> 152
 <211> 460

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-495

<400> 152

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210

215

220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225

230

235

240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245

250

255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260

265

270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275

280

285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290

295

300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305

310

315

320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325

330

335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340

345

350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355

360

365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370

375

380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385

390

395

400

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

405

410

415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420

425

430

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

435

440

445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile

450				455				460							
<210> 153															
<211> 458															
<212> PRT															
<213> Homo sapiens															
<220>															
<223> PH20 36-493															
<400> 153															
Leu	Asn	Phe	Arg	Ala	Pro	Pro	Val	Ile	Pro	Asn	Val	Pro	Phe	Leu	Trp
1				5					10					15	
Ala	Trp	Asn	Ala	Pro	Ser	Glu	Phe	Cys	Leu	Gly	Lys	Phe	Asp	Glu	Pro
			20					25					30		
Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro	Arg	Ile	Asn	Ala
		35						40					45		
Thr	Gly	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu	Gly	Tyr	Tyr
	50					55					60				
Pro	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Gly	Ile	Pro
65					70					75				80	
Gln	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile
					85					90				95	
Thr	Phe	Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp
			100						105					110	
Glu	Glu	Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val
			115						120					125	
Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu
	130						135					140			
Ser	Leu	Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala
145					150						155				160
Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg
					165					170				175	
Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His

180	185	190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile		
195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235
240		
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
245	250	255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
260	265	270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
275	280	285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
290	295	300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp		
305	310	315
320		
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
325	330	335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
340	345	350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
355	360	365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
370	375	380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395
400		
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
405	410	415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala		
420	425	430

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

435

440

445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met

450

455

<210> 154

<211> 456

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-491

<400> 154

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1

5

10

15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20

25

30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35

40

45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50

55

60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65

70

75

80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85

90

95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100

105

110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115

120

125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130

135

140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145

150

155

160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala

450 455

<210> 155

<211> 454

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-489

<400> 155

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

 420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

 435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu

450

<210> 156

<211> 455

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-490

<400> 156

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

 20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

 35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

 50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

 85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

 100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser

450 455

<210> 157

<211> 452

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-487

<400> 157

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

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

435 440 445
Ala Ser Pro Ser

450
<210> 158
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<223> PH20 36-485
<400> 158

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

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

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser

450

<210> 159

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-484

<400> 159

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala

<210> 160

<211> 441

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-476

<400> 160

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu
 435 440

 <210> 161
 <211> 440
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 36-475
 <400> 161
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr
 435 440

<210> 162

<211> 439

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-474

<400> 162

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu
 435

<210> 163

<211> 438

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-473

<400> 163

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met
 435

<210> 164

<211> 437

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-472

<400> 164

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro
 435

<210> 165

<211> 436

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-471

<400> 165

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro
 435

<210> 166

<211> 435

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-470

<400> 166

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys
 435

<210> 167

<211> 434

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-469

<400> 167

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

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

<210> 168

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-468

<400> 168

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

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

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

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

<210> 169

<211> 431

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-466

<400> 169

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

Pro	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Gly	Ile	Pro
65				70				75				80			
Gln	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile
85				90				95							
Thr	Phe	Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp
100				105				110							
Glu	Glu	Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val
115				120				125							
Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu
130				135				140							
Ser	Leu	Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala
145				150				155				160			
Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg
165				170				175							
Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His
180				185				190							
His	Tyr	Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile
195				200				205							
Lys	Arg	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu
210				215				220							
Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr
225				230				235				240			
Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile
245				250				255							
Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val
260				265				270							
Phe	Thr	Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr
275				280				285							
Thr	Phe	Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp
290				295				300							
Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Ser	Cys	Leu	Leu	Leu	Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp
 420 425 430
 <210> 170
 <211> 430
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> PH20 36-465
 <400> 170
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile
420 425 430

<210> 171

<211> 429

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-464

<400> 171

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys

420 425

<210> 172

<211> 427

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-462

<400> 172

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100	105	110	
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val			
115	120	125	
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu			
130	135	140	
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala			
145	150	155	160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg			
165	170	175	
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His			
180	185	190	
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile			
195	200	205	
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu			
210	215	220	
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr			
225	230	235	240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile			
245	250	255	
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val			
260	265	270	
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr			
275	280	285	
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp			
290	295	300	
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp			
305	310	315	320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu			
325	330	335	
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys			
340	345	350	

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly
420 425

<210> 173

<211> 425

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-460

<400> 173

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

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

<210> 174

<211> 423

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-458

<400> 174

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

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

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

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys

420

<210> 175

<211> 421

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-456

<400> 175

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp

 420

<210> 176

<211> 419

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-454

<400> 176

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Asp Ala

<210> 177

<211> 417

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-452

<400> 177

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr

<210> 178

<211> 415

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-450

<400> 178

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys
405 410 415

<210> 179

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-508

<400> 179

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430

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

435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460

Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser

465 470

<210> 180

<211> 471

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-506

<400> 180

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg

165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430

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

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val

465 470

<210> 181

<211> 469

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-504

<400> 181

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400

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

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser

465

<210> 182

<211> 467

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-502

<400> 182

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe Leu Ile

465

<210> 183

<211> 465

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-500

<400> 183

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu

450 455 460
Phe

465

<210> 184

<211> 463

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-498

<400> 184

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile
 450 455 460

<210> 185

<211> 461

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-496

<400> 185

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

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50

55

60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65

70

75

80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85

90

95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100

105

110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115

120

125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130

135

140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145

150

155

160

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

165

170

175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180

185

190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195

200

205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210

215

220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225

230

235

240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245

250

255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260

265

270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275

280

285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val

450 455 460

<210> 186

<211> 459

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-494

<400> 186

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20	25	30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala		
35	40	45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr		
50	55	60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro		
65	70	75
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile		
85	90	95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp		
100	105	110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val		
115	120	125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu		
130	135	140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala		
145	150	155
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg		
165	170	175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His		
180	185	190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile		
195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
245	250	255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
260	265	270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
 305 310 315 320

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe
 450 455

<210> 187

<211> 457

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-492

<400> 187

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg

165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr

450 455

<210> 188

<211> 453

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-488

<400> 188

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

260 265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr

450

<210> 189

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-486

<400> 189

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr

 225 230 235 240
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

 245 250 255
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val

 260 265 270
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr

 275 280 285
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

 290 295 300
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
 305 310 315 320
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

 325 330 335
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn

 435 440 445
 Ala Ser Pro
 450

<210> 190

<211> 2105

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<223> PH20 DNA

<400> 190

ggttttatctc tgttcttggg gaggagacag acagaattga ctgctgtgct catccgcgag 60
ggtaaatgtg ctcagctctt tatggagtag tggagacggg cagagatgac aagatgaagc 120
aacttgcaaa acattcctaa atacgaagga agaagaatat ttaaatgtaa atcatcatta 180

ttcattttta tccatcaaag tggcttcatt ctgtgttcat atcttgcac aaatattagg 240
tacaccaaag cggttaggag aaaaaagtgc cttcacagt catcgctctt tgtgatgaga 300
atgctgaggc gccacatat ctcttttcgg agctttgctg ggtctagcgg aacaccccag 360
gcagtgttca ctttctctt gcttcctgtg tgtttggctc tggacttcag agcaccacct 420
cttatttcaa acatttctt cctctgggcc tggaaatgcc cagttgaacg ttgtgttaac 480
agaagatttc aactacctc agatctgaga ctcttctctg taaaaggaag cccccagaaa 540
agtgtctacc gacaatttat tacattatit tatgctgata gacttggcta ctatctcat 600
atagatgaaa aaacaggcaa aaccgtattc ggaggaattc ccagttggg aaacttaaaa 660

agtcatatgg agaaagcaaa aaatgacatt gcctattaca taccaaatga cagcgtgggc 720
ttggcggta ttgactggga aaactggagg cctacctggg caagaaactg gaaacctaaa 780
gatgtttaca gggatgagtc agttgagttg gttctgcaaa aaaatccga actcagtttc 840
ccagaggctt ccaagattgc aaaagtggat tttagacag caggaaagag ttatcatgca 900
gagactttaa aactgggaaa attacttcgg ccaaatcact tatggggtta ttatctttt 960
cctgattgtt acaatcataa tcataacca cctacttaca atggaaattg ccctgatgta 1020
gaaaaaagga gaaatgatga tctcgagtgg ttgtggaagg aaagcactgc cttttccct 1080
tctgtttatt tgaatatcag gttaaaatct actcaaatg ctgccttgta tgttcgtaat 1140

cggtgccagg aagccattcg gttgtctaaa atagcgagtg tcgaaagtcc acttccggtt 1200
tttgtatatg cccgtccagt tttactgat gggctttcaa catactttc tcagggtgac 1260
cttgtgaatt cggttgggtg gatcgtttct ctaggcct ctgggattat aatgtggggc 1320
agtctcaatc taagcttate tatgcaatct tgcataacc taggcactta ctgaaact 1380
acactgaatc cttacataat caacgtcacc ctacccgcca aaatgtgcag ccaagtgcct 1440
tgccacaatg aaggagtgtg tacaaggaag cactggaatt caagcgacta tcttcacctg 1500

aacccaatga attttgctat tcaaactggg gaaggtggaa aatacacagt acctgggaca 1560
gtcacacttg aagacttgca aaagttttct gatacathtt attgcagttg ttatgccaac 1620

atccactgta agaagagagt tgatataaaa aatgttcata gtgttaacgt gtgtatggca 1680
gaagacattt gtatagacag ccctgtgaag ttacaacca gtgatcattc ctccagccag 1740
gaggcatcta ctaccacctt cagcagtatc tcaccctcca ctacaactgc cacagtatct 1800
ccatgtactc ctgagaaaca ctcccctgag tgcctcaaag tcaggtgttc ggaagtcac 1860
cccaactgca cccaaaaggc gtgtcaaagt gttaaattga agaacatttc ctatcagtca 1920
cctattcaaa atattaaaaa tcaacaacc tattaaaatt aaattcagta aaaaaaaaaa 1980
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2040
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaa 2105

<210> 191

<211> 1971

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<223> Hyal1 DNA

<400> 191

tgtgtgcgcc tgttgccaga cttaaggaac agaattctgc tgatgcctgc acagccctc 60
gccctggggt caggaagttt ggagaatgag gcctttcagc cttgaggttt ccctacacct 120
gccctgggct atggcagccc acttgcttcc tgtctgcacc ctgttcctga acttgctcag 180
catgacccaa ggctcccggt accctgtggt ccccaaccag cccttacta ccatctggaa 240
tgccaacacc gagtgggtga tgaagaaaca cggcgtggac gtagacatca gtatctttga 300

tgtgtgacc aaccggggc agaccttccg cgccctaac atgaccattt tctacagctc 360
ccagctgggt acctacctt actatacatc tgttggggag cctgtgtttg gtggcctgcc 420
ccagaatgcc agcctgaatg cccacctggc ccgcacattc caggacatcc tggctgcat 480
gcctgagcct cgcttctcag ggctggcagt cattgactgg gagcatggc gcccgctg 540
ggccttcaac tgggacacca aggacattta ccggcagcgc tcacgggcat tggtagagaa 600
gcagcaccca gactggctag ctctcgggt ggaggccgca gctcaggacc agttcagagg 660
ggctgcagag gagtggatgg caggcacct caagctggga caagcactgc gccctcaggg 720
cctctggggc ttctataatt tccctgagtg ctacaactat gactttaaaa gtcccaacta 780

tacaggccgg tgcactaa acatctgtgc ccagaatgac cagctcgggt ggctgtgggg 840
ccagagccgt gccctctacc ccagcatcta cctgcctgca gcactggagg gcacgaagaa 900
gacacagatg ttctgtcagc accgtgtggc tgaggcattc cgtgtggcag cgggtgcggg 960
ggaccccaag ctgccgggtgc tgccctacat gcagctcttc tacgacatga ctaaccactt 1020
tctgcccgcg gaggagctgg agcacagcct gggggagagt gcagcccagg gtgcagcggg 1080
agtgggtgctc tgggtgagct ggctgagcac aagcaccaag gaatcatgcc aggccatcaa 1140
ggagtatgtg gacacgacgc tgggacccct catcctgaat gtgaccagcg gggctcgtct 1200
gtgcagtcag gtcctatgct ccggccatgg ccgttgtgcc cggcgcccca gttaccccaa 1260

ggccccctc atcctcaact ccaccagttt ttccatcaag cctacacctg gtgggtgggc 1320
cctgacccta caaggtgccc tctcgtcga ggatcggttg cggatggcag tggagttcga 1380
atgtcgtgc taccgtgggt ggagggggac acggtgtgag cagtggggca tgtggtgatt 1440
ggcatgggca cgactgagt acctgatgca agctgggcct ggctaggtag ggctttccca 1500
agtcaggca gtcacaggag tcatggttac agtcagaagt ccactcagcc agtgtcatga 1560
gcataacca gtgtgcacac ctgcttacag accaagatag ctgcataagg acacggtgtg 1620
agcagtgggg catatgctga ttggcatggg cacacactga gtacctgatg caatctgggc 1680
ctggctaggg ctttcccaag tccaggcagt cacaggagtc atggttaggc atccagtcac 1740

aggagtcag tcaggcatcc tgccgacaga gtcaaaaata cttcctctgg agacactgag 1800
tcagtcttca aacagaagca gtcacaagca ctgacattcg ggacttcct ggccatccag 1860
tggttaagac acggagcttc cactgcaggg ggcacgggca gagactaaga tcacgaatgc 1920
taagcgggtgc ggtaaaaca ataacaata aataaactga cattcactgg g 1971

<210> 192

<211> 1912

<212> DNA

<213> Bos taurus

<220>

<223> Hyal2 DNA

<400> 192

caagtgcgcg gcgggctgcc caaagggcag gagctggcgc gaatagcttg gctagagact 60
taccgccgga aggaggagg ccgccgacct actgggccga cggactcca cacagttcct 120

gagctggtgc ctggcaggtg aactgactt cctgcagccc ccagcatgtg gacaggcctg 180
ggccccgcg tcacactggc cctggtgttg gtggtggcat gggccacgga gctgaagccc 240
acagcaccac ccatcttcac gggccggccc tttgtggtcg catgggatgt gccacacag 300

gactgtggcc cgcgccacaa gatgccattg gacccaaagg acatgaaggc cttt gatgtt 360
caggcttcac ctaacgaggg tttt gtaa at cagaacatca ccatcttcta ccgtgaccgg 420
ctgggcatgt atccacactt caattcgggtg gggaggtcag tacatggtgg tgtgccacag 480
aatggcagcc tctgggtaca cctggagatg ctgaaggac acgtggaaca ctacattcgt 540
acacaggagc ctgcagggtt ggcagtcac gactgggagg actggcgcc agtgtgggtg 600

cgcaactggc aggacaagga tgtgtaccgc cgattatcac gccatttggg agccattcgc 660
caccctgatt ggccaccaga gcgcgtagcc aaggaggcgc agtatgagtt tgagttcgt 720
gcacggcagt tcatgctgga gacattgcga tttgtcaagg cgtttcggcc tcggcaccta 780
tggggcttct acctcttccc tgactgttac aaccatgatt atgtgcagaa ctgggagacc 840
tatacaggcc gctgccctga tgttgaggtc tcccgaatg accagctggc ctggctctgg 900
gccgagagca cggccctctt cccctctgtc tacttggaag agacactggc ttcctccact 960
cacggccgca actttgtcag ctttcgtgtc caggaggctc ttcgcgtggc tgacgtccac 1020
catgccaacc atgcactccc cgtctacgtc ttcacaggc ccacatatag ccgtggactc 1080

acagggttta gcgagatgga tctcatctcc accattgggtg agagtgtgc cctgggtgca 1140
gctggcgta tctctgtggg tgacgcaggg tttaccacca gcaacgagac ctgccgacgc 1200
ctcaaggatt atctgactcg gtcattggtg ccctatgtcg tcaatgtgtc ctgggctgcc 1260
cagtactgca gctggggcca gtgccatggc catgggcgt gtgtgcgcc ggacccaac 1320
gctcacacct tctgcacct cagtgccagc agcttccgtc tagtgccatg ccacgcacct 1380
gatgagccgc ggctgcgacc agagggggaa ctcagttggg ccgaccgca ccacctacag 1440
atgcactttc gctgccagtg ctacttaggc tggggcggtg agcaatgcca gtgggaccgc 1500
aggcgggcag ctgggggtgc cagtggggcc tgggctgggt cccacctcac tggcctgctg 1560

gcagtggcag tcttggcctt cacctagact ttgtaagggt ctctcacca gctgccacgc 1620
cagctggcct ctgccacaag gggctctgtc ggcatgtagg agcctgcaag ggggtggaca 1680
accagagtct ggaggggcag agccctctgg gatgcctggt aggatgtcct taccagctcc 1740
caccctctgt tctaaggggg aggggcagtc ccttggagg cccgtctct ccttgcaga 1800
gaggaagagg ggcacagctg ggccggggag gacctgacc tactccctg cccctggata 1860
gtttattatt attatttgg ggtctctttt gtaaatataa tataaaacaa ct 1912

<210> 193

<211> 1537

<212> DNA

<213> Ovis aries

<220>

<223> Hyal2 DNA

<400> 193

```

gcaaatgaca ctgacttcct gcagccccc gcatgtggac aggcctgggc cccgccgtea 60
cactggccct ggtgttgggt gtggcatggg ccacagagct gaagcccaca gcaccaccca 120
tcttcacggg cgggcccttt gtggttgcac gggatgtgcc cacacaggac tgtggccccc 180
gccacaagat gccattggac ccaaaggaca tgaaggcctt tgatgtgcag gcctcaccta 240
acgaggggtt tgtaaatacag aacatcacca tcttctaccg tgaccggctg ggcatgtatc 300
cacacttcaa ctcggtgggg aggtcagtc atggtgtgtt gccacagaat ggcagcctct 360
gggtacacct ggagatgctg aaggacacg tggaacacta cattcgtaca caggagcctg 420

cagggtggc agtcacgcac tgggaggact ggcggccagt gtgggtgcgc aactggcagg 480
acaaggatgt gtaccgccga ttatcacgcc agttgggtggc cagtaccac cccgattggc 540
caccagagcg catagtcaag gaggcgcagt atgagtttga gttcgtctga cggcagttca 600
tgctggagac actgcgattt gtcaaggcgt ttcggcctcg gcacctatgg ggcttctacc 660
tcttccctga ctgttacaac catgattatg tgcaaaactg ggagacctat acaggccgct 720
gccctgatgt tgaggtctcc cgaaatgacc agctgtcctg gctctgggcc gagagcacag 780
ccctcttccc ctctgtctac ctggaagaga cgttggttc ctcactcac ggccgcaact 840
ttgtcagctt tcgtgtccag gaggtcttc gcgtggctga cgtccacat gccaaccatg 900

cactcccagt ctacgtcttc acgaggccca cctacagccg tggactcaca gggcttagcg 960
agatggatct catctccacc attggtgaga gtgctgccct ggggtgcagcc ggcgtcatcc 1020
tctggggtga cgaggggttt accaccagca acgagacctg ccgacgcctc aaggattatc 1080
tgactcggtc actggtaccc tatgtctca atgtgtcctg ggctgccag tactgcagct 1140
gggcccagtg ccatggccat gggcgtgtg tgcgccggga cccaacgct cacaccttc 1200
tgcacctcag tgccagcagc ttccgtctag tgcctagcca cgcacctgat gagccgcggc 1260
tgcgaccaga gggggagctc agttgggccc accgcaacca cctacagacg cactttcgt 1320
gccagtgcct cttaggctgg ggcgtgagc agtgccagtg ggaccgcagg cgggcagctg 1380

ggggtgccag tggggcctgg gctgggtccc acctactgg cctgttgga gtggcagtc 1440
tgaccttcac ctggacttg taagggtctc acccagctgc caggccagct ggctctgcc 1500
acaaggggtc tgccaggcat gtagcagccc acaaggg
1537

```

<210> 194

<211> 1967

<212> DNA

<213> Ovis aries

<220>

<223> Hyaluronidase DNA

<400> 194

```

actcctgttt atctctgttc ttggtgagga gacagacaga attgactgct gtgctcatcc 60
accaggttac agatgaagca acttgcaaaa caticctaaa tacgaaggaa gaagagtatt 120
taaacgtaaa tcatacattat tcatttttat ccatcaaagt agcttcattc tgtgttccta 180

tcttgcatca aatattaggt aaaccaaagt gtgtaggaga aaaaagtgct ttcatagtc 240
atcgctcttt gtgaagagaa tgctaaggcg ccgcatatc tccittagga gctttgttgg 300
ggccagtggg acaccccagg cggcgctcgc ctccctctg ctccatgtt ggttggtctc 360
ggacttcaga gcaccccctc ttatttcaaa cacttcttcc ctctgggcct ggaatgcccc 420
agctgaacgt tigtgttaaaa tctttaaaact acctccagat ctgagactct tctctgtaaa 480
aggaagcccc caaaaaagtg ctacgggaca atttattaca ttattttatg ctgatatagact 540
tggtactat ctcataatag atgaaaaaac aggcaacacc gtatatggag gaattcccca 600
gttgggaaac ttaaaaaatc atttgaaaa agccaaaaaa gacattgcct attatatacc 660

aatgacagc gtgggcttgg cggtcattga ctgggaaaac tggaggccta cctgggcaag 720
aaactggaaa cctaagatg ttacaggga tgagtctgtt gatttggttc tgcaaaaaaa 780
tccacaactc agtttccag aggcttcaa gattgcaaaa gtggattttg agacagcagg 840
aaagagtttc atgcaagaga ctttaaaact gggaaaatta ctccggccaa atcacttatg 900
gggttattat ctttttctg attgttacia tcataattat aaccagccta cttacaatgg 960
aaattgctct gatttagaaa aaaggagaaa tgatgatctc gactggttgt ggaaggaaag 1020
cactgccctt ttccctctg tttatttgaa tatcaagtta aaatctactc caaaagctgc 1080
cttctatgtt cgtaatcgtg tccaggaagc cattcggttg tctaaaatag cgagtgttga 1140

aagtccactt ccggtttttg tataccaccg tccagttttt actgatgggt cttcaacata 1200
cctttctcag ggtgacctg tgaattcggg ttgtgagatc gttgctctag gtgcctctgg 1260
gattataatg tggggcagtc tcaatctaag cctaactatg caatcttgca tgaacctagg 1320
caattacttg aacactacac tgaatcctta cataatcaac gtcaccctag cagccaaaat 1380
gtgcagccaa gtgctttgcc acgatgaagg agtgtgtaca aggaacaat ggaattcaag 1440
cgactatctt cacctgaacc caatgaattt tgctattcaa actgggaaag gtggaaaata 1500
cacagtacct gggaaagtca cacttgaaga cctgcaaacg ttttctgata aattttattg 1560
cagttgttat gccaacatca actgtaagaa gagagttgat ataaaaaatg ttcatatgtg 1620

```

taatgtatgt atggcagaag acatttgtat agagggccct gtgaagttac aaccacagta 1680
 tcattcctct agccagaatg aggcacacac taccaccgtc agcagtatct caccctctac 1740
 tacagccacc acagtatctc catgtactcc tgagaaacag tcccctgagt gcctcaaagt 1800
 caggtgtttg gaagccatcg ccaacgtcac ccaaacgggg tgtcaagggt ttaaattgaa 1860
 gaacacttcc agtcagtcaa gtattcaaaa tattaaaaat caaacaacct attaaaatat 1920
 aaattcagtg cttattaaga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 1967

<210> 195

<211> 2116

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS1

<400> 195

cggagagaag agagagcccc gccagacca ctgcgatgag acagcaggac gcgccaagc 60
 ccaactcctgc agcctgccgc tgctccggcc tggcccgag ggtgctgacc atcgcttctg 120
 ccctgctcat cctgggcctc atgacctggg cctacgccgc cggggtgccg ctggcctccg 180
 atcgctacgg cctcctggcc ttccggcctct acggggcctt cctttcagcg cacctggtgg 240
 cgcagagcct cticgcgtac ctggagcacc ggccgggtggc ggccggcgcg cggggggccg 300
 tggatgcagc caccgcgcgc agtgtggcgc tgacctctc cgcctaccag gaggaccccg 360
 cgtacctgcg ccagtgcctg gcgtccgcc gcgccctgct gtaccgcgc gcgcggctgc 420

gcgtcctcat ggtggtggat ggcaaccgcg ccgaggacct ctacatggtc gacatgttcc 480
 gcgaggtctt cgctgacgag gaccccgcca cgtacgtgtg ggacggcaac taccaccagc 540
 cctgggaacc cgcggcgccg ggccgggtgg gcgccggagc ctatcgggag gtggaggcgg 600
 aggatcctgg gcggctggca gtggaggcgc tggtagggac tcgcaggtgc gtgtgcgtgg 660
 cgcagcgtg gggcggcaag cgcgaggtca tftacacagc cttcaaggcg ctcggagatt 720
 cgggtggacta cgtgcaggtc tgtgactcgg acacaagggt ggaccccatg gcactgctgg 780
 agctcgtgcg ggtactggac gaggaccccc gggtaggggc tgttgggtgg gacgtgcgga 840
 tccttaacc cctggactcc tgggtcagct tcctaagcag cctgcgatac tgggtagcct 900

tcaatgtgga gcgggcttgt cagagctact tccactgtgt atcctgcac agcggctctc 960
 taggcctata taggaataac ctcttgacgc agtttcttga ggccctgtac aaccagaagt 1020
 tcctgggtac ccaactgtact tttggggatg accggcacct caccaaccgc atgctcagca 1080
 tgggttatgc taccaagtac acctccaggt cccgtgcta ctcagagacg ccctcgtcct 1140

tcctgcggtg gctgagccag cagacacgct ggtccaagtc gtacttccgt gagtggctgt 1200
acaacgcgct ctggtggcac cggcaccatg cgtggatgac ctacgaggcg gtggtctccg 1260
gcctgttccc cttcttcgtg gcggccactg tgtgcgtct gttctacgcg ggccgccctt 1320
gggcgctgct gtgggtgctg ctgtgcgtgc agggcggtggc actggccaag gcggccttcg 1380

cggcctggct gcggggctgc ctgcgcatgg tgcttctgtc gctctacgcg cccctctaca 1440
tgtgtggcct cctgcctgcc aagtctctgg cgctagtcac catgaaccag agtggctggg 1500
gcacctcggg ccggcggaag ctggccgcta actacgtccc tctgctgccc ctggcgctct 1560
gggcgctgct gctgcttggg ggcctggtcc gcagcgtagc acacgaggcc agggccgact 1620
ggagcggccc ttcccgcga gccgaggcct accacttggc cgcgggggcc ggcgcctacg 1680
tgggctactg ggiggccatg ttgacgctgt actgggtggg cgtgcggagg ctttgccggc 1740
ggcggaccgg gggtaccgc gtccaggtgt gattccagcc acgcggatgc cgcctcaagg 1800
gtcttcaggg gaggccagag gagagctgct gggccccgag ccacgaactt gctgggtggt 1860

tctctgggcc tcagtttccc tctctgcaa aacgaggggg tcagcccaag attcttcagt 1920
ctggactata ttgggactgg gacttctggg tctccagga gggtatttat tggtcagggt 1980
gtgggatctg aggagtggag ggaaagggtc ctgctttctc ctcgttctta tttaatctcc 2040
atttctactg tgtgatcagg atgtaataaa gaattttatt tttttcaaa aaaaaaaaaa 2100
aaaaaaaaa aaaaaa 2116

<210> 196

<211> 3275

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS2

<400> 196

gaagtcaaga cgtctggaag gaattacca gtcttggtt cgagcagccc attgaaccag 60

agacttgaaa cagccccagc caaagacttt tctccaatt ctgcgttcc tgggttctgc 120
tgagtcttcc acaggctttt tttttttttt ttttttttt taagacgaaa aagagatttt 180
ctgttatcgg gggcagaaag actgaagccc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aagaaaagaa 240
aagaaaaag aaaagttaat ttatttttaa agcataattt ttttaagaat tagactgaag 300
tgcaacggaa acataaagag aatattagt aaattatttt ttaaagtggg gaagaatcaa 360
acatttaaga ctcccctatc ctttttaaat gttgttttta aatttcttat ttttttggc 420
cggctgtctc aaattcatct gatctcttat tacctcaatt ttggaaactg cccgccaccg 480

accctccggg accacacaga caggctgagg acgactttat gaccaagagc tgaacaagat 540

gcattgtgag aggtttctat gtatcctgag aataattgga accacactct ttggagtctc 600

tctectcctt ggaatcacag ctgcttata ttttggtac cagtttatcc aaacggataa 660

ttactatttc tcttttgac tgtatggtgc ctttttgca tcacacctca tcatccaaag 720

cctgtttgcc tttttggagc accgaaaaat gaaaaaatcc ctagaaccc ccataaagtt 780

gaacaaaaca gttgcccttt gcatcgctgc ctatcaagaa gatccagact acttaaggaa 840

atgtttgcaa tctgtgaaaa ggctaacctt cctgggatt aaagttgtca tggatcataga 900

tgggaactca gaagatgacc tttacatgat ggacatcttc agtgaagtca tgggcagaga 960

caaatcagcc acttatactt ggaagaacaa cttccacgaa aagggtcccg gtgagacaga 1020

tgagtcacat aaagaaagct cgcaacacgt aacgcaattg gtcttgtcca acaaagtat 1080

ctgcatcatg caaaaatggg gtggaaaaag agaagtcattg tacacagcct tcagagcact 1140

gggacgaagt gtggattatg tacaggtttg tgattcagac actatgcttg acccagcctc 1200

atctgtggag atggtaaaag ttttagaaga agatcccatg gttggaggtg ttgggggaga 1260

tgtccagatt ttaacaagt acgattcctg gatctcattc ctcagcagtg taagatattg 1320

gatggctttt aatatagaaa gggcctgtca gtcttatttt ggggtgtgtc agtgcattag 1380

tggacctctg ggaatgtaca gaaactcctt gttgcatgag tttgtggaag attggtacaa 1440

tcaagaattt atgggcaacc aatgtagctt tggatgatgac aggcattctc cgaaccgggt 1500

gctgagcctg ggctatgcaa caaaatacac agctcgatct aagtgcctta ctgaaacacc 1560

tatagaatat ctcatatgac taaaccagca gaccggttg agcaagtcct acttccgaga 1620

atggctgtac aatgcaatgt gggttcacaa acatcacttg tggatgacct acgaagcgat 1680

tatcactgga ttttttctt tcttttctat tgccacagta atccagctct tctaccgggg 1740

taaaatttgg aacattctcc tcttttgtt aactgtccag ctagtaggtc tcataaaatc 1800

atcttttgcc agtgcctta gaggaaatat cgtcatggtc ttcattgtct tctactcagt 1860

gttatacatg tcgagtttac ttcccgcga gatgtttgca attgcaacaa taaacaaagc 1920

tgggtggggc acatcaggaa ggaaaacat tgtgttaat ttcattaggac tcattccagt 1980

atcagtttgg tttacaatcc tcttgggtgg tgtgattttc accatttata aggagtctaa 2040

aaggccattt tcagaatcca aacagacagt tctaattgtt ggaacgttgc tctatgcatg 2100

ctattgggtc atgcttttga cgctgtatgt agttctcatc aataagtgtg gcaggcggaa 2160

gaagggacaa caatatgaca tgggtcctga tgtatgatct tccatgtttt gacgtttgca 2220

gtcacacaca acaccttagt tctctagggt gctgtacagt attgtggcat cagataatgc 2280

caccaaagga gacatatcac tgctgctggg acttgaacaa agacatttat atgggtttat 2340

tttcattctg ccaaagtaaa acaatacatc aacaagaaga aactcagatt taacctgtta 2400
tttctatgaa aatgggatga attctttgtt tatgcacttt ttccttactg tgcacccgcc 2460

tgaagtggtt ttgccctata tacctcacta gccatgcttt atgtgggtta tcatggaaga 2520
aaaggatfff ggaaactcaa ggaaaagttc tttcaaccta tacaacctaa cttatggact 2580
gttttgatag atgataatff ttttttttta ggaaggatff tctttttaac tttaccaaaf 2640
gaaatgccaa aggaagttff aaaggccgtt ggctgtgctg tattttgata taattgtact 2700
gtgtttttta attttgtatg ccaatcttaa agacaaatff tgcataatct ctattttact 2760
ttcttgccaa aataaacctg ttcttcctff tttaaaataa aataagttct taaaaaattf 2820
atacttaaaa aatcctgccc aaaatgtgaa gcttggttga ctgatgttca tgatagaaag 2880
aataaaatgt ttctctctct ctacctttta aaattgaata gtttatttct gtgaaagaag 2940

tattttaaact ttcaatatff taactttttg tttttatttc ttttagaaaa ggccaatata 3000
cctatcacac ttiggaagta aaaatacaca ctttcgtgtg tacctaaaaa aaaaatcgtt 3060
gaaaatcaag gccaaaggta gtgcaatfff ttcattaaga tttaaaaaaa agggaaatgat 3120
agtctttgaa agaaaacagt aggcacccag cactggacaa aacatgggta tcaaagatga 3180
ataatctttg gagattctgg cagtgttttc ccagaacaag tcaagtggaa agtggagaaa 3240
ttatctgtat aattttggac acatacaatg cagtt 3275

<210> 197

<211> 4220

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS3 transcript variant 1

<400> 197

gagtgcgttc gcggctgctt tgacctggtg ggcgccgcct ccggcactgc accgaggcgg 60
ggcgccagcg ccaggttgc tgggttgcc ttggcgcccc cttcccctac ccagagcgca 120
ggcaggcagg ggggtccgc cgcgccctt cagcatatgc cgggtcagct gacgacagcc 180
ctgcgtgtgg tgggcaccag cctgtttgcc ctggcagtgc tgggtggcat cctggcagcc 240
tatgtgacgg gctaccagtt catccacacg gaaaagcact acctgtcctt cggcctgtac 300
ggcgccatcc tgggcctgca cctgtctatt cagagccttt ttgccttcct ggagcaccgg 360
cgcatgcgac gtgccggcca ggccctgaag ctgccctccc cgcggcgggg ctcggtggca 420

ctgtgcattg ccgcatacca ggaggaccct gactacttgc gcaagtgcct gcgctcggcc 480

cagcgcatct ccttcctga cctcaagggtg gtcatgggtg tggatggcaa cgcaggag 540
 gagcgctaca tgctggacat cttccacgag gtgctgggcg gcaccgagca ggccggcttc 600
 ttgtgtggc gcagcaactt ccatgaggca ggcgagggtg agacggaggc cagcctgcag 660
 gagggcattg accgtgtgcg ggatgtgggtg cgggccagca cttctctgtg catcatgcag 720
 aagtggggag gcaagcgca ggtcatgtac acggccttca aggcctcgg cgattcgggtg 780
 gactacatcc aggtgtgca ctctgacact gtgctggatc cagcctgcac catcgagatg 840
 cttcagatcc tggaggagga tccccaagta gggggagtgc ggggagatgt ccagatcctc 900

 aacaagtacg actcatggat ttcttctctg agcagcgtgc ggtactggat ggccttcaac 960
 gtggagcggg cctgccagtc ctactttggc tgtgtgcagt gtattagtgg gcccttgggc 1020
 atgtaccgca acagcctcct ccagcagttc ctggaggact ggtaccatca gaagttccta 1080
 ggcagcaagt gcagcttcgg ggatgaccgg cacctcacca accgagtcct gacgcttggc 1140
 taccgaacta agtataccgc gcgctccaag tgcctcacag agacccccac taagtacctc 1200
 cgggtggctca accagcaaac ccgctggagc aagtcttact tccgggagtgc gctctacaac 1260
 tctctgtggt tcataagca ccacctctgg atgacctacg agtcagtggt caggggtttc 1320
 ttcccttct tctcattgc caggttata cagcttttct accggggccg catctggaac 1380

 attctctct tctgtgac ggtgcagctg gtgggcatta tcaaggccac ctacgcctgc 1440
 ttcttctggg gcaatgcaga gatgatcttc atgtccctct actccctct ctatatgtcc 1500
 agccttctgc cggccaagat ctttgccatt gctaccatca acaaatctgg ctggggcacc 1560
 tctggccgaa aaaccattgt ggtgaacttc attggcctca ttctgtgtc catctgggtg 1620
 gcagttctcc tgggagggtt ggcctacaca gcttattgcc aggacctgtt cagtgcagca 1680
 gagctagcct tcttgtctc tggggctata ctgtatggct gctactgggt ggccctcctc 1740
 atgtatatac tggccatcat cggccggcga tgtgggaaga agccggagca gtacagcttg 1800
 gcttttgcgt aggtgtgaca tggcccccga gcagagcggg taaagtgcaa tgggtaaggg 1860

 agggaagggg aatggaagag aaaagacagg gtgggaggga ggaggagtg ctgtgtttta 1920
 gtctcttaat ggtccaaagg acaaatctaa aatgcaaaga acggtgatgt agtatggcct 1980
 gacagctctg tttagaggag gcaacactga tccccagat gcagggtgc aggggattct 2040
 gtgttttcag actgctgtc tcttgcac tgcacatagg cagtgcctc ctctgggt 2100
 ccagagggca ctcaagatt gtgctaaacc aagttaagtc ccattcagtg gcaacttgtg 2160
 ataggtacct gactgacggc aacctgcgga aggaggttct ccagcccat ctgaacacaa 2220
 ccagagtggt caggagaatt tctactgac gagctgggccc ggttagtgta tgtaccccc 2280
 accccacccc taagtagtca tcaatgcaat aagattgcgc ctgagataca aggccagaa 2340

gcctgatctt tgggcatcag aaaacagggt ccaggaatgg tgcittatgt gagatacccc 2400
 actccacatc aacattccag ggatgagcca aaccagcagg gagttagcac tgaactgctt 2460
 ttaaaagtgc acattaaaaa ggaaagtttg ccaggaggaa caaagagatt gtggtggtgc 2520
 taaaggaggc cataagctac acagaggcct tgggtgttcc acctggaaac tgctcagacg 2580
 tctagatggg ttcttagctt gtctgtgatc tctgctgggg agataaaaag attaagcccc 2640
 aacatgttca gaaaagaagt gaagtcttgg gtattttaac ctgtatactc ttgaattcct 2700
 ctcaaattca gcctgatct gaggtctaaga cacactcccc acttcacttt cttcaaagcc 2760
 acattttttg aggtatcact gcagtcacct ctctaccct catcatcata ggtaaggttt 2820

tcaaggtggc aattggggcg gagccccggc tcttatagaa gcttcagcag gaggcaagcg 2880
 tgttctcagc acatatggga actatgagga gcctctgatc aaattggcta caatcttgga 2940
 gctgcttgga cggattcctt ggcagccggg ttagcatgtg tgactttcag gctactgttc 3000
 ttgacaatca tctcaatgg aaagcttttc agtgttccca aagtgaactc tcaaattcaa 3060
 aatgggtatc ttgagacca tccattctcc tcagtggctt ctccaggga ttcttacagc 3120
 caagttgtga cagtcactgc atttgcctgc ttctttccag aaaccaaact aggagatgaa 3180
 actggttctt acatcctaag gttcttgcct tctctctcat gcctcctgag gctgtttttg 3240
 gctgttttcc ctctgctgt tttggggaat gaggggaagc cattttcag tgacttgcaa 3300

tccaggctgt tctcagcgtt ttgagtttaa aacctgggat cctgactaag cctttgactt 3360
 aagggttgct tgcttgccct ccaaatgtcc tttctcagag gggccagcta acccgtcag 3420
 aaccagcact aaggtggaca gcagacaaga gggcaagcct ctagtgtacc aagtgccttc 3480
 taaaaagacg caaggtgtgc tctgagccac agatgggcaa accctggtgc tticcttcat 3540
 ctcccacgaa ctcaagggtt ttccagggtg agctaacagt tgccacatca cacagacctc 3600
 gagtttctgg taagactgct ggttgacatc agaccaacc catgaaggct ggaaggcagc 3660
 aggcatttgc taaggcagct gatccaggca atcgttctgc tggccaagaa gttaaactat 3720
 tttgagcatt agaattggagg aaatccggtc agccaagtgc agagttcaga ctctgctaag 3780

ggcttgtttt tcttcagcat ttacttgaag attaatgtag gatgacaggc tctcctggct 3840
 gtcctacat cagctctgcc ttgactgtg gtcgtcaact ttcctcaat caaaaacagg 3900
 caggtaacag tagtgggctc acaacgtttg acctcgactg gtttttctaa gttattttgt 3960
 acatttttca gcagcaaaac caaactgggt cttcagcttt atccccgttt cttgcaaggg 4020
 aagagccttt atacaattgg acgcattttg gtttttctc attgagaatt caaatcctct 4080
 tttgtattgt ttctacaata atttgtaaac atatttattt ttacctgctt tttttttttt 4140
 ttttaatttt caggtaaggt tttttatact gcacttattt gtcaaaataa agattctcac 4200

atatgccggt tatctcgaag 4220

<210> 198

<211> 1229

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS3 transcript variant 2

<400> 198

ggaggggcat ggagccgccc cgggcctgct gagctccgga gcgcggcagc cggcggcagc 60
atgccggtgc agctgacgac agccctgcgt gtggtgggca ccagcctgtt tgccctggca 120
gtgctgggtg gcatcctggc agcctatgtg acgggctacc agttcatcca cacggaagaa 180
cactacctgt ccttcggcct gtacggcgcc atcctgggccc tgcacctgct cattcagagc 240
ctttttgcct tcctggagca ccggcgcatg cgacgtgccg gccaggccct gaagctgccc 300
tccccggggc ggggctcggg ggacactgtgc attgccgcat accaggagga cctgactac 360

ttgcgcaagt gcctgcgctc ggcccagcgc atctccttcc ctgacctcaa ggtgggtcatg 420
gtggtggatg gcaaccgcca ggaggacgcc tacatgctgg acatcttcca cgaggtgctg 480
ggcggcaccg agcaggccgg cttctttgtg tggcgagca acttccatga ggcaggcgag 540
ggtgagacgg agggcagcct gcaggagggc atggaccgtg tgcgggatgt ggtgcgggccc 600
agcaccttct cgtgcatcat gcagaagtgg ggaggcaagc gcgaggtcat gtacacggcc 660
ttcaaggccc tcggcgattc ggtggactac atccaggtgt gcgactctga cactgtgctg 720
gatccagcct gcaccatcga gatgcttcca gtcctggagg aggatcccca agtaggggga 780
gtcgggggag atgtccagcc cccagggaag ggtatggcag tagaggatga ccaggtccaa 840

gctgcccagg tcagagctac ggaagcatgg tccgttcacc aacgccacgt ttctagagag 900
cagttagctg attctccaat ggtgagcagg ggactacatg tgaactggga cctgcaggcc 960
aatgtatccc tgaggaaaag tccacaagaa caattcaaga aactagtaag aaacaatggg 1020
cagaaagctg tgggacgaaa gcacagcagg cttctgggag gctggagatc ctttctctca 1080
agggcaggat tattccacc tgccacagtt cacatgccac aaataacatc tcaccttcag 1140
tcaagaaaaa cgcaaaggaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1229

<210>

> 199

<211> 509

<212> PRT

<213> Pan troglodyte

<220>

<223> Precursor chimpanzee PH20 XP_527873

<400> 199

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Asn Val Thr Gly Gln Asp Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu

85 90 95

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly

100 105 110

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys

115 120 125

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

130 135 140

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro

145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn

165 170 175

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

180 185 190

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys

195 200 205

Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys

210 215 220
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
 225 230 235 240

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

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

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

 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
 435 440 445
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 450 455 460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Ser Gln Ile
 465 470 475 480
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
 485 490 495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
 500 505

<210> 200

<211> 474

<212> PRT

<213> Pan troglodyte

<220>

<223> mature chimpanzee PH20 XP_527873

<400> 200

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

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

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

145 150 155 160
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg

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

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

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

 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Ser Gln Ile Phe Tyr Asn
435 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
450 455 460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
465 470
<210> 201
<211> 477
<212> PRT
<213> Macaca mulatta
<220>
<223> mature Rhesus monkey PH20 EHH17639
<400> 201
Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Ile Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro
20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Thr Leu Met Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ile
35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Leu Thr Thr Gly Val Thr Val His Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80
Gln Lys Val Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ser Lys Gln Asp Ile
85 90 95
Leu Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

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

Asn Phe Asp Ile Arg Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val His Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Val Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

Ser Leu Lys Pro Pro Val Glu Thr Glu Gly Ser Pro Pro Ile Phe Tyr
435 440 445

Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Ile Trp Arg Leu
450 455 460

Glu Val Trp Asp Gln Gly Ile Ser Arg Ile Gly Phe Phe
465 470 475

<210> 202

<211> 475

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<220>

<223> mature Cynomolgus monkey PH20 P38568.1

<400> 202

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Ile Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Thr Leu Met Gly Ser Pro Arg Ile Asn Val

35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Leu Thr Thr Gly Val Thr Val His Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Lys Val Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ser Lys Gln Asp Ile

85 90 95

Leu Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His

180 185 190

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

195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Val Val Val Ala Thr

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile

245 250 255

Pro Asp Ala Lys Asn Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr Ala Arg Leu Val

260 265 270

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

275 280 285

Thr Leu Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

290 295 300

Gly Ser Leu Ser Ile Thr Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp

305 310 315 320

Thr Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu

325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp

355 360 365
Asn Phe Asp Ile Arg Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val His Gly

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

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp

405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala

420 425 430
Ser Leu Lys Pro Pro Val Glu Thr Glu Gly Ser Pro Pro Ile Phe Tyr

435 440 445
Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Ile Val Asn Ile

450 455 460
Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu

465 470 475

<210> 203

<211> 518

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> Mature cow PH20

<400> 203

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp

1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Val Glu Arg Cys Val Asn Arg Arg Phe Gln Leu

20 25 30
Pro Pro Asp Leu Arg Leu Phe Ser Val Lys Gly Ser Pro Gln Lys Ser

35 40 45

Ala Thr Gly Gln Phe Ile Thr Leu Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr

50

55

60

Tyr Pro His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Lys Thr Val Phe Gly Gly Ile

65

70

75

80

Pro Gln Leu Gly Asn Leu Lys Ser His Met Glu Lys Ala Lys Asn Asp

85

90

95

Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp

100

105

110

Trp Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

Ala Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu

165

170

175

Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn

180

185

190

His Asn His Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Pro Asp Val Glu

195

200

205

Lys Arg Arg Asn Asp Asp Leu Glu Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala

210

215

220

Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Arg Leu Lys Ser Thr Gln Asn

225

230

235

240

Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile Arg Leu Ser

245

250

255

Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr Ala Arg

260

265

270

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

275

280

285

Val Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile

290 295 300
Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Met Gln Ser Cys Met Asn

305 310 315 320
Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val

325 330 335
Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asn Glu Gly

340 345 350
Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn

355 360 365
Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys Tyr Thr Val

370 375 380
Pro Gly Thr Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser Asp Thr Phe

385 390 395 400
Tyr Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile His Cys Lys Lys Arg Val Asp Ile

405 410 415
Lys Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp Ile Cys Ile

420 425 430
Asp Ser Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Asp His Ser Ser Ser Gln Glu

435 440 445
Ala Ser Thr Thr Thr Phe Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr Thr Thr Ala

450 455 460
Thr Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys His Ser Pro Glu Cys Leu Lys

465 470 475 480
Val Arg Cys Ser Glu Val Ile Pro Asn Val Thr Gln Lys Ala Cys Gln

485 490 495
Ser Val Lys Leu Lys Asn Ile Ser Tyr Gln Ser Pro Ile Gln Asn Ile

500 505 510
Lys Asn Gln Thr Thr Tyr

515

<210> 204

<211> 439

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> mature cow PH20 AAP55713

<400> 204

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Val Glu Arg Cys Val Asn Arg Arg Phe Gln Leu

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Gly Gln Phe Ile Thr Leu Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr

50 55 60

Tyr Pro His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Lys Thr Val Phe Gly Gly Ile

65 70 75 80

Pro Gln Leu Gly Asn Leu Lys Ser His Leu Glu Lys Ala Lys Asn Asp

85 90 95

Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp

100 105 110

Trp Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu

165 170 175

Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn

180 185 190

His Asn His Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Pro Asp Val Glu

195 200 205

Lys Arg Arg Asn Asp Asp Leu Glu Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala

210 215 220
Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Arg Leu Lys Ser Thr Gln Asn

225 230 235 240
Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile Arg Leu Ser

245 250 255
Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr Ala Arg

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

275 280 285
Val Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile

290 295 300
Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Val Gln Ser Cys Met Asn

305 310 315 320
Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val

325 330 335
Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asp Gly Gly

340 345 350
Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn

355 360 365
Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys Tyr Thr Val

370 375 380
Pro Gly Thr Leu Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser Asp Thr Phe

385 390 395 400
Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Asn Leu Ser Cys Lys Lys Arg Val Asp Ile

405 410 415
Lys Asn Val His Ser Val Asp Val Cys Met Ala Glu Asp Val Cys Ile

420 425 430
Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro

435

<210> 205

<211> 477

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<223> Mature mouse PH20 NP_001073344.1

<400> 205

Val Asp Tyr Arg Ala Ala Pro Ile Leu Ser Asn Thr Thr Phe Leu Trp

1 5 10 15

Ile Trp Asn Val Pro Thr Glu Arg Cys Val Gly Asn Val Asn Asp Pro

20 25 30

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

35 40 45

Thr Gly Gln Pro Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Leu Tyr

50 55 60

Pro His Ile Asp Ala Asn Gln Ala Glu His Tyr Gly Gly Ile Pro Gln

65 70 75 80

Arg Gly Asp Tyr Gln Ala His Leu Arg Lys Ala Lys Thr Asp Ile Glu

85 90 95

His Tyr Ile Pro Asp Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile Asp Trp Glu

100 105 110

Glu Trp Arg Pro Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Asn Tyr

115 120 125

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

130 135 140

Ile Thr Glu Ala Thr Gln Lys Ala Ile Gln Gln Phe Glu Glu Ala Gly

145 150 155 160

Arg Lys Phe Met Glu Gly Thr Leu His Leu Gly Lys Phe Leu Arg Pro

165 170 175

Asn Gln Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Asn Lys

180 185 190

Phe Gln Asp Pro Lys Tyr Asp Gly Gln Cys Pro Ala Val Glu Lys Lys

195 200 205

Arg Asn Asp Asn Leu Lys Trp Leu Trp Lys Ala Ser Thr Gly Leu Tyr

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

 225 230 235 240
 Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Val Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Val

 245 250 255
 Gly Asn Ala Ser Asp Pro Val Pro Ile Phe Val Tyr Ile Arg Leu Val

 260 265 270
 Phe Thr Asp Arg Thr Ser Glu Tyr Leu Leu Glu Asp Asp Leu Val Asn

 275 280 285
 Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Thr Ser Gly Ile Ile Ile Trp

 290 295 300
 Asp Ala Met Ser Leu Ala Gln Arg Ala Ala Gly Cys Pro Ile Leu His
 305 310 315 320
 Lys Tyr Met Gln Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Val Asn Val Thr Leu

 325 330 335
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Asn Glu Lys Gly Met Cys

 340 345 350
 Ser Arg Arg Lys Glu Ser Ser Asp Val Tyr Leu His Leu Asn Pro Ser

 355 360 365
 His Phe Asp Ile Met Leu Thr Glu Thr Gly Lys Tyr Glu Val Leu Gly

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

 405 410 415
 Val Gln Asp Val Asn Val Cys Val Gly Asp Asn Val Cys Ile Lys Ala

 420 425 430
 Lys Val Glu Pro Asn Pro Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Lys Ser Leu

 435 440 445
 Leu Phe Met Thr Thr Leu Gly His Val Leu Tyr His Leu Pro Gln Asp

 450 455 460

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

465 470 475

<210> 206

<211> 477

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<220>

<223> Mature rat PH20 NP_446419.1

<400> 206

Val Asp Tyr Arg Ala Thr Pro Val Leu Ser Asp Thr Thr Phe Val Trp

1 5 10 15

Val Trp Asn Val Pro Thr Glu Ala Cys Val Glu Asn Val Thr Glu Pro

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Gln Pro Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Asn Tyr

50 55 60

Pro His Ile Asp Ala Gln Gln Thr Glu His His Gly Gly Ile Pro Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Tyr Ile Pro Thr Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile Asp Trp Glu

100 105 110

Glu Trp Arg Pro Thr Trp Met Arg Asn Trp Thr Pro Lys Asp Ile Tyr

115 120 125

Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Gln Ala Ala Asp Pro Ala Ile Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Lys Glu Phe Met Glu Gly Thr Leu Lys Leu Gly Lys His Ile Arg Pro

165 170 175

Lys His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Asn Lys

180 185 190

Phe Gln Val Asp Asn Tyr Asp Gly Gln Cys Pro Asp Val Glu Lys Lys

195 200 205

Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Gly Leu Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Leu Glu Ser Ile Arg Val Ser Lys Val

245 250 255

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

260 265 270

Phe Thr Asp His Val Ser Glu Tyr Leu Leu Glu Asp Asp Leu Val Asn

275 280 285

Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Gln Gly Thr Ser Gly Ile Ile Ile Trp

290 295 300

Asp Ala Met Ser Leu Ala Gln Arg Ser Ala Gly Cys Pro Ile Leu Arg

305 310 315 320

Gln Tyr Met Lys Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Val Asn Val Thr Leu

325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Lys Glu Lys Gly Met Cys

340 345 350

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

355 360 365

Ser Phe Ser Ile Asn Val Thr Glu Ala Gly Lys Tyr Glu Val Leu Gly

370 375 380

Lys Pro Glu Val Lys Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His Phe Lys Cys

385 390 395 400

Ser Cys Phe Ser Lys Met Thr Cys Glu Glu Thr Ser Asp Met Arg Ser

405 410 415

Ile Gln Asp Val Asn Val Cys Met Gly Asp Asn Val Cys Ile Lys Ala

420 425 430
Thr Leu Gly Pro Asn Ser Ala Phe His Leu Leu Pro Gly Lys Gly Leu

435 440 445
Leu Leu Met Thr Thr Leu Ala His Ile Leu His His Leu Pro His Asp

450 455 460
Ile Phe Val Phe Pro Trp Lys Met Leu Val Ser Thr Pro

465 470 475

<210> 207

<211> 510

<212> PRT

<213> Oryctolagus cuniculus

<220>

<223> Mature rabbit PH20 NP_001076141.1

<400> 207

Ala Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Thr Glu Phe Cys Leu Gly Lys Ser Gly Glu Pro
20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Leu Phe Gly Ser Pro Arg Lys Asn Lys
35 40 45

Thr Gly Gln Gly Ile Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Pro His Thr Gly Ala Ile Val His Gly Arg Ile Pro
65 70 75 80

Gln Leu Gly Pro Leu Gln Gln His Leu Thr Lys Leu Arg Gln Glu Ile
85 90 95

Leu Tyr Tyr Met Pro Lys Asp Asn Val Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Leu Pro Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Ile
115 120 125

Tyr Arg Ile Lys Ser Ile Glu Leu Val Lys Ser Gln His Pro Gln Tyr

130	135	140	
Asn His Ser Tyr Ala Thr Glu Lys Ala Lys Arg Asp Phe Glu Lys Ala			
145	150	155	160
Gly Lys Asp Phe Met Glu Glu Thr Leu Lys Leu Gly Arg Leu Leu Arg			
	165	170	175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His			
	180	185	190
His Tyr Asp Lys Pro Asn Leu Tyr Lys Gly Ser Cys Phe Asp Ile Glu			
195	200	205	
Lys Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala			
210	215	220	
Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Thr Ser Arg Ala Arg Ser Ala Thr Ala			
225	230	235	240
Leu Ser Lys Leu Tyr Val Val Arg Asn Arg Val His Glu Ala Ile Arg			
	245	250	255
Val Ser Lys Ile Pro Asp Asp Lys Ser Pro Leu Pro Asn Phe Val Tyr			
260	265	270	
Thr Arg Leu Val Phe Thr Asp Gln Ile Phe Gln Phe Leu Ser His His			
275	280	285	
Asp Leu Val Tyr Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly			
290	295	300	
Ile Val Val Trp Gly Ser Gln Ser Leu Ala Arg Ser Met Lys Ser Cys			
305	310	315	320
Leu His Leu Asp Asn Tyr Met Lys Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Leu Ile			
	325	330	335
Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Asn Gln Val Leu Cys Gln Glu			
340	345	350	
Gln Gly Val Cys Thr Arg Lys Asn Trp Asn Pro Asn Asp Tyr Leu His			
355	360	365	
Leu Asn Pro Gly Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gly Ser Asn Gly Thr Tyr			
370	375	380	

Lys Val Asp Gly Lys Pro Thr Leu Thr Asp Leu Glu Gln Phe Ser Lys
385 390 395 400

Asn Phe Gln Cys Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Asn Cys Lys Glu Arg Thr
405 410 415

Asp Met Asn Asn Val Arg Thr Val Asn Val Cys Ala Val Glu Asn Val
420 425 430

Cys Ile Asp Thr Asn Val Gly Pro Gln Ala Val Thr Tyr Ala Pro Lys
435 440 445

Glu Lys Lys Asp Val Ala His Ile Leu Ser Asn Thr Thr Ser Ile Asn
450 455 460

Ser Ser Thr Thr Met Ser Leu Pro Phe Pro Arg Lys His Val Ser Gly
465 470 475 480

Cys Leu Leu Val Leu Cys Met Tyr Ser Gln Tyr Leu Asn Ile Cys Tyr
485 490 495

Arg Leu Val Ala Ile Gly Ile Gln His Gly Tyr Tyr Leu Lys
500 505 510

<210> 208

<211> 494

<212> PRT

<213> *Cavia porcellus*

<220>

<223> mature guinea pig PH20 NP_001166492.1

<400> 208

Asp Lys Arg Ala Pro Pro Leu Ile Pro Asn Val Pro Leu Leu Trp Val

1 5 10 15
Trp Asn Ala Pro Thr Glu Phe Cys Ile Gly Gly Thr Asn Gln Pro Leu

20 25 30
Asp Met Ser Phe Phe Ser Ile Val Gly Thr Pro Arg Lys Asn Ile Thr

35 40 45
Gly Gln Ser Ile Thr Leu Tyr Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro

50 55 60

Tyr Ile Asp Pro His Thr Gly Ala Ile Val His Gly Gly Leu Pro Gln

65 70 75 80

Leu Met Asn Leu Gln Gln His Leu Arg Lys Ser Arg Gln Asp Ile Leu

85 90 95

Phe Tyr Met Pro Thr Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu

100 105 110

Glu Trp Arg Pro Thr Trp Thr Arg Asn Trp Arg Pro Lys Asp Ile Tyr

115 120 125

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

130 135 140

His Ser Tyr Ala Val Ala Val Ala Lys Arg Asp Phe Glu Arg Thr Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Thr His

180 185 190

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

195 200 205

Arg Asn Asn Asp Leu Gln Trp Leu Trp Asn Asp Ser Thr Ala Leu Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Met Asp Asp Lys Asn Pro Leu Pro Ile Tyr Val Tyr Ile Arg Leu Val

260 265 270

Phe Thr Asp Gln Thr Thr Thr Phe Leu Glu Leu Asp Asp Leu Val His

275 280 285

Ser Val Gly Glu Ile Val Pro Leu Gly Val Ser Gly Ile Ile Ile Trp

290 295 300

Gly Ser Leu Ser Leu Thr Arg Ser Leu Val Ser Cys Ile Gly Leu Glu

305 310 315 320
Asn Tyr Met Lys Gly Thr Leu Leu Pro Tyr Leu Ile Asn Val Thr Leu

 325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Gly Gln Val Leu Cys Lys Asn Gln Gly Ile Cys

 340 345 350
Thr Arg Lys Asp Trp Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His Leu Asn Ala Thr

 355 360 365
Asn Phe Asp Ile Glu Leu Gln Gln Asn Gly Lys Phe Val Val His Gly

 370 375 380
Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Gln Glu Phe Ser Lys Asn Phe His Cys

385 390 395 400
Ser Cys Tyr Thr Asn Val Ala Cys Lys Asp Arg Leu Asp Val His Asn

 405 410 415
Val Arg Ser Val Asn Val Cys Thr Ala Asn Asn Ile Cys Ile Asp Ala

 420 425 430
Val Leu Asn Phe Pro Ser Leu Asp Asp Asp Asp Glu Pro Pro Ile Thr

 435 440 445
Asp Asp Thr Ser Gln Asn Gln Asp Ser Ile Ser Asp Ile Thr Ser Ser

 450 455 460
Ala Pro Pro Ser Ser His Ile Leu Pro Lys Asp Leu Ser Trp Cys Leu

465 470 475 480
Phe Leu Leu Ser Ile Phe Ser Gln His Trp Lys Tyr Leu Leu

 485 490

<210> 209

<211> 540

<212> PRT

<213> Vulpes vulpes

<220>

<223> Precursor Red Fox PH20

<400> 209

Met Gly Val Leu Arg Phe Gln Asn Ile Phe Phe Arg Ser Phe Leu Gly

1	5	10	15
Ser Ser Gly Thr Thr Gln Ala Val Phe Ile Phe Leu Leu Ile Pro Arg			
	20	25	30
Cys Leu Thr Gln Glu Phe Arg Ala Pro Pro Phe Ile Pro Asn Val Ser			
	35	40	45
Phe Leu Trp Gly Trp Asn Ala Pro Thr Glu Leu Cys Ala Lys Arg Phe			
	50	55	60
Asn Val Gln Leu Asp Leu Asn Leu Phe Ser Leu Ile Gly Ser Pro Leu			
65	70	75	80
Lys Thr Val Val Gly Gln Gly Ile Ala Ile Phe Tyr Ala Asp Arg Leu			
	85	90	95
Gly Tyr Tyr Pro His Ile Asn Lys Thr Thr Gly Lys His Val Asn Gly			
	100	105	110
Gly Ile Pro Gln Leu Gly Ser Leu Lys Lys His Leu Asp Lys Ala Lys			
	115	120	125
Lys Asp Ile Ser His Tyr Ile Glu Thr Asp Ser Met Gly Leu Ala Val			
	130	135	140
Ile Asp Trp Asp Ser Trp Arg Pro Asn Trp Ala Arg Asn Trp Arg Pro			
145	150	155	160
Lys His Ile Tyr Lys Glu Gln Ser Ile Asp Leu Ala Gln Gln Gln His			
	165	170	175
Ile His Leu Asn Leu Thr Glu Val Thr Gln Ile Ala Gln Ala Asp Phe			
	180	185	190
Glu Lys Ala Ala Arg Cys Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys			
	195	200	205
Phe Leu Arg Pro Asn Tyr Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Tyr Pro Asp Cys			
	210	215	220
Tyr Asn Tyr Asn Tyr Lys Asn Pro Asn Tyr Asn Gly Ser Cys Tyr Asp			
225	230	235	240
Ile Glu Glu Arg Arg Asn Asp Glu Ile Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser			
	245	250	255

Thr Ala Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Lys Ser Lys Leu Lys Ser Ser
260 265 270

Pro Phe Thr Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Leu Glu Ala Ile Arg
275 280 285

Val Ser Lys Val Lys Asp Ile Lys His Pro Leu Pro Ile Phe Val Tyr
290 295 300

Ala Arg Pro Val Phe Thr Asp Val Leu Leu Thr Tyr Leu Thr Glu Asp
305 310 315 320

Asp Leu Val Asn Thr Ile Gly Glu Ser Val Ser Leu Gly Val Ser Gly
325 330 335

Ile Val Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Thr Glu Asn Val Gln Ile Cys
340 345 350

Thr Glu Leu Asp Thr Tyr Ile Lys Asn Lys Leu Asn Pro Tyr Ile Ile
355 360 365

Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Asp
370 375 380

Glu Gly Val Cys Ile Arg Lys His Trp Asn Ser Asn Asp Tyr Leu His
385 390 395 400

Leu Asn Pro Val Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Arg Ser Gly Arg Tyr
405 410 415

Thr Val Gln Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Gln Gln Phe Ser Lys
420 425 430

Lys Phe Tyr Cys Ala Cys Tyr Ala Asn Thr His Cys Arg Glu Arg Val
435 440 445

Asp Met Thr Asp Ile His Thr Ile Lys Val Cys Val Gly Glu Asp Val
450 455 460

Cys Ile Asp Val Tyr Leu Asn Leu Val Pro Ser Gly His Leu Pro Val
465 470 475 480

Trp Lys Gly Lys Tyr Val Thr Ser Ser Asn Ile Phe Ser Val Met Pro
485 490 495

Pro Ala Thr Gly Pro Pro Cys Val Pro Gly Arg Asp Leu Asn Arg Cys

500 505 510
 Leu Lys Ala Arg Phe Ile Val Glu Asp Asn Ser Lys Thr Thr Gln Thr
 515 520 525

Gly Tyr Gln Ser Ile Tyr Ile Lys Asn Lys Lys Gln
 530 535 540

<210> 210

<211> 505

<212> PRT

<213> Vulpes vulpes

<220>

<223> Mature Red Fox PH20 Q29152

<400> 210

Gln Glu Phe Arg Ala Pro Pro Phe Ile Pro Asn Val Ser Phe Leu Trp

1 5 10 15

Gly Trp Asn Ala Pro Thr Glu Leu Cys Ala Lys Arg Phe Asn Val Gln

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro His Ile Asn Lys Thr Thr Gly Lys His Val Asn Gly Gly Ile Pro

65 70 75 80

Gln Leu Gly Ser Leu Lys Lys His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile

85 90 95

Ser His Tyr Ile Glu Thr Asp Ser Met Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp

100 105 110

Asp Ser Trp Arg Pro Asn Trp Ala Arg Asn Trp Arg Pro Lys His Ile

115 120 125

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

130 135 140

Asn Leu Thr Glu Val Thr Gln Ile Ala Gln Ala Asp Phe Glu Lys Ala

145 150 155 160

Ala Arg Cys Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Phe Leu Arg

165 170 175

Pro Asn Tyr Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Tyr Pro Asp Cys Tyr Asn Tyr

180 185 190

Asn Tyr Lys Asn Pro Asn Tyr Asn Gly Ser Cys Tyr Asp Ile Glu Glu

195 200 205

Arg Arg Asn Asp Glu Ile Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Ala Leu

210 215 220

Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Lys Ser Lys Leu Lys Ser Ser Pro Phe Thr

225 230 235 240

Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Leu Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys

245 250 255

Val Lys Asp Ile Lys His Pro Leu Pro Ile Phe Val Tyr Ala Arg Pro

260 265 270

Val Phe Thr Asp Val Leu Leu Thr Tyr Leu Thr Glu Asp Asp Leu Val

275 280 285

Asn Thr Ile Gly Glu Ser Val Ser Leu Gly Val Ser Gly Ile Val Met

290 295 300

Trp Gly Ser Leu Asn Leu Thr Glu Asn Val Gln Ile Cys Thr Glu Leu

305 310 315 320

Asp Thr Tyr Ile Lys Asn Lys Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr

325 330 335

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

340 345 350

Cys Ile Arg Lys His Trp Asn Ser Asn Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro

355 360 365

Val Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Arg Ser Gly Arg Tyr Thr Val Gln

370 375 380

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

385 390 395 400

Cys Ala Cys Tyr Ala Asn Thr His Cys Arg Glu Arg Val Asp Met Thr

405 410 415
Asp Ile His Thr Ile Lys Val Cys Val Gly Glu Asp Val Cys Ile Asp

420 425 430
Val Tyr Leu Asn Leu Val Pro Ser Gly His Leu Pro Val Trp Lys Gly

435 440 445
Lys Tyr Val Thr Ser Ser Asn Ile Phe Ser Val Met Pro Pro Ala Thr

450 455 460
Gly Pro Pro Cys Val Pro Gly Arg Asp Leu Asn Arg Cys Leu Lys Ala

465 470 475 480
Arg Phe Ile Val Glu Asp Asn Ser Lys Thr Thr Gln Thr Gly Tyr Gln

485 490 495
Ser Ile Tyr Ile Lys Asn Lys Lys Gln

500 505

<210> 211

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Human Serum Albumin (aa 25-609)

<400> 211

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

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

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

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

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

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

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

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

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

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

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu

580

585

<210> 212

<211> 1662

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS3 variant 1 cDNA

<400> 212

```

atgccggtgc agctgacgac agccctgcgt gtggtgggca ccagcctgtt tgccctggca 60

gtgctgggtg gcatcctggc agcctatgtg acgggctacc agttcatcca cacgaaaag 120
cactacctgt ccttcggcct gtacggcgcc atcctgggcc tgcacctgct cattcagagc 180
ctgtttgcct tcctggagca ccggcgcatg cgacgtgccg gccaggccct gaagctgccc 240
tccccgcggc ggggctcggg ggcaactgtg attgccgat accaggagga ccttgactac 300
ttgcgcaagt gcctgcgctc ggcccagcgc atctccttcc ctgacctcaa ggtggtcatg 360
gtggtggatg gcaaccgcca ggaggacgcc tacatgctgg acatcttcca cgaggigctg 420
ggcggcaccg agcaggccgg cttctttgtg tggcgcagca acttccatga ggcaggcgag 480
ggtgagacgg aggccagcct gcaggagggc atggaccgtg tgcgggatgt ggtgcgggcc 540

agcaccttct cgtgcatcat gcagaagtgg ggaggcaagc gcgaggatcat gtacacggcc 600
ttcaaggccc tcggcgattc ggtggactac atccaggtgt gcgactctga cactgtgctg 660
gatccagcct gcaccatcga gatgcttcga gtccctggagg aggatcccca agtaggggga 720
gtcgggggag atgtccagat cctcaacaag tacgactcat ggatttcctt cctgagcagc 780
gtgcggtact ggatggcctt caacgtggag cgggcctgcc agtcctactt tggtgtgtg 840
cagtgtatta gtgggccctt gggcatgtac cgcaacagcc tcctccagca gttcctggag 900
gactgttacc atcagaagtt cctaggcagc aagtgcagct tcggggatga ccggcacctc 960
accaaccgag tctgagcct tggctaccga actaagtata ccgcgcgctc caagtgcctc 1020

acagagaccc ccactaagta cctccggtgg ctcaaccagc aaacccgctg gagcaagtct 1080
tacttccggg agtggctcta caactctctg tggttccata agcaccacct ctggatgacc 1140
tacgagtcag tggtcacggg tttcttcccc ttcttctca ttgccacggt tatacagctt 1200
ttctaccggg gccgcatctg gaacattctc ctcttctgc tgacggtgca gctggtgggc 1260
attatcaagg ccacctacgc ctgcttctt cggggcaatg cagagatgat cttcatgtcc 1320
ctctactccc tctctatat gtccagcctt ctcccgcca agatctttgc cattgctacc 1380
atcaacaaat ctggctgggg cacctctggc cgaaaaacca ttgtggtgaa cttcattggc 1440

```


ctcattcctg tgcacatctg ggtggcagtt ctctgggag ggctggccta cacagcttat 1500

tgccaggacc tgttcagta gacagagcta gccttccttg tctctgggac tatactgtat 1560

ggctgctact ggttgccct cctcatgcta tatctggcca tcatcgcccg gcgatgtggg 1620

aagaagccgg agcagtacag cttggctttt gctgaggtgt ag 1662

<210> 213

<211> 10836

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg vector

<400> 213

aagcttaatg tagtcttatg caatactctt gtagtcttgc aacatggtaa cgatgagtta 60

gcaacatgcc ttacaaggag agaaaaagca ccgtgcatgc cgattggtgg aagtaaggtg 120

gtacgatcgt gccttattag gaaggcaaca gacgggtctg acatggattg gacgaaccac 180

tgaattgccg cattgcagag atattgtatt taagtgccta gctcgataca taaacgggtc 240

tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct 300

taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgct tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga 360

ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctacagtggtg 420

cgcccgaaca gggacttgaa agcgaaaggg aaaccagagg agctctctcg acgcaggact 480

cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggcggc gactggtgag tacgccaaaa 540

attttgacta gcggaggcta gaaggagaga gatgggtgcg agagcgtcag tattaagcgg 600

gggagaatta gatcgcatg ggaaaaaatt cggttaaggc cagggggaaa gaaaaaatat 660

aaattaaaac ataatgatg ggcaagcagg gagctagaac gattcgcatg taatcctggc 720

ctgttagaaa catcagaagg ctgtagacaa atactgggac agctacaacc atcccttcag 780

acaggatcag aagaacttag atcattatat aatacagtag caaccctcta ttgtgtgcat 840

caaaggatag agataaaaga caccaaggaa gcttttagaca agatagagga agagcaaac 900

aaaagtaaga ccaccgcaca gcaagcggcc gctgatcttc agacctggag gaggagatat 960

gagggacaat tggagaagtg aattatataa atataaagta gtaaaaattg aaccattagg 1020

agtagcacc accaaggcaa agagaagagt ggtgcagaga gaaaaagag cagtgggaat 1080

aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggag cagcgtcaat 1140

gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggtata gtcagcagc agaacaattt 1200

gctgagggct attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca 1260
gctccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat 1320
ttgggggttg tctggaaaac tcatttgac cactgctgtg ccttggaatg ctagttggag 1380
taataaatct ctggaacaga ttggaatca cagcactgg atggagtggg acagagaaat 1440
taacaattac acaagcttaa tacactcctt aattgaagaa tcgcaaaacc agcaagaaaa 1500
gaatgaacaa gaattattgg aattagataa atgggcaagt ttgtggaatt ggtttaacat 1560
aacaattgg ctgtgggata taaaattatt cataatgata gtaggaggct tggtaggttt 1620

aagaatagtt tttgctgtac tttctatagt gaatagagtt aggcagggat attcaccatt 1680
atcgtttcag acccacctcc caaccccgag gggacccgac aggcccgag gaatagaaga 1740
agaaggtgga gagagagaca gagacagatc cattcgatta gtgaacggat ctgcacggta 1800
tcggttaact tttaaaagaa aaggggggat tgggggtac agtgcagggg aaagaatagt 1860
agacataata gcaacagaca tacaactaa agaattacaa aaacaaatta caaaattcaa 1920
aattttatcg atgcctcccc gtcaccacc ccccaacc gccccgaccg gagctgagag 1980
taattcatac aaaaggactc gccctgcct tggggaatcc cagggaccgt cgttaaactc 2040
ccactaacgt agaaccaga gatcgtgctg tccccccc ctcaccgcc cgctctcgtc 2100

atcactgagg tggagaagag catgcgtgag gctccgtgc ccgtcagtgg gcagagcgca 2160
catcgccac agtccccgag aagttggggg gaggggtcgg caattgaacc ggtgcctaga 2220
gaaggtggcg cggggtaaac tgggaaagt atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg 2280
aggggtgggg agaaccgtat ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt ttctgcaacg 2340
ggtttgccgc cagaacacag gtaagtgccg tgtgtggttc ccgcgggcct ggctcttita 2400
cgggttatgg cccttgctg ccttgaatta ctccacgcc cctggctgca gtacgtgatt 2460
cttgatcccg agcttcgggt tggaagtggg tgggagagtt cgaggccttg cgcttaagga 2520
gccccttcgc ctgtgcttg agttgaggcc tggcctgggc gctggggccg ccgctgctga 2580

atctggtggc accttcgcgc ctgtctcgt gctttcgata agtctctagc catttaaaat 2640
ttttgatgat atcctgcgac gcttttttc tggcaagata gtcttgtaaa tgcgggcca 2700
gatctgcaca ctggtatttc ggtttttggg gccgcggcg gcgacggggc ccgtgctcc 2760
cagcgcacat gttcgccgag gcggggcctg cgagcgcggc caccgagaat cggacggggg 2820
tagtctcaag ctggccggcc tgctctggtg cctggcctcg cgcccgctg tatcgccccg 2880
ccctggcgcg caaggctggc ccggtcggca ccagttgcgt gagcggaag atggccgctt 2940
cccggcctg ctgcaggag ctcaaatgg aggacgggc gctcgggaga gcgggcgggt 3000
gagtcacca cacaaggaa aaggccctt ccgtcctcag ccgtcgttc atgtgactcc 3060

acggagtacc gggcgccgtc caggcacctc gattagtctt cgagcttttg gagtacgtcg 3120
tcttttaggtt ggggggagg gttttatgcg atggagtttc cccacactga gtgggtggag 3180
actgaagtta ggccagcttg gcacttgatg taattctcct tggaaatttg cttttttgag 3240
tttggatctt gggtcattct caagccctcag acagtgggtc aaagtttttt tcttccattt 3300
caggtgtcgt gaaaactacc cctctagacc cgggccacca tgccggtgca gctgacgaca 3360
gccctgcgtg tgggtgggac cagcctgttt gccctggcag tgctgggtgg catcctggca 3420
gcctatgtga cgggctacca gttcatccac acgaaaaagc actacctgtc cttcgccctg 3480
tacggcgcca tcttgggcct gcacctgtc attcagagcc tgtttgcctt cctggagcac 3540

cggcgcatgc gacgtgccgg ccaggccctg aagctgccct ccccgccggc gggctcgggtg 3600
gcactgtgca ttccgcata ccaggaggac cctgactact tgcgcaagt cctgcgctcg 3660
gcccagcgca tctccttccc tgacctcaag gtggtcatgg tgggtgatgg caaccgccag 3720
gaggacgcct acatgctgga catcttccac gaggtgctgg gcggcaccga gcaggccggc 3780
ttctttgtgt ggcgcagcaa cttccatgag gcaggcgagg gtgagacgga ggccagcctg 3840
caggagggca tggaccgtgt gcgggatgtg gtgcgggcca gcaccttctc gtgcatcatg 3900
cagaagtggg gaggcaagcg cgaggtcatg tacacggcct tcaaggccct cggcgattcg 3960
gtggactaca tccaggtgtg cgactctgac actgtgctgg atccagcctg caccatcgag 4020

atgcttcgag tcttggagga ggatcccaaa gtagggggag tcgggggaga tgtccagatc 4080
ctcaacaagt acgactcatg gatttccttc ctgagcagcg tgcgtactg gatggccttc 4140
aacgtggagc gggcctgcca gtctactttt ggctgtgtgc agtgtattag tgggccttg 4200
ggcatgtacc gcaacagcct cctccagcag ttcttggagg actggtacca tcagaagttc 4260
ctaggcagca agtgcagctt cggggatgac cggcacctca ccaaccgagt cctgagcctt 4320
ggctaccgaa ctaagtatac cgcgcgtcc aagtgcctca cagagacccc cactaagtac 4380
ctccggtggc tcaaccagca aaccgcgtgg agcaagtcct acttccggga gtggctctac 4440
aactctctgt ggttccataa gcaccacctc tggatgacct acgagtcagt ggtcacgggt 4500

ttcttccctt tcttctcat tgccacggtt atacagcttt tctaccgggg ccgcatctgg 4560
aacattctcc tcttctgct gacggtgcag ctggtgggca ttatcaaggc cacctacgcc 4620
tgcttcttc ggggcaatgc agagatgac ttcatgtccc tctactcct cctctatatg 4680
tccagccttc tgccggccaa gatctttgcc attgctacca tcaacaaatc tggctggggc 4740
acctctggcc gaaaaacat tgtggtgaac ttattggcc tcattctgt gtccatctgg 4800
gtggcagttc tcttgggagg gctggcctac acagcttatt gccaggacct gttcagttag 4860
acagagctag ccttcttgt ctctggggct atactgtatg gctgctactg ggtggccctc 4920

ctcatgctat atctggccat catcgcccgg cgatgtggga agaagccgga gcagtacagc 4980

ttggcttttg ctgagggtga gacgcgtctc cgccctaggg ataacagggt aatccgctag 5040

ccccctctcc tcccccccc ctaacgtttac tggccgaagc cgcttggaat aaggccggtg 5100

tgcgtttgtc tatatgttat tttccacat attgccgtct tttggcaatg tgagggcccg 5160

gaaacctggc cctgtcttct tgacgagcat tcttaggggt ctttccctc tcgccaag 5220

aatgcaagggt ctgttgaatg tcgtgaagga agcagttcct ctggaagctt cttgaagaca 5280

aacaacgtct gtagcgacc tttgcaggca gcggaacccc ccacctggcg acaggtcct 5340

ctgcggccaa aagccacgtg tataagatac acctgcaaag gcggcacaac cccagtgcc 5400

cgttgtgagt tggatagtg tggaaagagt caaatggctc tctcaagcg tattcaaca 5460

ggggctgaag gatgccaga aggtaccca ttgtatggga tctgatctgg ggcctcgta 5520

catatgcttt acatgtgtt agtcgaggtt aaaaaaacgt ctaggcccc cgaaccacgg 5580

ggacgtgggt ttcctttgaa aaacacgatg ataatatggc cactatagag atccaccggt 5640

cgccaccatg aaaaagcctg aactcaccgc gacgtctgtc gagaagtctc tgatcga 5700

gttcgacagc gtctccgacc tgatgcagct ctggagggc gaagaatctc gtgctttcag 5760

cttcgatgta ggaggcggtg gatatgtcct gcgggtaaat agctgcgcg atggtttcta 5820

caaagatcgt tatgtttatc ggcactttgc atcgcccgcg ctcccgattc cggaagtgt 5880

tgacattggg gaattcagcg agagcctgac ctattgcac tcccgcctg cacagggtgt 5940

cacgttgcaa gacctgcctg aaaccgaact gcccgctgtt ctgcagccgg tcgaggaggc 6000

catggatgcg atcgctgcgg ccgatcttag ccagacgagc gggttcggcc cattcggacc 6060

gcaaggaatc ggicaatata ctacatggcg tgatttcata tgcgcgattg ctgatccca 6120

tgtgtatcac tggcaaacgt tgatggacga caccgtcagt gcgtccgtcg cgcaggtct 6180

cgatgagctg atgctttggg ccgaggactg cccgaagtc cggcacctcg tgcacgcgga 6240

tttcggctcc aacaatgtcc tgacggacaa tggccgata acagcggta ttgactggag 6300

cgaggcgatg ttcggggatt cccaatacga ggtcgccaac atcttcttct ggaggccgtg 6360

gttggcttgt atggagcagc agacgcgcta cttcgagcgg aggcattccg agcttcagg 6420

atcgcccgcg ctccgggctg atatgctccg catttgtctt gaccaactct atcagagctt 6480

ggttgacggc aatttcgatg atgcagctt ggcgagggt cgatgcgac caatcgtccg 6540

atccggagcc gggactgtcg ggcgtacaca aatcgccgc agaagcgcg ccgtctggac 6600

cgatggctgt gtagaagtac tcgccgatag tggaaaccga cccccagca ctgtccgag 6660

ggcaaaggaa taggcggccg cgtcgacaat caacctctgg attacaaat ttgtgaaaga 6720

ttgactggta ttcttaacta tgttctcct ttacgctat gtggatacgc tgctttaatg 6780

cctttgtatc atgctattgc ttcccgatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc 6840
 tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg cgtgggtgac 6900

 actgtgtttg ctgacgcaac cccactggt tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt 6960
 tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt 7020
 gcccgtgct ggacaggggc tcggctgttg ggcaactgaca attccgtggt gttgtcgggg 7080
 aagctgacgt cctttccatg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg 7140
 tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat ccagcggacc ttccttcccg cggcctgctg 7200
 ccggctctgc ggccctcttc gcgtcttcgc ctccgcccgc agacgagtcg gatctccctt 7260
 tgggcgcctt ccccgctgg aattcgagct cggtaacctt aagaccaatg attacaagg 7320
 cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact 7380

 cccaacgaag acaagatctg ctttttgcct gtactgggtc tctctggtta gaccagatct 7440
 gagcctggga gcctctggc taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc 7500
 cttagtgct tcaagtagtg tgtccccgc tgtgtgtga ctctggtaac tagagatccc 7560
 tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta 7620
 ttcagtatct ataacttga aagaaatga taccagagag tgagaggaac ttgtttattg 7680
 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt 7740
 tttacttga ttttagttgt ggtttgtcca aactcatca tgtatctat catgtctggc 7800
 tctagctatc ccgcccctaa ctccgcccac ccgccccta actccgcca gttccgcca 7860

 ttctccgcc catggtgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc 7920
 ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctaggga cgtaccaat 7980
 tcgccctata gtgagtcgta ttacgcgcgc tcaactggcg tcgttttaca acgtcgtgac 8040
 tgggaaaacc ctggcggtac ccaacttaat cgccttgacg cacatcccc tttcgccagc 8100
 tggcgtaata gcgaagaggc ccgaccgat cgccttccc aacagttgag cagcctgaat 8160
 ggcaaatggg acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgagg cgggtgtggt ggttacgcgc 8220
 agcgtgaccg ctacacttgc cagcgccta gcgccgctc ctttcgctt cttcccttc 8280
 tttctgcca cgttcgccg ctttccccgt caagctctaa atcgggggct ccttttaggg 8340

 ttccgattta gtgttttac gcacctgac ccaaaaaaac ttgattaggg tgatggttca 8400
 cgtagtgggc catcgccctg atagacggtt tttcgccctt tgacgttgga gtccagttc 8460
 tttaatagtg gactcttgtt ccaacttga acaacttca accctatctc ggtctattct 8520
 tttgatttat aagggtttt gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga gctgatttaa 8580
 caaaaattta acgcgaattt taacaaaata ttaacgctta caatttaggt ggcacttttc 8640

ggggaaatgt gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta aatacattca aatatgtatc 8700
cgctcatgag acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga 8760
gtattcaaca tttccgtgtc gcccttattc ccttttttgc ggcattttgc cttcctgttt 8820

ttgctcacc agaaacgctg gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag 8880
tgggttacat cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt cgccccgaag 8940
aacgttttcc aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg tggcgcggta ttatcccgta 9000
ttgacgccgg gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttggttg 9060
agtactcacc agtcacagaa aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca 9120
gtgctgcat aaccatgagt gataacactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag 9180
gaccgaagga gctaaccgt tttttgcaca acatggggga tcatgtaact cgccttgatc 9240
gttgggaacc ggagctgaat gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg 9300

tagcaatggc aacaacgttg cgcaactat taactggcga actacttact ctagcttccc 9360
ggcaacaatt aatagactgg atggaggcgg ataaagtgc aggaccactt ctgcgctcgg 9420
cccttccggc tggctggttt attgtgata aatctggagc cggtagcgt ggggtctcgg 9480
glatcattgc agcactgggg ccagatggta agccctcccg tatcgtagtt atctacagca 9540
cggggagtca ggcaactatg gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac 9600
tgattaagca ttggtaactg tcagaccaag ttactcata tatactttag attgatttaa 9660
aacttcattt ttaatttaa aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca 9720
aaatccctta acgtgagttt tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag 9780

gatcttcttg agatcctttt tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaca aaaaaaccac 9840
cgctaccagc ggtggtttgt ttgccgcatc aagagctacc aactctttt ccgaaggtaa 9900
ctggcttcag cagagcgcag ataccaaata ctgttcttct agttagcgg tagttaggcc 9960
accacttcaa gaactctgta gcaccgccta catacctgc tctgctaata ctgttaccag 10020
tggctgctgc cagtggcgat aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagtac 10080
cggataaggc gcagcggtcg ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc 10140
gaacgaccta caccgaactg agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgttc 10200

ccgaaggagg aaaggcggac aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca 10260
cgagggagct tccaggggga aacgcctggt atctttatag tccgtcggg tttcgccacc 10320
tctgacttga gcgtcgattt ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg 10380
ccagcaacgc ggctttttta cggttcctgg ccttttctg gccttttct cactgttct 10440
ttcctgcgtt atccccgat tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata 10500

ccgctcgccg cagccgaacg accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggaagagc 10560
gcccatacg caaacgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg 10620

acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca 10680
ctcattaggc accccaggct ttacacttta tgcttcggc tcgtatgttg tgtggaattg 10740
tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagcgcgcaa 10800
ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctgc 10836