

**ÖZET****HİYALÜRONİDAZ VE BİR TÜMÖR-GÜDÜMLÜ TAKSAN İLE  
KOMBİNASYON TERAPİSİ**

Burada, bir anti-hiyalüronan madde, örneğin bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronan-  
5 parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan ve isteğe bağlı olarak bir başka  
kemoterapi maddesi, örneğin bir nükleosid analogu içeren kombinasyon terapisi  
sağlanmaktadır. Kombinasyon terapisi kanserlerin ve özellikle katı tümör kanserlerinin  
tedavisine yönelik usullerde kullanılabilir.

## İSTEMLER

1. Pankreas kanseri tedavisinde kullanım için bir bileşim kombinasyonu olup, kombinasyon aşağıdakileri içerir:  
 bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronidaz içeren bir birinci bileşim; ve  
 5 bir tümör-güdümlü taksan içeren bir ikinci bileşim, burada tümör-güdümlü taksan *nab*-paklitaksel veya *nab*-dosetaksel içerir.
2. Pankreas kanseri tedavisinde kullanım için bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronidaz içeren bir bileşim olup, burada:  
 hiyalüronidaz bir tümör-güdümlü taksan ile kullanılır ve bir sujeye tümör-güdümlü  
 10 taksan ile aynı anda, hemen hemen aynı anda, ayrı ayrı bir şekilde veya sırayla uygulanır; ve  
 tümör-güdümlü taksan *nab*-paklitaksel veya *nab*-dosetaksel içerir.
3. İstem 1 veya 2'ye göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada tümör-güdümlü taksan *nab*-paklitakseldir.
- 15 4. İstem 1-3'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada:  
 bileşim/bileşimler doğrudan uygulama için formüle edilir;  
 hiyalüronidaz konsantrasyonu tümörle ilişkili hiyalüronanı parçalamak için yeterlidir; ve  
 20 tümör-güdümlü taksanın konsantrasyonu taksanın tümör içine iletimini sağlamak için yeterlidir.
5. İstem 1-4'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, bir kemoterapi maddesi olan bir nükleosid analogu içeren bir bileşimi ayrıca içerir.
6. İstem 5'e göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada nükleosid analogu kemoterapi maddesi olan bir purin veya pirimidin nükleosid analogu veya bunların ön-ilacı arasında seçilir.  
 25
7. İstem 5'e göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada:  
 bileşim/bileşimler doğrudan uygulama için formüle edilir; ve

nükleosid analogunun konsantrasyonu tümör içine iletimi sağlamak için yeterlidir.

8. İstem 5-7'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada:

nükleosid analogu veya bunun ön-ilacı hiyalüronidaz ve tümör-güdümlü taksandan ayrı bir şekilde sağlanır; veya

nükleosid analogu veya bunun ön-ilacı hiyalüronidazla birlikte formüle edilir; veya nükleosid analogu veya bunun ön-ilacı tümör-güdümlü taksanla birlikte formüle edilir; veya

nükleosid analogu veya bunun ön-ilacı hiyalüronidaz ve tümör-güdümlü taksanla birlikte formüle edilir.

9. İstem 1-8'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada bileşim/bileşimler tek veya birden fazla dozaj uygulaması için formüle edilir.

10. İstem 1-9'dan herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada hiyalüronidaz bileşimi 50 Birim (U)/ml ve 15,000 U/mL, 10 U/mL ve 500 U/mL, 1000 U/mL ve 15,000 U/mL, 100 U/mL ve 5,000 U/mL, 500 U/mL ve 5,000 U/mL veya 100 U/mL ve 400 U/ml arasında hiyalüronidaz aktivitesi içerir.

11. İstem 1-10'dan herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada hiyalüronidaz bir PH20 veya bunun bir C-ucu glikosilfosfatidilinositol (GPI) bağlanma bölgesi veya GPI bağlanma bölgesinin bir bölümünü içermeyen kesilmiş formudur.

12. İstem 1-11'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada:

hiyalüronidaz bir kesilmiş PH20'dir;

hiyalüronidaz nötr aktif ve çözünebilirdir; ve

kesilmiş PH20, DİZİ ID NO:1'deki amino asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisi içerir veya DİZİ ID NO:1'deki en az amino asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisine en az %85, %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96,

%97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisi içerir.

- 5 **13.** İstem 1-12'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada hiyalüronidaz DİZİ ID NO: 4-9, 47, 48, 150-170 ve 183-189'dan herhangi birinde verilen amino asit dizisini içeren veya DİZİ ID NO: 4-9, 47, 48, 150-170 ve 183-189'dan herhangi birinde verilen bir amino asit dizisine en az %85, %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliği sergileyen ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisi içeren bir PH20'dir.
- 10 **14.** İstem 1-13'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada tümör-güdümlü taksan bileşimi 0.01 mg taksan/mL ve 100 mg/mL, örneğin 1 mg/mL ve 50 mg/ml, 2.5 mg/mL ve 25 mg/mL, 5 mg/mL ve 15 mg/mL veya 10 mg/mL ve 100 mg/mL arasında bir tümör-güdümlü taksan konsantrasyonu içerir.
- 15 **15.** İstem 5-14'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada nükleosid analogu floropirimidin 5-florourasil, 5-floro-2'-deoksisitidin, sitarabin, gempitabin, troksasitabin, desitabin, Azasitidin, psödoizositidin, Zebularin, Ansitabin, Fazarabin, 6-azasitidin, kapesitabin, N<sup>4</sup>-oktadesil-sitarabin, elaidik asit sitarabin, fludarabin, kladribin, klofarabin, nelarabin, forodesin ve pentostatin veya bunların türevleri arasından seçilir.
- 20 **16.** İstem 5-14'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada nükleosid analogu gempitabindir.
- 17.** İstem 5-15'ten herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada nükleosid analogu bir nükleosid deaminaz için bir substrattır ve nükleosid deaminaz, adenosin deaminaz veya sitidin deaminazdır.
- 25 **18.** İstem 5-17'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada nükleosid analogu bileşimi 1 mg nükleosid analogu/ml ve 500 mg/ml, 5 mg/mL ve 100 mg/ml, 10 mg/mL ve 50 mg/mL, 25 mg/mL ve 200 mg/mL veya 20 mg/mL ve 100 mg/mL arasında bir nükleosid analogu konsantrasyonu içerir.



19. İstem 1-18'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, ayrıca bir glükokortikoid içeren bir bileşim içerir.
20. İstem 1-19'dan herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada polimer bir polialkilen glikol, dekstran, pululan veya selülozdur.
- 5 21. İstem 20'ye göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, burada polialkilen glikol polietilen glikoller (PEG'ler) ve metoksipolietilen glikoller (mPEG'ler) arasından seçilir.
22. İstem 1-21'den herhangi birine göre kullanım için kombinasyon veya bileşim olup, bir kit olarak paketlenir ve isteğe bağlı olarak kullanım talimatları içerir.
- 10 23. İstem 1'e göre kullanım için kombinasyon olup, burada hiyalüronidaz veya tümör-güdümlü taksan tek bir bileşim halinde uygulama için birlikte formüle edilir.

## TARİFNAME

### HİYALÜRONİDAZ VE BİR TÜMÖR-GÜDÜMLÜ TAKSAN İLE KOMBİNASYON TERAPİSİ

#### BULUŞUN ALANI

5 Burada, bir anti-hiyalüronan madde, örneğin bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan-parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan ve isteğe bağlı olarak bir başka kemoterapi maddesi, örneğin bir nükleosid analogu içeren kombinasyon terapisi sağlanmaktadır. Kombinasyon terapisi kanserlerin ve özellikle katı tümör kanserlerinin tedavisine yönelik usullerde kullanılabilir.

#### 10 BULUŞ İLE İLGİLİ BİLİNEREN HUSUSLAR

Anti-hiyalüronan maddeleri, örneği hiyalüronan-parçalayan enzimler, ör., PH20, kanserler ve özellikle hiyalüronanla ilişkili kanserler ve tümörler dahil, hiyalüronanla ilişkili hastalıklar veya rahatsızlıkların tedavilerinde kullanılmaktadır. Hiyaluronan (hiyalüronik asit; HA) memelilerde baskın olarak bağ dokuları, deri, kıkırdak ve sinovyal  
15 sıvıda mevcut olan bir glikozaminoglikandır. Bağ dokusunda, hiyaluronan ile ilişkili hidrasyon suyu dokular arasında hidratlı matrisler oluşturur. HA bir çok hücrede, özellikle yumuşak bağ dokularında hücre-dışı matris içinde bulunmaktadır. Belirli hastalıklar, katı tümörler dahil, hiyalüronan ekspresyonu ve/veya üretimiyle ilişkilidir. Anti-hiyalüronan maddeleri, HA sentezi veya parçalanmasını modüle eden, böylece bir doku veya  
20 hücredeki HA seviyelerini değiştiren maddelerdir. Özellikle, hiyalüronidazlar hiyalüronanı parçalayan enzimlerdir. HA parçalanmasını katalize ederek, hiyalüronidazlar kanserler ve tümörler dahil HA veya başka glikozaminoglikanların birikmesiyle ilişkili hastalıkları veya rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılabilir. Kanserlerin ve özellikle katı tümör kanserlerinin tedavisi için, geliştirilmiş veya alternatif  
25 terapötik tedavilere ihtiyaç vardır.

#### ÖZET

Mevcut buluş pankreas kanseri tedavisinde kullanılmak üzere bir bileşim kombinasyonu sağlamaktadır, burada kombinasyon şunları içerir: bir polimere konjüğe edilmiş bir

hiyalüronidaz içeren bir birinci bileşim ve bir tümör-güdümlü taksan içeren bir ikinci bileşim, burada tümör-güdümlü taksan *nab*-paklitaksel veya *nab*-dosetaksel içerir.

Buluş ayrıca pankreas kanseri tedavisinde kullanılmak üzere bir polimere konjüge edilmiş bir hiyalüronidaz içeren bir bileşim sağlamaktadır, burada hiyalüronidaz bir tümör-  
5 güdümlü taksan ile kullanılır ve tümör-güdümlü taksan ile bir hastaya eşzamanlı olarak, hemen hemen eşzamanlı olarak, ayrı ayrı veya sırayla uygulanır ve tümör-güdümlü taksan *nab*-paklitaksel veya *nab*-dosetaksel içerir.

Burada bir anti-hiyalüronan maddesi içeren bir bileşim ve bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşim içeren kombinasyonlar sağlanmaktadır. Burada ayrıca bir anti-  
10 hiyalüronan maddesi içeren bir bileşim, bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşim ve bir nükleosid analogu içeren bir bileşim içeren kombinasyonlar sağlanmaktadır. Burada sağlanan kombinasyonların herhangi biri ayrıca bir kortikosteroid içeren bir bileşim içerebilir. Burada pankreas kanseri tedavisinde kullanılmak üzere kombinasyonlar veya bileşimler sağlanmaktadır, burada bir anti-hiyalüronan maddesi içeren bir bileşim ve bir  
15 tümör-güdümlü taksan formülasyonu içeren bir bileşim uygulanır. Bazı örneklerde, usuller ayrıca bir nükleosid analogu içeren bir bileşimin uygulanmasını içerir. Bazı örneklerde, usuller ayrıca bir kortikosteroidin uygulanmasını içerir. Yine bazı örneklerde, usuller ayrıca bir kanser tedavisinin uygulanmasını içerir. Bu tip kombinasyonlar ve usullerde, maddeler burada açıklandığı gibi terapötik olarak etkili miktarlarda sağlanır.

Burada ayrıca kombinasyon terapisinin tıbbi kullanımları açıklanmaktadır. Örneğin, burada pankreas kanseri tedavisi için bir anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-güdümlü taksanın kullanımları açıklanmaktadır, burada anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-  
20 güdümlü taksan ayrı ayrı bir şekilde veya birlikte formüle edilir. Burada ayrıca pankreas kanseri tedavisi için bir anti-hiyalüronan maddesinin kullanımları sağlanmaktadır, burada bahsedilen tedavi bir hastaya aynı anda, ayrı bir şekilde veya sırayla bir tümör-güdümlü taksan uygulanmasını içerir. Burada ayrıca pankreas kanseri tedavisinde kullanım için bir anti-hiyalüronan maddesi içeren bileşimler sağlanmaktadır, burada bahsedilen tedavi bir hastaya aynı anda, ayrı bir şekilde veya sırayla bir tümör-güdümlü taksan uygulanmasını içerir. Buradaki tıbbi kullanım örneklerinde, tedavi ayrıca bir hastaya anti-hiyalüronan  
25 maddesi veya tümör-güdümlü taksan ile aynı anda, ayrı bir şekilde veya sırayla bir nükleosid analogunun uygulanmasını içerebilir. Diğer veya ek örneklerde, tedavi anti-

hiyalüronan maddesi ile aynı anda, ayrı bir şekilde veya sırayla bir kortikosteroid uygulanmasını içerebilir.

Burada sağlanan kombinasyonlar, bileşimler ve kullanımlarda, anti-hiyalüronan maddesi bir hiyalüronan parçalayan enzimdir veya hiyalüronan sentezini inhibe eden bir maddedir.

5 Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi bir hiyalüronidaz olan bir hiyalüronan parçalayan enzimdir. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzimdir. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi bir HA sentaza karşı bir sense veya antisense nükleik asit molekülünden seçilen veya bir küçük molekülü ilaç olan, hiyalüronan sentezini inhibe eden bir maddedir. Bazı

10 örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi 4-metilumbelliferon (MU) veya bunun bir türevi veya leflunomid veya bunun bir türevinden seçilen bir küçük molekülü ilaçtır. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi 6,7-dihidroksi-4-metil kumarin veya 5,7-dihidroksi-4-metil kumarinden seçilen bir 4-metilumbelliferon (MU) türevi olan bir küçük molekülü ilaçtır.

15 Burada bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bir bileşim ve bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşim içeren kombinasyonlar sağlanmaktadır. Burada ayrıca bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bir bileşim, bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşim ve bir nükleosid analogu içeren bir bileşim içeren kombinasyonlar sağlanmaktadır. Burada sağlanan kombinasyonların

20 herhangi biri ayrıca bir kortikosteroid içeren bir bileşim içerebilir. Burada pankreas kanseri tedavisinde kullanılmak üzere kombinasyonlar veya bileşimler sağlanmaktadır, burada bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bir bileşim ve bir tümör-güdümlü taksan formülasyonu içeren bir bileşim uygulanır. Bazı örneklerde, usuller ayrıca bir nükleosid analogu içeren bir bileşimin uygulanmasını içerir. Bazı

25 örneklerde, usuller ayrıca bir kortikosteroidin uygulanmasını içerir. Yine bazı örneklerde, usuller ayrıca bir kanser tedavisinin uygulanmasını içerir.

Burada bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bir bileşim, burada hiyalüronan parçalayan enzim bir polimere konjüğe edilir; ve bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşim içeren kombinasyonlar ve kullanımlar sağlanmaktadır. Bazı kombinasyon

30 örneklerinde, bileşimler doğrudan uygulama için formüle edilir, hiyalüronan parçalayan enzimin konsantrasyonu tümörle ilişkili hiyalüronanın parçalanması yeterlidir ve tümör-

güdümlü taksanın konsantrasyonu tümör-içi iletim elde etmek için yeterlidir. Bazı örneklerde, tümör-güdümlü taksan formülasyonunun konsantrasyonu tümör-içi nükleosid deaminaz proteini seviyelerini veya protein aktivitesini tümör-içi taksan formülasyonu olmadığındaki nükleosid deaminaz seviyeleri veya aktivitesine kıyasla düşürmek için yeterlidir. Kombinasyonların bazı örneklerinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan birlikte formüle edilir. Kombinasyonların bazı örneklerinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan ayrı ayrı sağlanır.

Örneklerin herhangi birinde, sağlanan kombinasyonlar ayrıca bir nükleosid analogu içeren bir bileşim içerir. Belirli örneklerde, bileşim doğrudan uygulama için formüle edilir ve nükleosid analogunun konsantrasyonu tümör-içi iletim elde etmek için yeterlidir. Bazı kombinasyon örneklerinde, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksandan ayrı bir şekilde sağlanır. Bazı kombinasyon örneklerinde, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzimle birlikte formüle edilir veya tümör-güdümlü taksan ile birlikte formüle edilir. Yine bazı kombinasyon örneklerinde, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan ile birlikte formüle edilir.

Burada açıklanan herhangi bir kombinasyon, usul ve kullanım örneğinde, bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimler, bir tümör-güdümlü taksan içeren bileşimler ve/veya bir nükleosid analogu içeren bileşimler birden fazla dozaj uygulaması için formüle edilir. Burada sağlanan bazı kombinasyon örneklerinde, bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimler, bir tümör-güdümlü taksan içeren bileşimler ve/veya bir nükleosid analogu içeren bileşimler tek bir dozaj uygulaması için formüle edilir.

Burada açıklanan herhangi bir kombinasyon, usul ve kullanım örneğinde, hiyalüronan parçalayan enzim bileşimi 0.5 µg ila 50 mg, 100 µg ila 1 mg, 1 mg ila 20 mg, 100 µg ila 5 mg, 0.5 µg ila 1450 µg, 1 µg ila 1000 µg, 5 µg ila 1250 µg, 10 µg ila 750 µg, 50 µg ila 500 µg, 0.5 µg ila 500 µg, 500 µg ila 1450 µg arasında veya yaklaşık olarak arasında bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim içerir. Burada sağlanan bazı kombinasyon örneklerinde, bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin özgül aktivitesi en az veya yaklaşık 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 veya daha fazladır. Burada sağlanan bazı kombinasyon örneklerinde,

hiyalüronan parçalayan enzim bileşimi 150 Birim (U) ila 60,000 U, 300 U ila 30,000 U, 500 U ila 25,000 U, 500 U ila 10,000 U, 150 U ila 15,000 U, 150 U ila 5000 U, 500 U ila 1000 U, 5000 U ila 45,000 U 10,000 U ila 50,000 U veya 20,000 U ila 60,000 U arasında veya yaklaşık olarak arasında bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim

5 içerir. Hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimin hacmi 0.5 mL ila 100 mL, 0.5 mL ila 50 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 40 mL, 1 mL ila 20 mL, 1 mL ila 10 mL veya 3 mL ila 10 mL arasında olabilir veya yaklaşık olarak arasında olabilir. Burada sağlanan bazı kombinasyon örneklerinde, bir hiyalüronan parçalayan içeren bileşim histidin ve/veya NaCl içerir. Bazı örneklerde, bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşim 6.0 ila 7.4

10 arasında veya yaklaşık olarak arasında bir pH'ye sahiptir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim bir hiyalüronidazdır. Örneğin, hiyalüronidaz bir PH20 veya bunun bir C-ucu glikofosfatidilinositol (GPI) bağlanma bölgesi veya GPI bağlanma bölgesini bir bölümünü içermeyen kesilmiş formu olabilir. Bazı örneklerde,

15 hiyalüronidaz bir insan veya insan olmayan PH20 olan bir PH20'dir. Bir özel örnekte, hiyalüronan parçalayan enzim bir kesilmiş PH20'dir ve kesilmiş PH20 DİZİ ID NO:1'deki amino asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisi içerir veya DİZİ ID NO:1'deki en az amino asit 36-464'ü içeren ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisine en az %85 dizi özdeşliğine sahip olan bir amino asit dizisi içerir. Bazı örneklerde, hiyalüronidaz

20 DİZİ ID NO:1'deki en az amino asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisine en az %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisi içeren PH20'dir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, PH20

25 DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 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 veya 500'den sonra bir C-ucu kesigi içeren bir amino asit dizisi içerir veya bunun DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476,

30 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 veya 500'den sonra bir C-ucu kesigi içeren ve hiyalüronidaz

aktivitesini koruyan bir amino asit dizisine en az %85 dizi özdeşliği sergileyen bir varyantıdır. Örneğin, PH20 DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 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, 5 499 veya 500'den sonra bir C-ucu kesiği içeren ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisine en az %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan bir amino asit dizisi içerir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, tümör-güdümlü taksan paklitaksel veya dosetakselidir. Tümör-güdümlü taksan bir tümör hedef alan parçaya doğrudan veya dolaylı olarak bağlanabilir. Bazı örneklerde, tümör-güdümlü taksan bir misel, nano-tanecik, mikro-küre, lipozomlar veya hidrojel arasından seçilen bir iletim aracı olarak formüle edilir. İletim aracı bir tümör hedef alan parçaya doğrudan veya dolaylı olarak bağlanabilir. Bazı örneklerde, tümör hedef alan parça bir makro-molekül, bir protein, bir peptid, bir monoklonal antikor veya bir yağ asidi lipidi arasında seçilir. 10 Bazı örneklerde, tümör hedef alan parça setuksimab veya trastuzumab arasından seçilen bir monoklonal antikordur. Yine bazı örneklerde, tümör hedef alan parça albümindir. Mevcut istemlere göre, tümör-güdümlü taksan albümine-bağlı paklitaksel veya albümine-bağlı dosetakselidir. 15

Burada açıklanan herhangi bir kombinasyon, usul ve kullanım örneğinde, tümör-güdümlü taksan bileşimi 10 mg ila 1000 mg, örneğin 20 mg ila 500 mg, 10 mg ila 250 mg, 75 mg ila 400 mg, 100 mg ila 200 mg, 150 mg ila 400 mg, 200 mg ila 800 mg, 50 mg ila 200 mg veya 50 mg ila 150 mg arasında veya yaklaşık olarak arasında tümör-güdümlü taksan içerir. Bazı örneklerde, bir tümör-güdümlü taksan içeren bileşimin hacmi 0.5 mL ila 100 mL, 1 mL ila 500 mL, 0.5 mL ila 50 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 40 mL, 1 mL 20 mL, 1 mL ila 10 mL veya 3 mL ila 10 mL arasında olabilir veya yaklaşık olarak arasında olabilir. 20 25

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, nükleosid analogu bir purin veya pirimidi analogu veya bunların türevleridir. Bazı örneklerde, nükleosid analogu floropirimidin 5-florourasil, 5-floro-2'-deoksisitidin, 30 sitarabin, gemitabin, troksasitabin, desitabin, Azasitidin, psödoizositidin, Zebularin, Ancitabin, Fazarabin, 6-azasitidin, kapesitabin, N<sup>4</sup>-oktadesil-sitarabin, elaidik asit

sitarabin, fludarabin, kladribin, klofarabin, nelarabin, forodesin ve pentostatin veya bunların türevleri arasından seçilir. Bir örnekte, nükleosid analogu bir adenosin deaminaz veya sitidin deaminaz olan bir nükleosid deaminaz için bir substrattır. Bazı örneklerde, nükleosid analogu fludarabin, sitarabin, gempitabin, desitabin ve azasitidin veya bunların 5 türevleri arasından seçilir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, nükleosid analogu bileşimi 100 mg ila 5000 mg, 500 mg ila 5000 mg, 500 mg ila 2500 mg, 1000 mg ila 2500 mg, 1500 mg ila 2500 mg veya 2000 mg ila 5000 mg bir nükleosid analogu içerir veya içerecek şekilde formüle edilir. Bazı örneklerde, bir 10 nükleosid analogu içeren bileşimin hacmi 0.5 mL ila 1000 mL, örneğin 0.5 mL ila 100 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 500 mL, 1 mL ila 10 mL arasında olabilir veya yaklaşık olarak arasında olabilir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi biri ayrıca bir kortikosteroid içeren bir bileşim içerebilir. Bazı örneklerde, kortikosteroid kortizonlar, 15 deksametazonlar, hidrokortizonlar, metilprednizolonlar, prednizolonlar ve prednizonlar arasından seçilen bir glukokortikoiddir. Bazı örneklerde, kortikosteroid bileşimi yaklaşık 0.1 ila 20 mg, 0.1 ila 15 mg, 0.1 ila 10 mg, 0.1 ila 5 mg, 0.2 ila 20 mg, 0.2 ila 15 mg, 0.2 ila 10 mg, 0.2 ila 5 mg, 0.4 ila 20 mg, 0.4 ila 15 mg, 0.4 ila 10 mg, 0.4 ila 5 mg, 0.4 ila 4 mg, 1 ila 20 mg, 1 ila 15 mg veya 1 ila 10 mg arasında kortikosteroid içerir veya 20 içerecek şekilde formüle edilir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, bileşim/bileşimler ağız yoluyla, intravenöz (IV), subkutan, intramüsküler, intra-tümöral, intradermal, topikal, transdermal, rektal, intratekal veya deri altına uygulama için formüle edilir. Örneğin, bileşim/bileşimler intravenöz uygulama veya subkutan uygulama için 25 formüle edilir.

Burada açıklanan kombinasyon, usul ve kullanım örneklerinin herhangi birinde, polimer bir polialkilen glikol, dekstran, pullulan veya selülozdur. Bir örnekte, polimer polietilen glikoller (PEG) veya metoksi-polietilen glikoller (mPEG) arasından seçilen bir polialkilen glikoldür. Bir özel örnekte, polimer bir PEG'dir ve PEG bir dallanmış veya doğrusal 30 PEG'dir. Bazı örneklerde, polimer aşağıdakilerle tepkimeyle üretilir: metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil bütanoat (mPEG-SBA) (5 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-



süksinimidil bütanoat (mPEG-SBA) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil bütanoat (mPEG-SBA) (30 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil  $\alpha$ -metilbütanoat (mPEG-SMB) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil  $\alpha$ -metilbütanoat (mPEG-SMB) (30 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-bütiraldehit (mPEG-bütiraldehit) (30 kDa), metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil propionat (mPEG-SPA) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil propionat (mPEG-SPA) (30 kDa); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (10 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (20 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (40 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (60 kDa dallanmış); biotin-poli(etilen glikol)-N-hidroksisüksinimid ester (biotin-PEG-NHS) (5 kDa biyotinlenmiş); poli(etilen glikol)-p-nitrofenil karbonat (PEG-p-nitrofenil-karbonat) (30 kDa); veya poli(etilen glikol)-priopionaldehit (PEG-priopionaldehit) (30 kDa). Özel örneklerde, polimer 30 veya yaklaşık 30 kilodalton molekül ağırlığına sahip olan bir PEG'dir.

Burada sağlanan kombinasyonların herhangi biri bir kit olarak paketlenabilir ve isteğe bağlı olarak kullanım talimatları içerebilir.

Burada ayrıca pankreas kanseri tedavisinde kullanım için kombinasyonlar veya bileşimler sağlanmaktadır, burada bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bir bileşim uygulanır ve bir tümör-güdümlü taksan formülasyonu içeren bir bileşim uygulanır. Usul örneklerinin herhangi birinde, bir nükleosid analogu içeren bir bileşim de uygulanır.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, kanser bir tümördür. Bir örnekte, tümör bir katı tümördür. Buradaki usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, aynı doku tipindeki kanserli olmayan bir dokuya kıyasla veya aynı tümör tipindeki bir metastatik olmayan tümöre kıyasla, tümör yüksek hücre sel ve/veya stromal hiyalüronan ekspresyonuna sahiptir. Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, kanser pankreas kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, serviks kanseri, baş ve boyun kanseri ve meme kanseri arasından seçilir. Mevcut istemlere göre, kanser pankreas kanseridir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim bir hiyalüronidazdır. Örneğin, hiyalüronidaz bir PH20 veya bunun bir C-ucu glikofosfatidilinositol (GPI) bağlanma bölgesi veya GPI bağlanma bölgesini bir bölümünü içermeyen kesilmiş formudur. Bir özel örnekte, hiyalüronidaz bir insan veya

5 insan olmayan PH20 olan bir PH20'dir. Bir özel örnekte, hiyalüronan parçalayan enzim bir kesilmiş PH20'dir ve kesilmiş PH20 DİZİ ID NO:1'deki amino asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisi içerir veya DİZİ ID NO:1'deki en az amino asit 36-464'ü içeren ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisine en az %85 dizi özdeşliğine sahip olan bir amino asit dizisi içerir. Bazı örneklerde, PH20 DİZİ ID NO:1'deki en az amino

10 asit 36-464'ü içeren bir amino asit dizisine en az %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit dizisi içerir. Bazı örneklerde, PH20 DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 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,

15 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 veya 500'den sonra bir C-ucu kesigi içeren bir amino asit dizisi içerir veya bunun DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 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 veya 500'den sonra bir C-ucu kesigi içeren ve hiyalüronidaz aktivitesini

20 koruyan bir amino asit dizisine en az %85 dizi özdeşliği sergileyen bir varyantıdır. Yine bazı örneklerde, PH20 DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisinde amino asit konumu 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 veya 500'den sonra bir C-ucu kesigi içeren ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan bir amino asit

25 dizisine en az %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan bir amino asit dizisi içerir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, polimer bir polialkilen glikol, dekstran, pullulan veya selülozdur. Bir örnekte, polimer polietilen glikoller (PEG) veya metoksi polietilen glikoller (mPEG) arasından seçilen bir polialkilen

30 glikoldür. Bir özel örnekte, polimer bir PEG'dir ve PEG bir dallanmış veya doğrusal PEG'dir. Burada sağlanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, polimer aşağıdakilerle tepkimeyle üretilir: metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil bütanoat

(mPEG-SBA) (5 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil bütanoat (mPEG-SBA) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil bütanoat (mPEG-SBA) (30 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil  $\alpha$ -metilbütanoat (mPEG-SMB) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil  $\alpha$ -metilbütanoat (mPEG-SMB) (30 kDa);  
 5 metoksi-poli(etilen glikol)-bütiraldehit (mPEG-bütiraldehit) (30 kDa), metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil propionat (mPEG-SPA) (20 kDa); metoksi-poli(etilen glikol)-süksinimidil propionat (mPEG-SPA) (30 kDa); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (10 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (20 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (40 kDa dallanmış); (metoksi-poli(etilen glikol))<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid ester (mPEG<sub>2</sub>-NHS) (60 kDa dallanmış); biotin-poli(etilen glikol)-N-hidroksisüksinimid ester (biotin-PEG-NHS) (5 kDa biyotinlenmiş); poli(etilen glikol)-p-nitrofenil karbonat (PEG-p-nitrofenil-karbonat) (30 kDa); veya poli(etilen glikol)-priopionaldehit (PEG-propionaldehit)  
 10 (30 kDa). Bir özel örnekte, polimer 30 veya yaklaşık 30 kilodalton molekül ağırlığına sahip olan bir PEG'dir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim bileşimi 0.01  $\mu$ g/kg ila 25 mg/kg (hastanın), 0.5  $\mu$ g/kg ila 25 mg/kg, 0.5  $\mu$ g /kg ila 10 mg/kg, 0.02 mg/kg ila 1.5 mg/kg, 0.01  $\mu$ g/kg ila 15  $\mu$ g/kg, 0.05  $\mu$ g/kg  
 20 ila 10  $\mu$ g/kg, 0.75  $\mu$ g/kg ila 7.5  $\mu$ g/kg veya 1.0  $\mu$ g/kg ila 3.0  $\mu$ g/kg (hastanın) arasında veya yaklaşık olarak arasında bir dozaj aralığında uygulanır veya uygulama için formüle edilir. Burada sağlanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim 1 Birim/kg ila 800,000 Birim/kg (hastanın), örneğin 10 ila 800,000 Birim/kg, 10 ila 750,000 Birim/kg, 10 ila 700,000 Birim/kg, 10 ila 650,000 Birim/kg, 10  
 25 ila 600,000 Birim/kg, 10 ila 550,000 Birim/kg, 10 ila 500,000 Birim/kg, 10 ila 450,000 Birim/kg, 10 ila 400,000 Birim/kg, 10 ila 350,000 Birim/kg, 10 ila 320,000 Birim/kg, 10 ila 300,000 Birim/kg, 10 ila 280,000 Birim/kg, 10 ila 260,000 Birim/kg, 10 ila 240,000 Birim/kg, 10 ila 220,000 Birim/kg, 10 ila 200,000 Birim/kg, 10 ila 180,000 Birim/kg, 10 ila 160,000 Birim/kg, 10 ila 140,000 Birim/kg, 10 ila 120,000 Birim/kg, 10 ila 100,000  
 30 Birim/kg, 10 ila 80,000 Birim/kg, 10 ila 70,000 Birim/kg, 10 ila 60,000 Birim/kg, 10 ila 50,000 Birim/kg, 10 ila 40,000 Birim/kg, 10 ila 30,000 Birim/kg, 10 ila 20,000 Birim/kg, 10 ila 15,000 Birim/kg, 10 ila 12,800 Birim/kg, 10 ila 10,000 Birim/kg, 10 ila 9,000

Birim/kg, 10 ila 8,000 Birim/kg, 10 ila 7,000 Birim/kg, 10 ila 6,000 Birim/kg, 10 ila 5,000 Birim/kg, 10 ila 4,000 Birim/kg, 10 ila 3,000 Birim/kg, 10 ila 2,000 Birim/kg, 10 ila 1,000 Birim/kg, 10 ila 900 Birim/kg, 10 ila 800 Birim/kg, 10 ila 700 Birim/kg, 10 ila 500 Birim/kg, 10 ila 400 Birim/kg, 10 ila 300 Birim/kg, 10 ila 200 Birim/kg, 10 ila 100 Birim/kg, 16 ila 600,000 Birim/kg, 16 ila 500,000 Birim/kg, 16 ila 400,000 Birim/kg, 16 ila 350,000 Birim/kg, 16 ila 320,000 Birim/kg, 16 ila 160,000 Birim/kg, 16 ila 80,000 Birim/kg, 16 ila 40,000 Birim/kg, 16 ila 20,000 Birim/kg, 16 ila 16,000 Birim/kg, 16 ila 12,800 Birim/kg, 16 ila 10,000 Birim/kg, 16 ila 5,000 Birim/kg, 16 ila 4,000 Birim/kg, 16 ila 3,000 Birim/kg, 16 ila 2,000 Birim/kg, 16 ila 1,000 Birim/kg, 16 ila 900 Birim/kg, 16 ila 800 Birim/kg, 16 ila 700 Birim/kg, 16 ila 500 Birim/kg, 16 ila 400 Birim/kg, 16 ila 300 Birim/kg, 16 ila 200 Birim/kg, 16 ila 100 Birim/kg, 160 ila 12,800 Birim/kg, 160 ila 8,000 Birim/kg, 160 ila 6,000 Birim/kg, 160 ila 4,000 Birim/kg, 160 ila 2,000 Birim/kg, 160 ila 1,000 Birim/kg, 160 ila 500 Birim/kg, 500 ila 5000 Birim/kg, 1000 ila 100,000 Birim/kg veya 1000 ila 10,000 Birim/kg (hastanın) arasında veya yaklaşık olarak arasında bir dozaj rejiminde uygulanır veya uygulama için formüle edilir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, tümör-güdümlü taksan paklitaksel veya dosetakselidir. Tümör-güdümlü taksan bir tümör hedef alan parçaya doğrudan veya dolaylı olarak bağlanabilir. Bazı örneklerde, tümör-güdümlü taksan bir misel, nano-tanecik, mikro-küre, lipozomlar veya hidrojel arasından seçilen bir iletim aracı olarak formüle edilir. İletim aracı bir tümör hedef alan parçaya doğrudan veya dolaylı olarak bağlanabilir. Bazı örneklerde, tümör hedef alan parça bir makro-molekül, bir protein, bir peptid, bir monoklonal antikor veya bir yağ asidi lipidi arasında seçilir. Bazı örneklerde, tümör hedef alan parça setuksimab veya trastuzumab arasından seçilen bir monoklonal antikordur. Mevcut istemlere göre, tümör hedef alan parça albümindir. Tümör-güdümlü taksan albümine-bağlı paklitaksel veya albümine-bağlı dosetakselidir. Burada sağlanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, tümör-güdümlü taksan  $1 \text{ mg/m}^2$  ila  $1000 \text{ mg/m}^2$  (hastanın vücut yüzey alanı),  $10 \text{ mg/m}^2$  ila  $500 \text{ mg/m}^2$ ,  $50 \text{ mg/m}^2$  ila  $400 \text{ mg/m}^2$  veya  $25 \text{ mg/m}^2$  ila  $300 \text{ mg/m}^2$  arasında veya yaklaşık olarak arasında bir dozaj aralığında uygulanır veya uygulama için formüle edilir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, nükleosid analogu bir purin veya pirimidi analogu veya bunların türevleridir. Örneklerin herhangi birinde,

nükleosid analogu floropirimidin 5-florourasil, 5-floro-2'-deoksisitidin, sitarabin, gemsitabin, troksasitabin, desitabin, Azasitidin, psödoizositidin, Zebularin, Ansitabin, Fazarabin, 6-azasitidin, kapesitabin, N<sup>4</sup>-oktadesil-sitarabin, elaidik asit sitarabin, fludarabin, kladribin, klofarabin, nelarabin, forodesin ve pentostatin veya bunların 5 türevleri arasından seçilir. Bir özel örnekte, nükleosid analogu bir nükleosid deaminaz için bir substrattır ve nükleosid deaminaz bir adenosin deaminaz veya sitidin deaminazdır. Örneklerde, nükleosid analogu fludarabin, sitarabin, gemsitabin, desitabin ve azasitidin veya bunların türevleri arasından seçilir. Yine bazı örneklerde, nükleosid analogu gemsitabin veya bunun bir türevidir. Burada sağlanan usul veya kullanım örneklerinin 10 herhangi birinde, nükleosid analogu 100 mg/m<sup>2</sup> ila 2500 mg/m<sup>2</sup>, 500 mg/m<sup>2</sup> ila 2000 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup>, 1000 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup> veya 500 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup> arasında veya yaklaşık olarak arasında bir dozaj aralığında uygulanır veya uygulama için formüle edilir. Burada sağlanan bazı usul veya kullanım örneklerinde, nükleosid analogu en az veya en az yaklaşık 200 mg/m<sup>2</sup> veya 500 mg/m<sup>2</sup>, ancak 1000 15 mg/m<sup>2</sup> veya 1250 mg/m<sup>2</sup>'den düşük bir miktarda uygulanır veya uygulama için formüle edilir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, bileşim/bileşimler 20 ağız yoluyla, intravenöz (IV), subkutan, intramüsküler, intra-tümöral, intradermal, topikal, transdermal, rektal, intratekal veya deri altına uygulanır veya uygulama için formüle edilir. Bir özel örnekte, bileşim/bileşimler intravenöz veya subkutan olarak uygulanır. Buradaki usuller veya kullanımların herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim tümör-güdümlü taksandan önce, aynı anda veya hemen hemen aynı anda, sırayla veya fasıllı olarak uygulanır veya kullanılır.

Burada açıklanan usul örneklerinde, hiyalüronan parçalayan enzim tümör-güdümlü 25 taksanın uygulanmasından önce uygulanır. Bir örnekte, hiyalüronan parçalayan enzim tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat önce uygulanır. Burada sağlanan bir başka usul örneğinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör- 30 güdümlü taksan aynı anda veya hemen hemen aynı anda uygulanır.

Burada açıklanan usul örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzimi uygulama sıklığı haftada iki kez, haftada bir kez, 14 günde bir, 21 günde bir veya ayda birdir. Bazı örneklerde, tümör-güdümlü taksan uygulama sıklığı haftada iki kez, haftada bir kez, 14 günde bir, 21 günde bir veya ayda birdir. Burada sağlanan usul veya kullanım  
5 örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksan nükleosid analogundan önce, aynı anda veya hemen hemen aynı anda, sırayla veya fasıllı olarak uygulanır veya uygulanacak şekilde formüle edilir.

Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan bir uygulama döngüsü halinde önceden  
10 belirlenmiş bir sayıda hafta boyunca uygulanır. Bir örnekte, önceden belirlenmiş sayıda hafta en az iki hafta, en az üç hafta veya en az dört hafta olabilir. Bazı örneklerde, hiyalüronan parçalayan enzim nükleosid analogunun uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya  
15 48 saat önce uygulanır. Bazı örneklerde, tümör-güdümlü taksan nükleosid analogunun uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat veya 24 saat önce uygulanır. Bir özel örnekte, tümör-güdümlü taksan nükleosid analogu ile aynı anda veya hemen hemen aynı anda uygulanır. Sağlanan usullerde, nükleosid analogunu uygulama sıklığı haftada  
20 iki kez, haftada bir kez, 14 günde bir, 21 günde bir veya ayda birdir. Bazı örneklerde, nükleosid analogu bir uygulama döngüsü halinde önceden belirlenmiş bir sayıda hafta boyunca uygulanır. Örneğin, önceden belirlenmiş sayıda hafta en az iki hafta, en az üç hafta veya en az dört hafta olabilir. Burada sağlanan usullerin bir başka örneğinde, nükleosid analogunun önceden belirlenmiş sayıda hafta boyunca uygulanmasından sonra,  
25 bir birinci önceden belirlenmiş sayıda hafta boyunca uygulamaya ara verilir ve en az bir hafta boyunca tekrar başlanır.

Burada açıklanan özel usul ve kullanım örneklerinde, hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan nükleosid analogunun uygulanmasından önce uygulanır; aynı  
anda veya hemen hemen aynı anda uygulanır; ve önceden belirlenmiş bir sayıda hafta  
30 boyunca haftada iki veya haftada bir kez uygulama sıklığında uygulanır. Bazı örneklerde, önceden belirlenmiş sayıda hafta dört haftadır. Bu tip örneklerde, nükleosid analogu

hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat sonra uygulanır.

- 5 Burada açıklanan usul veya kullanım örneklerinin herhangi birinde, nükleosid analogu önceden belirlenmiş bir sayıda hafta boyunca haftada bir kez uygulanır. Bir örnekte, önceden belirlenmiş sayıda hafta üç haftadır. Bu tip örneklerde, uygulamaya en az bir hafta boyunca ara verilebilir.

10 Burada açıklanan usuller veya kullanımların herhangi birinde, uygulama döngüsü ve/veya uygulama arası birden fazla kez tekrarlanabilir. Bazı örneklerde, birinci uygulama döngüsündeki uygulama sıklığı müteakip uygulama döngülerindeki uygulama sıklığıyla aynı veya farklıdır. Örneğin, uygulama sıklığı birinci uygulama döngüsünde haftada iki kezdir ve müteakip uygulama döngülerinde haftada bir kezdir.

15 Burada açıklanan usuller veya kullanımların herhangi biri ayrıca bir kortikosteroid uygulanması aşaması veya bir kortikosteroid uygulanmasını içeren bir tedavi içerebilir. Bu tip örneklerin herhangi birinde, kortikosteroid kortizonlar, deksametazonlar, hidrokortizonlar, metilprednizolonlar, prednizolonlar ve prednizonlar arasından seçilebilen bir glükokortikoiddir. Bazı usul örneklerinde, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim uygulamasından önce, aynı anda, fasılalı olarak veya sonra uygulanır.

20 Bir örnekte, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim ile birlikte uygulanır. Bir başka örnekte, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim uygulamasından en az veya yaklaşık en az 1 saat önce uygulanır. Sağlanan usullerin bir başka örneğinde, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim uygulamasından en az 8 saat ila 12 saat sonra uygulanır. Bazı örneklerde, uygulanan veya uygulama için formüle edilen

25 kortikosteroid miktarı 0.1 ila 20 mg, 0.1 ila 15 mg, 0.1 ila 10 mg, 0.1 ila 5 mg, 0.2 ila 20 mg, 0.2 ila 15 mg, 0.2 ila 10 mg, 0.2 ila 5 mg, 0.4 ila 20 mg, 0.4 ila 15 mg, 0.4 ila 10 mg, 0.4 ila 5 mg, 0.4 ila 4 mg, 1 ila 20 mg, 1 ila 15 mg veya 1 ila 10 mg arasında veya yaklaşık olarak arasındadır. Kortikosteroid ağız yoluyla uygulanabilir.

30 Burada açıklanan usuller veya kullanımların herhangi biri ayrıca bir kanser tedavisinin uygulanmasını içerebilir. Bazı örneklerde, kanser tedavisi ameliyat, radyasyon, bir kemoterapi maddesi, bir biyolojik madde, bir polipeptid, bir antikor, bir peptid, bir küçük

molekül, bir gen terapisi vektörü, bir virüs ve DNA arasından seçilir. Burada sağlanan kombinasyonlar ve bileşimlerin herhangi biri bir insan olan bir hastayı tedavi etmek için kullanılabilir.

Burada ayrıca pankreas tedavisinde kullanım için bileşim kombinasyonları sağlanmaktadır. Burada sağlanan bileşim kombinasyonlarının herhangi biri kanser 5 tedavisi için kullanılabilir. Bazı örneklerde, kanser bir tümördür. Örneğin, kanser bir katı tümördür. Bazı örneklerde, aynı doku tipindeki kanserli olmayan bir dokuya kıyasla veya aynı tümör tipindeki bir metastatik olmayan tümöre kıyasla, tümör yüksek hücresel ve/veya stromal hiyalüronan ekspresyonuna sahiptir. Bazı örneklerde, kanser pankreas 10 kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, serviks kanseri, baş ve boyun kanseri ve meme kanseri arasından seçilir. Mevcut istemlere göre, kanser pankreas kanseridir. Burada ayrıca bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan içeren bir bileşimin içeren bir kombinasyonun bir nükleosid analogunun tümör-içi aktivitesini arttırmak için kullanımı 15 açıklanmaktadır.

### **ŞEKİLLERE YÖNELİK KISA AÇIKLAMA**

Şekil 1, bir fare BxPC-3 PDA tümör ksenogrefi modelinde PEGPH20 (P) ve/veya nab-paklitakselin (NAB, N) tümör büyümesi üzerindeki etkisini göstermektedir.

Şekil 2, bir fare BxPC-3 PDA tümör ksenogrefi modelinde çeşitli dozlarda gemitabin 20 (GEM) uygulanmasının tümör büyümesi üzerindeki etkisini göstermektedir.

Şekil 3, bir fare BxPC-3 PDA tümör ksenogrefi modelinde PEGPH20 (P), gemitabin (GEM, G) ve/veya nab-paklitakselin (NAB, N) tümör büyümesi üzerindeki etkisini göstermektedir.

Şekil 4, bir fare BxPC-3 PDA tümör ksenogrefi modelinde PEGPH20 (P), gemitabin 25 (GEM, G) ve/veya nab-paklitakselin (NAB, N) ile tedavi edilen farelerin orta hayatta kalma süresini göstermektedir.

Şekil 5, bir fare BxPC-3 PDA tümör ksenogrefi modelinde PEGPH20 (P), gemitabin (GEM, G) ve/veya nab-paklitakselin (NAB, N) ile tedavi edilen farelerin serumundaki CA19-9 (Şekil 5A) ve CEA işareti (Şekil 5B) seviyelerini göstermektedir.



Şekil 6, bir ksenogref modelinde PEGPH20 ve albümine konjüge edilmiş paklitakselin (Ab-pac) tümör büyümesi inhibisyonunu göstermektedir. Şekil 6A, MDA-MB-468/HAS3 tümör modelinde araç, albümine konjüge edilmiş paklitaksel (Ab-pac), PEGPH20 veya Ab-pac ve PEGPH20 ile tedavi edilen farelerdeki tümör büyümesi inhibisyonunu göstermektedir. Şekil 6B, MDA-MB-468/HAS3 tümör modelinde araç, 1 mg/kg oranında albümine konjüge edilmiş paklitaksel (Ab-pac), 3 mg/kg oranında Ab-pac, 1 mg/kg oranında Ab-pac ve PEGPH20 veya 10 mg/kg Ab-pac ile tedavi edilen farelerdeki tümör büyümesi inhibisyonunu göstermektedir.

## DETAYLI AÇIKLAMA

### 10 Taslak

#### A. Tanımlar

#### B. Anti-Hiyalüronan Maddesi Kombinasyon Terapisi

##### 1. Katı Tümörler ve Tümör Güdümlü Terapiler

##### a. Tümör-Güdümlü Taksan

##### 15 b. Anti-Hiyalüronan Maddesi

##### 2. Anti-Hiyalüronan Maddesi Ve Tümör-Güdümlü Taksan Kombinasyon Terapisi

#### C. Kombinasyon Terapisi Maddeleri

##### 1. Anti-Hiyalüronan Maddeleri

##### 20 a. Hiyalüronan Sentezini İnhibe Eden Maddeler

##### b. Hiyalüronan Parçalayan Enzimler Ve Polimere-Konjüge Edilmiş Hiyalüronan Parçalayan Enzimler

##### i. Hiyalüronidazlar

##### (a) Memeli-tipi hiyalüronidazlar PH20

##### 25 (b) Bakteriyel Hiyalüronidaz

##### (c) Sülükler, diğer parazitler ve kabuklulardan hiyalüronidazlar

##### ii. Diğer hiyalüronan parçalayan enzimler

##### iii. Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler

##### 30 (a) Çözünebilen İnsan PH20'si

## (b) rHuPH20

iv. Hiyalüronan parçalayan enzimlerin glikosilasyonu

v. Modifiye Edilmiş (Polimere-Konjüge Edilmiş) Hiyalüronan Parçalayan Enzimler

5 PEG'lenmiş Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler

## 2. Taksanlar ve Bunların Formülasyonları

a. Taksanlar

b. Tümör- veya Stromal-Güdümlü Taksanlar

10 Albümine-Bağlı Taksan

## 3. Ek Kemoterapi Maddesi (ör. Nükleosid Analogu)

## Örnek Nükleosid Analogları

i. Gempitabin

ii. Sitarabin

15 iii. Desitabin

iv. Azasitidin

## D. Hiyalüronan Parçalayan Enzimlerin Nükleik Asitleri Ve Kodlanmış Polipeptidlerini Üretme Usulleri

1. Vektörler ve Hücreler

20 2. Ekspresyon

a. Prokaryotik Hücreler

b. Maya Hücreleri

c. Böcek Hücreleri

d. Memeli Hücreleri

25 e. Bitkiler

3. Saflaştırma Teknikleri

4. Hiyalüronan Parçalayan Enzim Polipeptidlerinin PEG'lenmesi

## E. Farmasötik Bileşimler ve Formülasyonlar

1. Formülasyonlar

30 a. Enjekte edilebilir bileşimler, çözeltiler ve emülsiyonlar

b. Liyofilize tozlar

c. Topikal uygulama

d. Diğer uygulama yollarına yönelik bileşimler

2. Formülasyon Miktarları

3. Paketleme ve Mamul Ürünler

F. Aktivite, Biyoyararlanım ve Farmakokinetileri Değerlendirme Usulleri

5 1. *In Vitro* Analizler

a. Bir Hiyalüronan Parçalayan Enzimin Hiyalüronidaz Aktivitesi

b. Taksan Aktivitesi

c. Antikanser Aktivitesi

2. *In Vivo* Hayvan Modelleri

10 3. Farmakokinetikler ve tolere edilebilirlik

G. Kombinasyon terapisi Usulleri ve Kullanımları

1. Kanserler

Tedavi İçin Hastaların Seçimi

2. Dozaj ve Uygulama

15 3. Dozaj Rejimi: Uygulama Sıklığı ve Döngüsü

4. Ek Kombinasyon Terapisi

a. Kortikosteroid

b. Anti-Kanser Maddeleri ve Diğer Tedaviler

H. Örnekler

20 **A. TANIMLAR**

Aksi tanımlanmadıkça, burada kullanılan tüm teknik ve bilimsel terimler, bu buluşun dahil olduğu teknikte uzman kişilerce yaygın olarak anlaşılan anlamla aynı anlama sahiptir. Buradaki terimler için birden fazla tanım olduğu durumlarda, bu bölümdekiler geçerlidir. Bir URL'ye veya bu tip bir başka belirteç veya adrese atıf yapıldığında, bu tip belirteçlerin değişebileceği ve İnternet üzerindeki özel bilgilerin gelip geçici olduğu, ancak eşdeğer bilginin İnternetin araştırılmasıyla bulunabileceği anlaşılmalıdır. Bu atıf bu tip bilginin mevcut olduğunu ve kamuya açık olduğunu göstermektedir.

Burada kullanılan "kombinasyon terapisi" tek bir hastalığı tedavi etmek için bir hastaya iki veya daha fazla terapötik maddenin, örneğin en az iki veya en az üç terapötik maddenin verildiği bir tedavisi belirtmektedir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, kombinasyon terapisi bir polimere-konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-

güdümlü taksan ve isteğe bağlı olarak bir başka anti-kanser maddesi veya kemoterapi maddesi, örneğin bir nükleosid analogu ile terapi içerir.

Burada kullanılan bir taksan, mikrotübül polimerleşmesini engelleyerek mitoz ve hücre bölünmesini durdurarak hücre büyümesini inhibe eden antimitotik veya antimikrotübül maddelerin bir familyasını belirtmektedir. Taksanlara Taxus (porsuk ağaçları) cinsi bitkilerden üretilen doğal olarak üretilen diterpenler dahildir. Taksanlara ayrıca antimitotik veya antimikrotübül aktivitesi sergileyen sentetik olarak üretilen taksanlar dahildir. Tipik olarak, taksanlar dört halka (altı elemanlı A ve C halkası, sekiz elemanlı B halkası ve dört elemanlı D halkası) içeren bir ortak çekirdek yapıya sahiptir. Bir taksan örneği paklitaksel, taksan veya bunların bir türevi veya analogudur.

Burada kullanılan antimitotik aktivite mitozun inhibe edilmesi, azaltılması veya önlenmesini belirtmektedir. Bu aktivite sayesinde, hücre büyümesi inhibe edilir, azaltılır veya önlenir. Örneğin, maddenin olmadığı hücre büyümesine kıyasla hücre büyümesinin en az veya yaklaşık en az %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha fazla inhibe edildiği takdirde, madde antimitotik aktivite sergiler.

Burada kullanılan antimikrotübül aktivitesi herhangi bir maddenin örneğin mikrotübül polimerleşmesini düşürerek, azaltarak veya önleyerek mikrotübülleri engellediği aktivitesini belirtmektedir. Dolayısıyla, antimikrotübül aktivitesi doğal olarak stabil olmayan ve dinamik depolimerizasyon (kısalma) veya polimerizasyon (uzama) süreçlerine maruz kalan mikrotübülleri stabilize eden herhangi bir aktiviteyi belirtebilir. Örneğin, antimikrotübül aktivitesi taksanlar gibi, mikrotübüllerin uçlarıyla etkileşime giren, böylece ayrılma veya birleşmeyi donduran veya önleyen maddeler tarafından gerçekleştirilir. Mikrotübül polimerizasyonunun değerlendirilmesine yönelik analizler teknikte bilinmektedir ve örnek analizler burada açıklanmaktadır. Maddenin olmadığı polimerizasyona kıyasla, bir madde mikrotübül polimerizasyonunu en az veya yaklaşık en az %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha fazla inhibe ettiği takdirde, antimikrotübül aktivitesi mevcuttur.

Burada kullanılan bir "tümör-güdümlü taksan" doğrudan veya dolaylı olarak bir parçaya bağlanan ve tümör parçasına bağlanmamış olan taksana kıyasla bir tümörün yüzeyi üzerindeki bir veya daha fazla moleküle karşı yüksek özgünlük sergileyen taksanı belirtmektedir. Örneğin, parça, tümör yüzeyi üzerinde mevcut olan bir şeker, lipid,

glikozaminoglikan veya protein gibi tümör yüzeyi üzerinde mevcut olan bir molekülle etkileşime giren veya bağlanan (ör., özgün bir şekilde bağlanan) bir makromolekül, peptid, protein, antikor (ör., monoklonal antikor) veya lipid olabilir. Genel olarak, tümör yüzeyi üzerinde mevcut olan molekül tümör olmayan veya normal dokular veya hücrelere

5 kıyasla anormal veya farklı olan bir seviye veya miktarda mevcuttur.

Burada kullanılan "tümör-içi iletim elde etmek için yeterli" ifadesi, taksanın bir tümör olmayan hücreye kıyasla bir tümör hücrelerini daha yüksek veya daha fazla hedef aldığını ve dolayısıyla daha yüksek veya daha fazla hücre-içi lokalizasyonu sergilediği anlamına gelir. Tümör-içi iletimin değerlendirilmesine yönelik analizler *in vitro* veya *in vivo*

10 analizler, örneğin bir taksan gibi bir ilacın bağlanan veya hücre-içi seviyesi veya miktarının normal hücreler ve tümör hücreleri arasında karşılaştırıldığı bağlama analizleri veya hücre-içi lokalizasyon analizleri içerebilir. Bu tip analizlere, sınırlayıcı olmaksızın, aşağıdakiler dahildir: immünoanalizler, örneğin radioimmünoanalizler veya ELISA'lar (ör. lizat-bazlı ELISA'lar ve kızılötesi ELISA'lar; bkz., ayrıca Svojanovsky vd. (1999)

15 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 20:549-555); tubulin-bazlı biyoanaliz (bkz., ör., Suye vd. (1997) Anal. Chem., 69:3633-3635); histokimya veya immünohistokimya (Hong vd. (2007) Mol. Cancer. Ther., 6: 3239); HPLC; floresan-bazlı analizler, örneğin akış sitometrisi ve diğer usuller (bkz., ör., Sheikh vd. (2001) Biosensors & Bioelectronics, 16:647-652) ve teknikte uzman kişilerce bilinen diğer benzer analizler.

20 Bu tip usullerde kullanım için taksan antikorları mevcuttur (bkz., ör., Grothaus vd. (1995) J Nat. Prod., 58:1003-14; Leu vd. (1993) Cancer Res., 53:1388-1391; Katalog No. ab26953, Abcam). Biyosensör teknolojisi de kullanılabilir (bkz., ör., Braunhut vd. (2005) Assay and Drug Dev. Tech., 3: 77-88). Analizler ayrıca, tümör hücresi apoptozu ve tümör boyutu veya hacmi gibi tümör büyümesi üzerindeki etkiler dahil, taksanın hücre

25 mekanizması üzerindeki aktivitesinin değerlendirildiği dolaylı analizler de içerebilir.

Burada kullanılan bir anti-hiyalüronan maddesi hiyalüronan (HA) sentezi veya parçalanmasını modüle eden, böylece bir doku veya hücredeki hiyalüronan seviyelerini değiştiren herhangi bir maddeyi belirtmektedir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, anti-hiyalüronan maddeleri maddenin olmadığı duruma kıyasla bir doku veya hücredeki

30 hiyalüronan seviyelerini düşürür. Bu tip maddelere hiyalüronan metabolizmasında rol oynayan HA sentaz (HAS) ve diğer enzimleri veya reseptörleri kodlayan genetik

malzemeni ekspresyonunu modüle eden veya HAS fonksiyonu veya aktivitesi dahil hiyalüronan sentezleyen veya parçalayan proteinleri modüle eden bileşikler dahildir. Maddelere küçük moleküller, nükleik asitler, peptidler, proteinler veya diğer bileşikler dahildir. Örneğin, anti-hiyalüronan maddelerine, sınırlayıcı olmaksızın, antisense veya  
5 sense moleküller, antikorlar, enzimler, küçük moleküllü inhibitörler ve HAS substratı analogları dahildir.

Burada kullanılan bir "konjüğe" bir veya daha fazla başka polipeptid veya kimyasal parçaya doğrudan veya dolaylı olarak bağlanmış bir polipeptidi belirtmektedir. Bu tip konjügelere füzyon proteinleri, kimyasal konjügelere oluşturulanlar ve herhangi bir  
10 başka usulle oluşturulanlar dahildir. Örneğin, bir konjüğe, hiyalüronidaz aktivitesi korunduğu sürece en az bir çözünebilen PH20 polipeptidinin doğrudan veya dolaylı olarak bir başka polipeptid veya kimyasal parçaya bağlanacağı şekilde, doğrudan veya dolaylı olarak bir veya daha fazla başka polipeptide veya kimyasal parçaya bağlı bir hiyalüronidaz veya çözünebilen PH20 gibi bir hiyalüronan parçalayan enzimi  
15 belirtmektedir.

Burada kullanılan bir "polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim" doğrudan veya dolaylı olarak bir polimere bağlanmış bir hiyalüronan parçalayan enzimi belirtmektedir. Bağ, sınırlayıcı olmaksızın, iyonik ve kovalent bağlar ve her türlü başka yeterince stabil birleşme etkileşimi dahil, herhangi bir tipte bağ olabilir. Bir polimere  
20 konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzime atıf, konjügenin hiyalüronidaz aktivitesi sergilediği anlamına gelir. Tipik olarak, polimer-konjügesi, bir polimere konjüğe edilmemiş hiyalüronan parçalayan enzime kıyasla en az %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha fazla hiyalüronidaz aktivitesi sergiler.

Burada kullanılan bir hiyalüronan parçalayan enzim bir hiyalüronan polimerinin  
25 (hiyalüronik asit veya HA olarak da belirtilmektedir) daha küçük molekül ağırlıklı parçalar halinde parçalanmasını katalize eden bir enzimi belirtmektedir. Hiyalüronan parçalayan enzimlerin örnekleri hiyalüronidazlar ve hiyalüronanı depolarize etme kabiliyeti olan belirli kondroitinazlar ve liyazlardır. Hiyalüronan parçalayan enzimler olan örnek kondroitinazlara, sınırlayıcı olmaksızın, kondroitin ABC liyaz (kondroitinaz  
30 ABC olarak da bilinmektedir), kondroitin AC liyaz (kondroitin sülfat liyaz veya kondroitin sülfat eliminaz olarak da bilinmektedir) ve kondroitin C liyaz dahildir.

Kondroitin ABC liyaz iki enzim, kondroitin-sülfat-ABC endoliyaz (EC 4.2.2.20) ve kondroitin-sülfat-ABC ekzoliyaz (EC 4.2.2.21), içerir. Örnek kondroitin-sülfat-ABC endoliyazlar ve kondroitin-sülfat-ABC ekzoliyazlara, sınırlayıcı olmaksızın, *Proteus vulgaris* ve *Flavobacterium heparinum*'dan olanlar dahildir (*Proteus vulgaris* kondroitin-sülfat-ABC endoliyaz DİZİ ID NO:98'de verilmektedir; Sato vd. (1994) Appl. Microbiol. Biotechnol. 41(1):39-46). Bakterilerden örnek kondroitinaz AC enzimlerine, sınırlayıcı olmaksızın, DİZİ ID NO:99'da verilen *Flavobacterium heparinum*, DİZİ ID NO:100'de verilen *Victivallis vadensis* ve *Arthrobacter aureescens*'ten olanlar dahildir (Tkalec vd. (2000) Applied and Environmental Microbiology 66(1):29-35; Ernst vd. (1995) Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 30(5):387-444). Bakterilerden örnek kondroitinaz C enzimlerine, sınırlayıcı olmaksızın, *Streptococcus* ve *Flavobacterium*'dan olanlar dahildir (Hibi vd. (1989) FEMS-Microbiol-Lett. 48(2):121-4; Michelacci vd. (1976) J. Biol. Chem. 251:1154-8; Tsuda vd. (1999) Eur. J. Biochem. 262:127-133).

Burada kullanılan hiyalüronidaz bir hiyalüronan parçalayan enzim sınıfını belirtmektedir. Hiyalüronidazlara bakteriyel hiyalüronidazlar (EC 4.2.2.1 veya EC 4.2.99.1), sülüklerden, diğer parazitler ve kabuklulardan hiyalüronidazlar (EC 3.2.1.36) ve memeli-tipi hiyalüronidazlar (EC 3.2.1.35) dahildir. Hiyalüronidazlara, sınırlayıcı olmaksızın, fare, köpek, kedi, tavşan, kuş, büyükbaş hayvan, küçükbaş hayvan, domuz, at, balık, kurbağa, bakteri ve sülükler, diğer parazitler ve kabuklulardan herhangi biri dahil, her türlü insan olmayan menşeliler dahildir. İnsan olmayan hiyalüronidazlara aşağıdakilerden elde edilen hiyalüronidazlar dahildir: inekler (DİZİ ID NO:10, 11, 64 ve BH55 (ABD Pat. No. 5,747,027 ve 5,827,721)), sarıca arı (DİZİ ID NO:12 ve 13), bal arısı (DİZİ ID NO:14), eşek arısı (DİZİ ID NO:15), yaban arısı (DİZİ ID NO:16), fare (DİZİ ID NO:17-19, 32), domuz (DİZİ ID NOS:20-21), sıçan (DİZİ ID NO:22-24, 31), tavşan (DİZİ ID NO:25), koyun (DİZİ ID NO:26, 27, 63 ve 65), şempanze (DİZİ ID NO:101), Rhesus maymunu (DİZİ ID NO:102), orangutan (DİZİ ID NO:28), sinomolgus maymynu (DİZİ ID NO:29), gine domuzu (DİZİ ID NO:30), *Arthrobacter türü* (suş FB24) (DİZİ ID NO:67), *Bdellovibrio bacteriovorus* (DİZİ ID NO:68), *Propionibacterium acnes* (DİZİ ID NO:69), *Streptococcus agalactiae* ((DİZİ ID NO:70); 18RS21 (DİZİ ID NO:71); serotip Ia (DİZİ ID NO:72); ve serotip III (DİZİ ID NO:73)), *Staphylococcus aureus* (suş COL (DİZİ ID NO:74); suş MRSA252 (DİZİ ID NO:75 ve 76); suş MSSA476 (DİZİ ID NO:77); suş NCTC 8325 (DİZİ ID NO:78); suş bovin RF122 (DİZİ ID NO:79 ve 80); ve

suş USA300 (DİZİ ID NO:81)), *Streptococcus pneumoniae* ((DİZİ ID NO:82); suş ATCC BAA-255 / R6 (DİZİ ID NO:83); ve serotip 2, suş D39 / NCTC 7466 (DİZİ ID NO:84)), *Streptococcus pyogenes* (serotip M1 (DİZİ ID NO:85); serotip M2, suş MGAS10270 (DİZİ ID NO:86); serotip M4, suş MGAS10750 (DİZİ ID NO:87); serotip M6 (DİZİ ID NO:88); serotip M12, suş MGAS2096 (DİZİ ID NO:89 ve 90); serotip M12, suş MGAS9429 (DİZİ ID NO:91); ve serotip M28 (DİZİ ID NO:92)); *Streptococcus suis* (DİZİ ID NOS:93-95); *Vibrio fischeri* (suş ATCC 700601/ ES114 (DİZİ ID NO:96)) ve *Streptomyces hyaluronolyticus* hiyalüronidaz enzimi, ki bu hiyalüronik aside özeldir ve kondroitin veya kondroitin sülfatı parçalamaz (Ohya, T. ve Kaneko, Y. (1970) Biochim. Biophys. Acta 198:607). Hiyalüronidazlara ayrıca insan menşeli olanlar da dahildir. Örnek insan hiyalüronidazlarına HYAL1 (DİZİ ID NO:36), HYAL2 (DİZİ ID NO:37), HYAL3 (DİZİ ID NO:38), HYAL4 (DİZİ ID NO:39) ve PH20 (DİZİ ID NO:1) dahildir. Hiyalüronidazlara ayrıca, küçükbaş hayvan ve büyükbaş hayvan PH20'si, çözünebilen insan PH20'si ve çözünebilen rHuPH20 dahil, çözünebilen hiyalüronidazlar dahildir. Piyasadan temin edilebilen küçükbaş hayvan ve büyükbaş hayvan hiyalüronidazlarının örneklerine Vitrase® (küçükbaş hayvan hiyalüronidazı), Amphadase® (büyükbaş hayvan hiyalüronidazı) ve Hydase™ (büyükbaş hayvan hiyalüronidazı) dahildir.

Burada kullanılan, "saflaştırılmış büyükbaş hayvan testisi hiyalüronidazı" büyükbaş hayvan testisi ekstraktlarından saflaştırılan bir büyükbaş hayvan hiyalüronidazını belirtmektedir (bkz., ABD Patenti No. 2,488,564, 2,488,565, 2,806,815, 2,808,362, 2,676,139, 2,795,529, 5,747,027 ve 5,827,721). Piyasadan temin edilebilen büyükbaş hayvan testisi hiyalüronidazlarının örneklerine Amphadase® ve Hydase™ ve, sınırlayıcı olmaksızın, Sigma Aldrich, Abnova, EMD Chemicals, GenWay Biotech, Inc., Raybiotech, Inc. ve Calzyme'den temin edilebilenler dahil, büyükbaş hayvan hiyalüronidazları dahildir. Ayrıca, sınırlayıcı olmaksızın, DİZİ ID NO: 190-192'den herhangi birinde verilen bir nükleik asit molekülünün ekspresyonuyla üretilenler gibi, rekombinant olarak üretilen büyükbaş hayvan hiyalüronidazları da kapsamaktadır.

Burada kullanılan, "saflaştırılmış küçükbaş hayvan testisi hiyalüronidazı" küçükbaş hayvan testisi ekstraktlarından saflaştırılan bir küçükbaş hayvan hiyalüronidazını belirtmektedir (bkz., ABD Patenti No. 2,488,564, 2,488,565 ve 2,806,815 ve Uluslararası PCT Yayını No. WO1005/118799). Piyasadan temin edilebilen küçükbaş hayvan testisi



ekstraktı örneklerine Vitrase® ve, sınırlayıcı olmaksızın, Sigma Aldrich, Cell Sciences, EMD Chemicals, GenWay Biotech, Inc., Mybiosource.com ve Raybiotech, Inc'den temin edilebilenler dahil, küçükbaş hayvan hiyalüronidazları dahildir. Ayrıca, sınırlayıcı olmaksızın, DİZİ ID NO: 66 ve 193-194'ten herhangi birinde verilen bir nükleik asit  
5 molekülünün ekspresyonuyla üretilenler gibi, rekombinant olarak üretilen küçükbaş hayvan hiyalüronidazları da kapsamaktadır.

Burada kullanılan "PH20" spermde bulunan ve nötr-aktif olan bir tip hiyalüronidazı belirtmektedir. PH-20 sperm yüzeyi üzerinde ve iç akrozomal membrana bağlı olduğu lipozomdan türetilen akrozomda bulunur. PH20, sınırlayıcı olmaksızın, insan, şempanze, sinomolgus maymunu, Rhesus maymunu, fare, büyükbaş hayvan, küçükbaş hayvan, gine  
10 domuzu, tavşan ve sıçan menşelilerden herhangi birini içerir. Örnek PH20 polipeptidlerine insan (DİZİ ID NO:1), şempanze (DİZİ ID NO:101), Rhesus maymunu (DİZİ ID NO:102), sinomolgus maymunu (DİZİ ID NO:29), inek (ör., DİZİ ID NOS:11 ve 64), fare (DİZİ ID NO:32), sıçan (DİZİ ID NO:31), tavşan (DİZİ ID NO:25), koyun  
15 (DİZİ ID NOS:27, 63 ve 65) ve gine domuzundan (DİZİ ID NO:30) olanlar dahildir.

Hiyalüronan parçalayan enzimlere yapılan atıf prekürsör hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidleri ve olgun hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidlerini, bunların aktiviteye sahip olan kesilmiş formlarını kapsar ve DİZİ ID NOS:1 ve 10-48, 63-65, 67-102'de verilen prekürsör polipeptidlere veya bunların olgun formlarına en az %40, %45, %50,  
20 %55, %65, %70, %75, %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek dizi özdeşliğine sahip olan polipeptidler dahil, alelik varyantları ve tür varyantlarını, ekleme varyantları tarafından kodlanan varyantları ve diğer varyantları kapsar. Örneğin, hiyalüronan parçalayan enzime yapılan atıf ayrıca DİZİ ID NO:50-51'de verilen insan PH20'si prekürsör polipeptidi varyantlarını da kapsar. Hiyalüronan parçalayan enzimlere  
25 ayrıca kimyasal veya translasyon sonrası modifikasyonlar içerenler ve kimyasal veya translasyon sonrası modifikasyonlar içermeyenler de dahildir. Bu tip modifikasyonlara, sınırlayıcı olmaksızın, PEG'leme, albüminleme, glikosilleme, farnisilleme, karboksilleme, hidroksilleme, fosforilleme ve teknikte bilinen diğer polipeptid modifikasyonları dahildir. Bir kesilmiş PH20 hiyalüronidaz herhangi bir C-ucu  
30 kısaltılmış formunda, özellikle kesilmiş ve N-glikosillendiğinde nötr aktif olan formlardadır.

Burada kullanılan bir "çözünebilen PH20" fizyolojik koşullar altında çözünebilir olan herhangi bir PH20 formunu belirtmektedir. Bir çözünebilen PH20, örneğin, 37°C'deki bir Triton® X-114 çözeltisinin sulu fazına dağılmasıyla ayırt edilebilir (Bordier vd., (1981) J. Biol. Chem., 256:1604-7). Membrana-bağlı PH20, örneğin GPI-bağlı PH20 dahil lipide-bağlı PH20, Fosfolipaz-C ile işlemin ardından deterjan bakımından zengin faz içine dağılır, ancak az deterjanlı veya sulu faz içine dağılmaz. Çözünebilen PH20'lere PH20'nin membrana bağlanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla bölgenin çıkarılmış veya modifiye edilmiş olduğu, çözünebilir formun hiyalüronidaz aktivitesini koruduğu, membrana-bağlı PH20 dahildir. Çözünebilen PH20'ye ayrıca rekombinant çözünebilen PH20'yi ve doğal kaynaklarda, örneğin, koyun veya ineklerin testis ekstraktlarında yer alan veya bunlardan saflaştırılanlar dahildir. Bu tip çözünebilen bir örnek PH20 çözünebilen insan PH20'sidir.

Burada kullanılan çözünebilen insan PH20'si veya sHuPH20, ekspresyondan sonra polipeptidlerin fizyolojik koşullar altında çözünebilir olacakları şekilde, C-ucundaki glikosilfosfatidilinositol (GPI) bağ dizisinin tamamını veya bir bölümünü içermeyen PH20 polipeptidlerini kapsar. Çözünürlük fizyolojik koşullar altında çözünürlüğü gösteren herhangi bir uygun usulle değerlendirilebilir. Bu tip usullerin bir örneği sulu faz içine dağılması değerlendiren ve yukarıda ve örneklerde açıklanan Triton® X-114 analizidir. Ek olarak, bir çözünebilen insan PH20 polipeptidi, CHO-S hücreleri gibi CHO hücrelerinde üretildiği takdirde, eksprese edilen ve hücre kültürü ortamı içine salgılanan bir polipeptiddir. Ancak, çözünebilen insan PH20 polipeptidleri CHO hücrelerinde üretilenlerle sınırlı değildir ve rekombinant ekspresyon ve polipeptid sentezi dahil herhangi bir hücrede veya herhangi bir hücre tarafından üretilebilir. CHO hücreleri tarafından salgılanmaya yapılan atıf tanım amaçlıdır. Dolayısıyla, bir polipeptid CHO hücreleri tarafından eksprese edildiği ve salgılandığı ve çözünebilir olduğu, yani Triton® X-114 ile ekstrakte edildiğinde sulu faz içine dağıldığı takdirde, bu şekilde üretilsin veya üretilmesin bu bir çözünebilen PH20 polipeptididir. sHuPH20 polipeptidlerinin prekürsör polipeptidleri bir sinyal dizisi, örneğin bir heterolog veya heterolog olmayan (yani, doğal) sinyal dizisi içerebilir. Örnek prekürsörler amino asit konumu 1-35'te doğal 35 amino asitli sinyal dizisi (bkz., ör., amino asitler 1-35 DİZİ ID NO:1) gibi bir sinyal dizisi içerenlerdir.

Burada kullanılan bir "uzatılmış çözünebilir PH20" veya "esPH20", esPH20'nin fizyolojik koşullar altında çözünebilir olacağı şekilde, GPI çapası-bağlama sinyal dizisine kadar olan kalıntıları ve GPI-çapası bağlama sinyal dizisinden itibaren bir veya daha fazla bitişik kalıntı içeren çözünebilir PH20 polipeptidlerini kapsar. Fizyolojik koşullar altındaki çözünürlük teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir usulle belirlenebilir. Örneğin, yukarıda ve örneklerde açıklanan Triton® X-114 analiziyle değerlendirilebilir. Ek olarak, yukarıda bahsedildiği gibi, bir çözünebilir PH20, CHO-S hücreleri gibi CHO hücrelerinde üretildiği takdirde, eksprese edilen ve hücre kültürü ortamı içine salgılanan bir polipeptiddir. Ancak, çözünebilir insan PH20 polipeptidleri CHO hücrelerinde üretilenlerle sınırlı değildir ve rekombinant ekspresyon ve polipeptid sentezi dahil herhangi bir hücrede veya herhangi bir hücre tarafından üretilebilir. CHO hücreleri tarafından salgılanmaya yapılan atıf tanım amaçlıdır. Dolayısıyla, bir polipeptid CHO hücreleri tarafından eksprese edildiği ve salgılandığı ve çözünebilir olduğu, yani Triton® X-114 ile ekstrakte edildiğinde sulu faz içine dağıldığı takdirde, bu şekilde üretilsin veya üretilmesin bu bir çözünebilir PH20 polipeptididir. İnsan çözünebilir esPH20 polipeptidleri, oluşan polipeptidin çözünebilir olacağı şekilde, kalıntı 36-490'a ek olarak, DİZİ ID NO:1'deki konum 491'deki amino asit kalıntısı dahil bu konumdan itibaren bir veya daha fazla bitişik amino asit içerir. Örnek insan esPH20 çözünebilir polipeptidleri DİZİ ID NO:1'deki amino asit 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496 ve 36-497'ye karşılık gelen amino asit kalıntılarına sahip olanlardır. Bunların örnekleri DİZİ ID NOS:151-154 ve 185-187'den herhangi birinde verilen bir amino asit dizisine sahip olanlardır. Ayrıca DİZİ ID NOS:151-154 ve 185-187'deki karşılık gelen polipeptidlerle %40, %45, %50, %55, %65, %70, %75, %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek dizi özdeşliğine sahip olanlar gibi, doğal aktiviteyi koruyan ve çözünebilir olan alelik varyantlar veya diğer varyantlar da dahildir. Dizi özdeşliğine yapılan atıf amino asit süstitüsyonları olan varyantları belirtmektedir.

Burada kullanılan "esPH20'lere" yapılan atıf prekürsör esPH20 polipeptidlerini ve olgun polipeptidlerini (örneğin sinyal dizisi çıkarılmış olanlar), bunların enzim aktivitesine sahip olan ve çözünebilir olan kesilmiş formlarını (tam uzunluktaki formun en az %1, %10, %20, %30, %40, %50 veya daha fazlasını koruyan) kapsar ve DİZİ ID NO:1 ve 3'te verilen prekürsör polipeptidlere veya bunların olgun formlarına en az %40, %45, %50, %55, %65, %70, %75, %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98,

%99 veya daha yüksek dizi özdeşliğine sahip olan polipeptidler dahil, alelik varyantları ve tür varyantlarını, ekleme varyantları tarafından kodlanan varyantları ve diğer varyantları kapsar.

Burada kullanılan "esPH20'ler" ayrıca kimyasal veya translasyon sonrası modifikasyonlar  
5 içerenleri ve kimyasal veya translasyon sonrası modifikasyonlar içermeyenleri de kapsar. Bu tip modifikasyonlara, sınırlayıcı olmaksızın, PEG'leme, albüminleme, glikosilleme, farnisilleme, karboksilleme, hidrosilleme, fosforilleme ve teknikte bilinen diğer polipeptid modifikasyonları dahildir.

Burada kullanılan "çözünebilen rekombinant insan PH20'si" (rHuPH20) Çin Hamsteri  
10 Yumurtalık (CHO) hücrelerinde rekombinant olarak eksprese edilen ve salgılanan insan PH20'sinin çözünebilen formlarını içeren bir bileşimi belirtmektedir. Çözünebilen rHuPH20 sinyal dizisi içeren ve DİZİ ID NO: 49'da belirtilen nükleik asit molekülü tarafından kodlanır. Çözünebilen rHuPH20 kodlayan nükleik asit olgun polipeptidi salgılayan CHO hücrelerinde eksprese edilir. Kültür ortamında üretildiğinden, C-ucunda  
15 heterojenlik olur, dolayısıyla ürün değişik oranlarda DİZİ ID NO:4 ila DİZİ ID NO:9'dan herhangi biri veya daha fazlasını içeren bir tür karışımı içerir.

Benzer şekilde, esPH20'ler gibi diğer PH20 formları için, rekombinant olarak eksprese edilen polipeptidler ve bunların bileşimleri C-ucunda heterojenlik sergileyen birden fazla tür içerebilir. Örneğin, amino asit 36-497'ye sahip olan bir esPH20 kodlayan DİZİ ID  
20 NO:151'deki polipeptidin ekspresyonuyla üretilen rekombinant olarak eksprese edilen esPH20 bileşimleri 36-496 veya 36-495 gibi daha az amino asit içeren formlar içerebilir.

Burada kullanılan bir "N-bağlı parça" bir polipeptidin translasyon sonrası modifikasyonu ile glikosillenebilen bir polipeptidin bir asparagin (N) amino asit kalıntısını belirtmektedir. İnsan PH20'sinin örnek N-bağlı parçalarına DİZİ ID NO:1'de  
25 verilen insan PH20'sindeki amino asit N82, N166, N235, N254, N368 ve N393 dahildir.

Burada kullanılan bir "N-glikosillenmiş polipeptid" en az üç N-bağlı amino asit kalıntısı, örneğin, DİZİ ID NO:1'deki amino asit kalıntısı N235, N368 ve N393'e karşılık gelen N-bağlı parçaları içeren oligosakkarid bağı içeren bir PH20 polipeptid veya bunun kesilmiş formunu belirtmektedir. Bir N-glikosillenmiş polipeptid, N-bağlı parçaların üçü, dördü,  
30 beşi ve tamamına kadarının bir oligosakkaride bağı olduğu bir polipeptid içerebilir. N-

bağlı oligosakkaridler oligomanız, kompleks, hibrit veya sülfatlı oligosakkaridler veya başka oligosakkaridler ve monosakkaridler içerebilir.

Burada kullanılan bir "N-kısmen glikosillenmiş polipeptid" minimum oranda en az üç N-bağlı parçaya bağlı bir N-asetilglükozamin glikan içeren bir polipeptidi belirtmektedir.

- 5 Bir kısmen glikosillenmiş polipeptid çeşitli glikan formları, örneğin monosakkaridler, oligosakkaridler ve dallanmış şeker formları, örneğin bir polipeptidin EndoH, EndoF1, EndoF2 ve/veya EndoF3 ile işlenmesiyle oluşturulanları içerebilir.

Burada kullanılan bir "deglikosillenmiş PH20 polipeptid" tüm olası glikosilleme bölgelerinden daha azının glikosillenmiş olduğu bir PH20 polipeptidini belirtmektedir.

- 10 Deglikosilasyon, örneğin, glikosilasyonun kaldırılması, önlenmesi veya polipeptidin bir glikosilasyon bölgesinin ortadan kaldırılacağı şekilde modifiye edilmesiyle gerçekleştirilebilir. Aktivite için bazı N-glikosilasyon bölgeleri gerekli değilken, bazıları gereklidir.

- Burada kullanılan bir "polimer" tekrarlanan birimlerden oluşan herhangi bir yüksek molekül ağırlıklı doğal veya sentetik parçayı belirtmektedir. Polimerlere, sınırlayıcı olmaksızın, polietilen glikol parçaları, dekstran, selüloz ve sialik asit dahildir. Bunlar ve diğer örnek polimerler burada açıklanmaktadır ve birçoğu teknikte bilinmektedir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, polimer bir polipeptide doğrudan veya bir birleştirici aracılığıyla dolaylı olarak konjüge edilebilir, yani stabil bir şekilde bağlanabilir. Bu tip polimer konjügelere tipik olarak serum yarılanma ömrünü artırır ve bunlara sınırlayıcı olmaksızın sialik parçaları, PEG'leme parçaları, dekstran ve şeker ve başka parçalar, örneğin glikosilasyon dahildir. Örneğin, bir çözünebilen PH20 veya rHuPH20 gibi hiyalüronidazlar bir polimere konjüge edilebilir.
- 20

- Burada kullanılan "PEG'lenmiş" ifadesi polietilen glikol (PEG'leme parçası PEG) gibi polimerik moleküllerin, tipik olarak hiyalüronan parçalayan enzimin yarılanma ömrünü arttırmak için, hiyalüronidazlar gibi hiyalüronan parçalayan enzimler dahil, proteinlere kovalent veya bir başka şekilde stabil bağlanmasını belirtmektedir.
- 25

Burada kullanılan bir anti-kanser maddesi veya kemoterapi maddesi kanser hücreleri gibi hızla bölünen hücreleri öldürebilen bir maddeyi belirtmektedir. Teknikte uzman kişiler

kemoterapi maddeleri dahil anti-kanser maddelerine aşınadır. Örnek maddeler burada açıklanmaktadır.

Burada kullanılan bir nükleosid analogu DNA replikasyonu sırasında bir purin veya pirimidin gibi nükleik asitlerin yapı taşlarından birinin yerini alabilen veya bunu taklit edebilen bir maddeyi belirtmektedir. Başka nükleosid bağlanamadığından, işlem tümör büyümesini durdurabilir. Bir nükleosid analogu örneği, bir deoksisitidin analogu olan ve metabolik aktifleşmenin ardından DNA'ya eklenen DNA sentezini rekabete dayalı bir şekilde inhibe edecek şekilde sitidin nükleosidini taklit eden veya yerini alan bir trifosfat oluşturan gempitabindir.

Burada kullanılan bir nükleosid deaminaz bir nükleosidin deaminasyonunu gerçekleştiren bir enzimi belirtmektedir. Örneğin, sitidin deaminaz (CDA) sitidin ve deoksisitidine sırasıyla üridin ve deoksiüridin halinde deaminasyon uygular. Adenosin deaminaz (ADA) adenosine deaminasyon uygulayarak, bir hidroksil grubu için amino grubunu ikame ederek ilişkili nükleosid inosine dönüştürür.

Burada kullanılan bir nükleosid deaminaz substratı bir nükleosid deaminaz varlığında bir pasif metabolit halinde deaminasyona uğrayabilen ve dolayısıyla pasifleşebilen bir moleküldür. Deaminasyon değerlendirme analizleri teknikte uzman kişilerce bilinmektedir ve bunlara sınırlayıcı olmaksızın yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) veya metabolitler ve deaminasyonlu metabolitler için kütle spektrometrisi, fazla urasil-DNA glikosilaz kullanılan bir UDG-bazlı deaminaz analizi gibi bir deaminasyon analizi (bkz., ör., Morgan vd. (2004) J. Biol. Chem., 279:52353-52360) veya bir nükleosid deaminaz eksprese ettiği bilinen hücrelerde sitotoksisitenin değerlendirilmesi dahildir.

Burada kullanılan "nükleosid deaminaz protein seviyelerini veya protein aktivitesini düşürmek için yeterli" ifadesi bir nükleosid deaminazın aktivitesini inhibe etmek için gereken taksan miktarını belirtmektedir. Örneğin, inhibisyon yukarıda açıklanan deaminasyona yönelik analizler kullanılarak bir deaminazın (ör., sitidin deaminaz) deaminasyon aktivitesi analiz edilerek değerlendirilebilir. İnhibisyon ayrıca hücre-içi deaminaz protein seviyelerinin analiz edilmesiyle de değerlendirilebilir. Hücre-içi proteinlerin değerlendirilmesine yönelik analizler teknikte uzman kişilerce iyi bilinmektedir ve bunlara, örneğin, hücre bazlı ELISA, akış sitometrisi veya Western blot gibi protein tespit usulleri dahildir. Genel olarak, bu tip analizler hücre lizatları veya

geçirgen hale getirilmiş hücreler üzerinde gerçekleştirilebilir. Örneğin, sitidin deaminaz için western blot tüm hücre lizatlarının çözünür hale getirilmesi, proteinlerin ayrılması ve bir CDA antikoru (ör., Kat. No. ab82346, Abcam) kullanılarak deaminaz için immüno blot uygulanması ve ardından bir ikincil karaturp peroksidaz antikoru ile enkübasyon ve tespit ile gerçekleştirilebilir. Genel olarak, protein seviyesi veya aktivitesi en az veya en az

5 yaklaşık %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha yüksek oranda düşürüldüğü takdirde, miktar nükleosid deaminaz protein seviyeleri veya protein aktivitesinin düşürülmesi için yeterlidir.

Burada kullanılan bir ön-ilaç biyotransformasyondan sonra farmakolojik aktivite sergileyen bir bileşiktir. Örneğin, gempitabin gibi nükleosid analogları, aktivitenin deoksisitidin kinaz tarafından gempitabin difosfat ve gempitabin trifosfat halinde iki aktif

10 metabolite hücre-içi dönüşümün bir sonucu olarak gerçekleştiği ön-ilaçlardır. Trifosfat (diflorodeoksisitidin trifosfat) DNA'ya katılma için endojenöz deoksinükleosid trifosfatlarla rekabet eder.

Burada kullanılan bir türev bir ilacın bir referans ilaç veya maddeden sonra değişime veya modifikasyona uğramış olan, ancak referans ilaç veya maddeye kıyasla aktivitesini hala koruyan (ör., yüksek veya düşük aktivite sergileyen) bir formunu belirtmektedir. Tipik olarak, bir bileşiğin bir türev formu bileşiğin bir yan zincirinin modifiye edilmiş veya değiştirilmiş olduğu anlamına gelir.

15

Burada kullanılan bir ilaç veya maddenin bir analogu bir referans ilaçla ilişkili olan, ancak kimyasal ve biyolojik aktiviteleri farklı olabilen bir ilaç veya maddedir. Tipik olarak, analoglar bir referans ilaç veya maddeye benzer aktiviteler sergiler, ancak aktivite artmış veya azalmış veya bir başka şekilde geliştirilmiş olabilir. Tipik olarak, bir bileşik veya bir ilacın bir analog formu yapının omurga çekirdeğinin bir referans ilaca kıyasla modifiye edilmiş veya değiştirilmiş olduğu anlamına gelir.

20

25

Burada kullanılan "aktivite" bir polipeptid veya bunun bir tam uzunluktaki (tam) protein ile ilişkili bölümünün bir fonksiyonel aktivitesini veya aktivitelerini belirtmektedir. Örneğin, bir polipeptidin aktif fragmanları bir tam uzunluktaki proteinin aktivitesini sergileyebilir. Fonksiyonel aktivitelere, sınırlayıcı olmaksızın, biyolojik aktivite, katalitik veya enzimatik aktivite, antijenisite (bir polipeptidin bir anti-polipeptid antikoru

30 bağlanma veya bununla rekabet etme kabiliyeti), immünojenisite, multimerler oluşturma

kabiliyeti ve polipeptidin bir reseptörü veya ligandına özgün bir şekilde bağlanma kabiliyeti dahildir.

Burada kullanılan "hiyalüronidaz aktivitesi" hiyalüronik asidin parçalanmasını enzimsel olarak katalize etme kabiliyetini belirtmektedir. Hiyalüronidaz için ABD Farmakopesi (USP) XXII analizi hiyalüronidaz aktivitesini dolaylı olarak, enzimin hiyalüronik asit veya hiyalüronan (HA) substratıyla 30 dakika süreyle 37 °C'de tepkimeye girmesine izin verildikten sonra kalan yüksek molekül ağırlıklı HA substratı miktarını ölçerek belirler (USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, MD). Herhangi bir hiyalüronidazın birim cinsinden nispi aktivitesinin belirlenmesine yönelik bir analizde bir Referans Standart çözelti kullanılabilir. Çözünebilen PH20 ve esPH20 dahil PH20 gibi hiyalüronidazların hiyalüronidaz aktivitesinin belirlenmesine yönelik *in vitro* analizler teknikte bilinmektedir ve burada açıklanmaktadır. Örnek analizlere parçalanmamış hiyalüronik asit serum albüminine bağlandığında oluşan çözünmeyen çökeltinin tespit edilmesiyle hiyalüronik asidin hiyalüronidaz tarafından parçalanmasını dolaylı olarak ölçen mikro-bulanıklık analizi ve bir streptavidin-karaturp peroksidazı konjügesi ve bir kromojenik substratla mikrotitre plakası gözeneklerine kovalent olmayan bir şekilde bağlı halde kalan biyotinlenmiş-hyalüronik asidin tespit edilmesiyle hiyalüronik asidin parçalanmasını dolaylı olarak ölçen biyotinlenmiş-hyalüronik asit analizi dahildir. Örneğin, test edilen hiyalüronidazın aktivitesini Birim cinsinden belirlemek için bir standart eğri oluşturmak için, Referans Standartlar kullanılabilir.

Burada kullanılan özgül aktivite ifadesi mg protein başına aktivite birimini belirtmektedir. Hiyalüronidaz miligramı  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$  birimi cinsinden yaklaşık 1.7'lik bir molar sönüm katsayısı varsayılarak 280 nm'de bir çözeltinin absorpsiyonuyla tanımlanır.

Burada kullanılan "nötr aktif" ifadesi bir PH20 polipeptidinin nötr pH'de (ör., yaklaşık veya tam pH 7.0'da) hiyalüronik asidin parçalanmasını enzimsel olarak katalize etme kabiliyetini belirtmektedir.

Burada kullanılan bir "GPI-çapası bağlama sinyal dizisi" bir önceden oluşturulmuş GPI-çapasının ER lümeni içinde polipeptide eklenmesini yönlendiren bir C-ucu amino asit dizisidir. GPI-çapası bağlama sinyal dizisi GPI-bağlı PH20 polipeptidleri gibi GPI-bağlı polipeptidlerin prekürsör polipeptidlerinde mevcuttur. C-ucu GPI-çapası bağlama sinyal



- dizisi tipik olarak  $\omega$ -bölgesi veya GPI-çapası bağlama bölgesinin hemen aşağı yönünde, 8-12 amino asitlik bir hidrofilik aralayıcı bölgeden sonra 8-20 amino asitlik baskın olarak hidrofobik bir bölge içerir. GPI-çapası bağlama sinyal dizileri teknikte iyi bilinen usuller kullanılarak belirlenebilir. Bunlara, sınırlayıcı olmaksızın, ExPASy Proteomics araçları sitesi (ör., [www sitesi expasy.ch/tools/](http://www.expasy.ch/tools/)) gibi biyoenfarmasyon sitelerinden kolayca temin edilebilenler dahil *in silico* usuller ve algoritmalar dahildir (bkz., ör., Udenfriend vd. (1995) *Methods Enzymol.* 250:571-582, Eisenhaber vd., (1999) *J. Biol. Chem.* 292: 741-758, Fankhauser vd., (2005) *Bioinformatics* 21:1846-1852, Omaetxebarria vd., (2007) *Proteomics* 7:1951-1960, Pierleoni vd., (2008) *BMC Bioinformatics* 9:392).
- 10 Burada kullanılan "nükleik asitlere" peptid nükleik asitleri (PNA) ve bunların karışımları dahil DNA, RNA ve bunların analogları dahildir. Nükleik asitler tek veya çift sarmallı olabilir. Örneğin bir floresan veya radyoaktif etiket gibi bir tespit edilebilir etiketle isteğe bağlı olarak etiketlenmiş problar veya primerlere atıf yapıldığında, tek sarmallı moleküller kapsamaktadır. Bu tip moleküller tipik olarak bir kütüphanenin problemlenmesi veya primerlenmesi için hedeflerinin istatistiksel olarak tek veya az sayıda kopyalı (tipik olarak 5'ten az, genellikle 3'ten az) olacağı bir uzunluktadır. Genel olarak, bir prob veya primer bir ilgili gene tamamlayıcı veya özdeş en az 14, 16 veya 30 bitişik nükleotidden oluşun dizi içerir. Problar ve primerler 10, 20, 30, 50, 100 veya daha fazla nükleik asit uzunluğunda olabilir.
- 20 Burada kullanılan bir peptid uzunluğu 2 amino asit veya daha uzun ve 40 amino asit veya daha kısa olan bir polipeptidi belirtmektedir.
- Burada sağlanan çeşitli amino asit dizilerinde görülen burada kullanılan amino asitler kendi bilinen üç harfli veya tek harfli kısaltmalarıyla (Tablo 1) belirtilmektedir. Çeşitli nükleik asit fragmanlarında görülen nükleotidler teknikte sıradan bir şekilde kullanılan standart ek harfli simgelerle belirtilmektedir.
- 25 Burada kullanılan bir "amino asit" bir amino grubu ve bir karboksilik asit grubu içeren bir organik moleküldür. Bir polipeptid iki veya daha fazla amino asit içerir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, amino asitlere yirmi doğal olarak oluşun amino asit, doğal olmayan amino asitler ve amino asit analogları (yani,  $\alpha$ -karbonun bir yan zincire sahip olduğu amino asitler) dahildir.
- 30

Burada kullanılan "amino asit kalıntısı" bir polipeptidin kendi peptid bağlarının kimyasal olarak sindirilmesiyle (hidroliz) oluşan bir amino asidi belirtmektedir. Burada açıklanan amino asit kalıntılarının "L" izomerik formunda olduğu kabul edilmektedir. "D" izomerik formunda oldukları belirtilen kalıntılar, arzu edilen fonksiyonel özellikleri polipeptid tarafından korunduğu sürece herhangi bir L-amino asit kalıntısı yerine süstitüe edilebilir. NH<sub>2</sub>, bir polipeptidin amino ucunda mevcut olan serbest amino grubunu belirtmektedir. COOH, bir polipeptidin karboksi ucunda mevcut olan serbest karboksi grubunu belirtmektedir. J. Biol. Chem., 243: 3557-3559'da (1968) açıklanan ve 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822'de benimsenen standart polipeptid terminolojisine uygun olarak, amino asit kalıntıları için kısaltmalar Tablo 1'de gösterilmektedir.

**Tablo 1 - Karşılıklar Tablosu**

SEMBOL

1-Harf	3-Harf	AMİNO ASİT
Y	Tyr	Tirosin
G	Gly	Glisin
F	Phe	Fenilalanin
M	Met	Metionin
A	Ala	Alanin
S	Ser	Serin
I	Ile	İzolösin
L	Leu	Lösin
T	Thr	Treonin
V	Val	Valin
P	Pro	Prolin
K	Lys	Lizin
H	His	Histidin
Q	Gln	Glütamin
E	Glu	Glütamik asit
Z	Glx	Glu ve/veya Gln
W	Trp	Triptofan
R	Arg	Arginin

## SEMBOL

1-Harf	3-Harf	AMİNO ASİT
D	Asp	Aspartik asit
N	Asn	Asparagin
B	Asx	Asn ve/veya Asp
c	Cys	Sistein
X	Xaa	Bilinmeyen veya başka

Burada formüllerle temsil edilen tüm amino asit kalıntısı dizileri geleneksel amino ucundan karboksil ucuna doğrultuda soldan sağa bir yöne sahiptir. Ek olarak, "amino asit kalıntısı" ifadesi Karşılıklar Tablosu'nda (Tablo 1) listelenen ve modifiye edilmiş ve sıra dışı amino asitleri, örneğin 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822'de listelenen amino asitleri kapsayacak şekilde tanımlanmaktadır. Ayrıca, bir amino asit kalıntısı dizisinin başında veya sonundaki bir tire işareti bir veya daha fazla amino asit kalıntısı içeren bir başka diziye, NH<sub>2</sub> gibi bir amino ucu grubuna veya COOH gibi bir karboksil ucu grubuna bir peptid bağımlı belirtir.

Burada kullanılan "doğal olarak oluşan  $\alpha$ -amino asitler" insanlardaki eş-kökenli mRNA kodonunu içeren yüklü tRNA molekülünün özel olarak ayırt edilmesiyle proteine eklenen doğada bulunan 20  $\alpha$ -amino asidin kalıntılarıdır. Dolayısıyla doğal olarak oluşmayan amino asitlere örneğin 20 doğal olarak oluşan amino asit dışındaki amino asitler ve amino asit analogları ve sınırlayıcı olmaksızın amino asitlerin D-stereoizomerleri dahildir. Örnek doğal olmayan amino asitler burada açıklanmaktadır veya teknikte uzman kişilerce bilinmektedir.

Burada kullanılan bir DNA yapısı doğada bulunmayan bir şekilde birleşik veya yan yana DNA parçaları içeren bir tek- veya çift-sarmallı, doğrusal veya dairesel DNA molekülüdür. DNA yapıları insan manipülasyonunun bir sonucu olarak mevcuttur ve manipüle edilen moleküllerin klonlarını ve diğer kopyalarını kapsar.

Burada kullanılan bir DNA parçası belirtilen özelliklere sahip olan bir daha büyük DNA molekülünün bir bölümüdür. Örneğin, belirtilen bir polipeptidi kodlayan bir DNA parçası 5' - 3' doğrultusunda okunduğunda belirtilen polipeptidi kodlayan amino asit dizisini

kodlayan bir plazmid veya plazmid fragmanı gibi daha uzun bir DNA molekülünün bir bölümüdür.

Burada kullanılan polinükleotid terimi 5' ucundan 3' ucuna okunan deoksiribonükleotid veya ribonükleotid bazlarının bir tek veya çift sarmallı polimeri anlamına gelir.

5 Polinükleotidlere RNA ve DNA dahildir ve doğal kaynaklardan izole edilebilir, *in vitro* sentezlenebilir veya doğal ve sentetik moleküllerin bir kombinasyonundan hazırlanabilir. Bir polinükleotid molekülünün uzunluğu burada nükleotid (kısaca "nt") veya baz çifti (kısaca "bp") cinsinden verilir. Nükleotid terimi bağlama göre tek veya çift sarmallı moleküller için kullanılır. Terim çift sarmallı moleküller için kullanıldığında, genel  
10 uzunluğu temsil etmek için kullanılır ve baz çifti terimine eşdeğer olarak anlaşılır. Teknikte uzman kişilerce anlaşılacağı gibi, bir çift sarmallı polinükleotidin iki sarmalının uzunluğu biraz farklı olabilir ve bunların uçları düzensiz olabilir, dolayısıyla bir çift sarmallı polinükleotid molekülü içindeki tüm nükleotidler eşleşmeyebilir. Bu eşleşmeyen uçların uzunluğu genellikle en fazla 20 nükleotiddir.

15 Burada kullanılan iki protein veya nükleik asit arasındaki "benzerlik" proteinlerin amino asit dizileri veya nükleik asitlerin nükleotid dizileri arasındaki ilişkiyi belirtmektedir. Benzerlik kalıntı dizilerinin özdeşlik ve/veya benzerlik seviyesi ve içerdikleri kalıntılara dayandırılabilir. Proteinler veya nükleik asitler arasındaki benzerlik derecesini değerlendirme usulleri teknikte uzman kişilerce bilinmektedir. Örneğin, dizi  
20 benzerliğinin değerlendirilmesine yönelik bir usulde, iki amino asit veya nükleotid dizisi diziler arasında maksimum özdeşlik seviyesinin elde edileceği bir şekilde hizalanır. "Özdeşlik" amino asit veya nükleotid dizilerinin aynı olma kapsamını belirtmektedir. Amino asit dizilerinin ve bir ölçüye kadar nükleotid dizilerinin hizalanmasında ayrıca amino asitlerdeki (veya nükleotidlerdeki) koruyucu farklılıklar ve/veya sık  
25 sübstitüsyonlar dikkate alınabilir. Koruyucu farklar söz konusu kalıntıların fiziko-kimyasal özelliklerini koruyanlardır. Hizalamalar genel (karşılaştırılan dizilerin tüm uzunluk ve tüm kalıntılar boyunca hizalanması) veya lokal (dizilerin sadece en çok benzer bölge veya bölgelerinin bir bölümünün hizalanması) olabilir.

"Özdeşlik" aslında teknikte bilinen anlamındadır ve yayınlanmış teknikler kullanılarak  
30 hesaplanabilir. (Bkz., ör., 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, Bölüm I, Griffin, A.M. ve Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; ve Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. ve Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991). İki polinükleotid veya polipeptid arasındaki özdeşliği ölçmek için çeşitli  
5 usuller mevcut olmasına rağmen, "özdeşlik" terimi teknikte uzman kişilerce iyi bilinmektedir (Carrillo, H. ve Lipman, D., SIAM J Applied Math 48:1073 (1988)).

Burada kullanılan homolog (nükleik asit ve/veya amino asit dizilerine atıfla) terimi yaklaşık %25 veya daha yüksek dizi homolojisi, tipik olarak %25, %40, %50, %60, %70,  
10 %80, %85, %90 veya %95 dizi homolojisi anlamına gelir; gerektiği takdirde tam yüzde belirtilebilir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, "homoloji" ve "özdeşlik" terimleri çoğunlukla, aksi belirtilmedikçe, eşanlamlı olarak kullanılmaktadır. Genel olarak, homoloji veya özdeşlik yüzdesinin belirlenmesi için, diziler en yüksek derece eşleşme elde edilecek şekilde hizalanır (bkz., ör.: Computational Molecular Biology, Lesk, A.M.,  
15 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, Bölüm I, Griffin, A.M. ve Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; ve Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. ve Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo vd. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073). Dizi homolojisi ile, standart hizalama algoritması programlarıyla korunmuş amino asitlerin sayısı belirlenir ve bu sayı her bir tedarikçi tarafından belirlenen varsayılan boşluk cezaları ile kullanılabilir. Büyük ölçüde homolog nükleik asit molekülleri tipik olarak ilgili nükleik asidin uzunluğunun tamamı boyunca orta sertlik veya yüksek sertlikte hibritlenir. Ayrıca  
20 hibritlenen nükleik asit molekülündeki kodonların yerine dejenere kodonlar içeren nükleik asit molekülleri de kapsanmaktadır.

Herhangi iki molekülün en az %60, %70, %80, %85, %90, %95, %96, %97, %98 veya %99 "özdeş" veya "homolog" olan nükleotid dizileri veya amino asit dizilerine sahip olup olmadığı örneğin Pearson vd. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 85:2444'teki gibi  
30 varsayılan parametreler kullanılarak "FASTA" programı (diğer programlara GCG program paketi (Devereux, J., vd., Nucleic Acids Research 12(1):387 (1984)), BLASTP,

BLASTN, FASTA (Altschul, S.F., vd., J Mol Biol 215:403 (1990)); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994 ve Carrillo vd. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073) gibi bilinen bilgisayar algoritmaları kullanılarak belirlenebilir. Örneğin, National Center for Biotechnology Information veritabanı

5 BLAST fonksiyonu kullanılarak özdeşlik belirlenebilir. Piyasadan veya kamuya açık bir şekilde temin edilebilen diğer programlara DNASTar "MegAlign" programı (Madison, WI) ve University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWG) "Gap" programı (Madison WI)) dahildir. Proteinlerin ve/veya nükleik asit moleküllerinin homoloji veya özdeşlik yüzdesi örneğin Smith ve Waterman tarafından ((1981) Adv. Appl. Math. 2:482)

10 yeniden düzenlenen bir GAP bilgisayar programı (ör., Needleman vd. (1970), J Mol Biol. 48: 443) kullanılarak dizi bilgisi karşılaştırılarak belirlenebilir. Kısaca, GAP programı benzerliği benzer olan hizalanan sembollerin (yani nükleotidler veya amino asitler) sayısının iki diziden kısa olanındaki sembollerin toplam sayısına bölümü olarak tanımlar. GAP programı için varsayılan parametreler şunları içerebilir: (1) Schwartz ve Dayhoff,

15 eds., ATLAS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE, National Biomedical Research Foundation, sayfa 353-358'de (1979) açıklandığı gibi bir birim karşılaştırma matrisi (özdeş olanlar için 1 değeri ve özdeş olmayanlar için 0 değeri içerir) ve Gribskov vd. (1986), Nucl. Acids Res. 14:6745'teki ağırlıklı karşılaştırma matrisi; (2) her bir boşluk için 3.0 ceza ve her bir boşluktaki her bir sembol için ek 0.10 ceza; ve (3) uç boşluklar

20 için ceza yoktur.

Dolayısıyla burada kullanılan "özdeşlik" veya "homoloji" terimi bir test ve bir referans polipeptid veya polinükleotid arasındaki bir karşılaştırmayı temsil eder. Burada kullanılan, "en az %90 özdeş" terimi referans nükleik asit dizisi veya polipeptidin amino asit dizisine göre yüzde 90 ila 99.99 özdeşliği belirtmektedir. %90 veya daha yüksek bir

25 seviyedeki özdeşlik için, açıklama amacıyla uzunluğu 100 amino asit olan bir test ve referans polipeptidinin karşılaştırıldığı varsayılır. Test polipeptidindeki amino asitlerin en fazla %10'u (yani 100 içinde 10) referans polipeptidinkinden farklıdır. Test ve referans polinükleotidi arasında benzer karşılaştırmalar yapılabilir. Bu tip farklar bir polipeptidin tüm uzunluğu boyunca rastgele dağılmış nokta mutasyonlar olarak temsil edilebilir veya

30 10/100 amino asit farkı (yaklaşık %90 özdeşlik) gibi maksimum izin verilen orana kadar değişken uzunluktaki bir veya daha fazla konumda kümelenebilirler. Farklar nükleik asit veya amino asit süstitüsyonları, eklemeleri veya delesyonları olarak tanımlanır. %85-

90'ın üzerindeki homoloji veya özdeşlik seviyelerinde, sonuç program ve ayarlanan boşluk parametrelerinden bağımsız olmalıdır; bu tip yüksek özdeşlik seviyeleri kolayca, genellikle manüel hizalamayla yazılıma bağlı olmadan değerlendirilebilir.

5 Burada kullanılan bir hizalanmış dizi bir nükleotid veya amino asit dizisindeki karşılık gelen konumları hizalamak için homoloji (benzerlik ve/veya özdeşlik) kullanılmasını belirtmektedir. Tipik olarak, %50 veya daha yüksek oranda özdeşlikle ilişkili iki veya daha fazla dizi hizalanır. Bir hizalanmış dizi seti karşılık gelen konumlarda hizalanmış olan 2 veya daha fazla diziyi belirtir ve genomik DNA dizisi ile EST'ler ve diğer cDNA'lar gibi RNA'lardan türetilen dizilerin hizalanmasını içerebilir.

10 Burada kullanılan "primer" terimi, bir uygun tampon içinde ve uygun bir sıcaklıkta uygun koşullar altında (ör., dört farklı nükleosid trifosfat ve bir polimerizasyon maddesi, örneğin DNA polimeraz, RNA polimeraz veya ters transkriptaz varlığında) bir şablonda yönlendirilen DNA sentezi başlangıç noktası olarak görev yapabilen bir nükleik asit molekülünü belirtmektedir. Takdir edileceği gibi, belirli nükleik asit molekülleri bir  
15 "prob" olarak ve bir "primer" olarak görev yapabilir. Ancak, bir primer uzatma için bir 3' hidroksil grubuna sahiptir. Bir primer çeşitli usullerde, örneğin, polimeraz zincir tepkimesi (PCR), ters-transkriptaz (RT)-PCR, RNA PCR, LCR, çoklu PCR, saplı PCR, yakalamalı PCR, ekspresyon PCR, 3' ve 5' RACE, *in situ* PCR, ligasyon-aracılığıyla PCR ve diğer amplifikasyon protokollerinde kullanılabilir.

20 Burada kullanılan "primer çifti" ifadesi, amplifikasyon uygulanacak olan (ör., PCR ile) bir dizinin 5' ucuna hibritlenen bir 5' (yukarı yönde) primer ve amplifikasyon uygulanacak olan dizinin 3' ucunun tamamlayıcısına hibritlenen bir 3' (aşağı yönde) primer içeren bir primer grubunu belirtmektedir.

Burada kullanılan "özgün bir şekilde hibritlenir" ifadesi bir nükleik asit molekülünün (ör.,  
25 bir oligonükleotid) bir hedef nükleik asit molekülüne tamamlayıcı baz eşleşmesi ile birleşmesini belirtmektedir. Teknikte uzman kişiler özel molekülün uzunluğu ve bileşimi gibi özgün hibridizasyonu etkileyen *in vitro* ve *in vivo* parametrelere aşınadır. Bilhassa *in vitro* hibridizasyon ile ilişkili parametrelere ayrıca birleştirme ve yıkama sıcaklığı, tampon bileşimi ve tuz konsantrasyonu dahildir. Özgün olmayan bir şekilde bağlanmış  
30 nükleik asit moleküllerini uzaklaştırmak için örnek yıkama koşulları yüksek sertlikte 0.1 x SSPE, %0.1 SDS, 65°C ve orta sertlikte 0.2 x SSPE, %0.1 SDS, 50°C'dir. Eşdeğer

sertlik koşulları teknikte bilinmektedir. Teknikte uzman kişiler bu parametreleri kolayca ayarlayarak belirli bir uygulama için bir nükleik asit molekülünün uygun bir hedef nükleik asit molekülüne özgün hibridizasyonunu elde edebilir. İki nükleotid dizisine atıfla kullanılan tamamlayıcı terimi iki nükleotid dizisinin karşılıklı nükleotidler arasında tipik olarak %25, %15 veya %5'ten az yanlış eşleşmeyle hibritlenebildiği anlamına gelir. Gerektiği takdirde tamamlayıcılık yüzdesi belirtilecektir. Tipik olarak, iki molekül yüksek sertlik koşulları altında hibritlenecekleri şekilde seçilir.

Burada kullanılan bir ürüne büyük ölçüde özdeş ifadesi ilgili özelliğin büyük ölçüde özdeş ürünün ürün yerine kullanılacağı şekilde yeterince değişmediği kadar yeterince benzer anlamına gelmektedir.

Anlaşılabileceği gibi burada kullanılan "büyük ölçüde özdeş" veya "benzer" terimleri ilgili teknikte uzman kişilerce anlaşılacağı gibi bağlamla değişir.

Burada kullanılan bir alelik varyant veya alelik varyasyon aynı kromozom lokusunda bulunan bir genin iki veya daha fazla alternatif formundan herhangi birini belirtmektedir. Allelik varyasyon mutasyon yoluyla doğal olarak ortaya çıkar ve popülasyonlar içinde fenotipik polimorfizme neden olabilir. Gen mutasyonları etkisiz olabilir (kodlanan polipeptidde değişiklik olmaz) veya değişmiş amino asit dizisine sahip olan polipeptidler kodlayabilir. "Alelik varyant" terimi burada ayrıca bir genin bir alelik varyantı tarafından kodlanan bir proteini temsil etmek için kullanılmaktadır. Tipik olarak, genin referans formu bir türün bir popülasyonu veya tek bir referans elemanından bir polipeptidin bir doğal tipteki formunu ve/veya baskın formunu kodlar. Tipik olarak, türler arasındaki ve içindeki varyantları kapsayan alelik varyantlar tipik olarak aynı türden doğal tipteki ve/veya baskın bir formla en az %80, %90 veya daha yüksek amino asit özdeşliğine sahiptir; özdeşlik derecesi gene ve karşılaştırmanın türler arası mı yoksa tür içi mi olduğuna bağlıdır. Genel olarak, türler arası alelik varyantlar bir polipeptidin doğal tipteki ve/veya baskın formuyla en az yaklaşık %80, %85, %90, %95 özdeşliğe, örneğin doğal tipteki ve/veya baskın formuyla %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek özdeşliğe sahiptir. Burada bir alelik varyanta yapılan atıf genel olarak aynı türün üyeleri arasındaki proteinlerdeki varyasyonları belirtmektedir.

Burada "alelik varyant" ile eş anlamlı olarak kullanılan "alel" terimi bir gen veya bunun bölümlerinin alternatif formlarını belirtmektedir. Aleller homolog kromozomlarda aynı



lokus veya konumda bulunur. Bir hasta bir genin iki özdeş aleline sahip olduğunda, hastanın bu gen veya alel için homozigoz olduğu söylenir. Bir hasta bir genin iki farklı aleline sahip olduğunda, hastanın bu gen için heterozigoz olduğu söylenir. Belirli bir genin alelleri tek bir nükleotid veya birkaç nükleotidde birbirinden farklı olabilir ve

5 nükleotid süstitüsyonları, delesyonları ve eklemeleri gibi modifikasyonlar içerebilir. Bir genin bir aleli ayrıca bir genin bir mutasyon içeren bir formu olabilir.

Burada kullanılan tür varyantları fare ve insan gibi farklı memeli türleri dahil farklı türler arasında polipeptidlerdeki varyantları belirtmektedir. Örneğin PH20 için, burada sağlanan tür varyantlarının örnekleri, sınırlayıcı olmaksızın, insan, şempanze, makak ve

10 sinomolgus maymunu gibi primat PH20'sidir. Genel olarak, tür varyantları %70, %75, %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya yüksek oranda dizi özdeşliğine sahiptir. Tür varyantları arasındaki içindeki karşılık gelen kalıntılar eşleşen nükleotid veya kalıntı sayısını maksimum seviyeye getirecek şekilde, örneğin, diziler arasındaki özdeşliğin %95 veya daha yüksek, %96 veya daha yüksek, %97 veya daha

15 yüksek, %98 veya daha yüksek veya %99 veya daha yüksek olacağı şekilde, dizilerin karşılaştırılması ve hizalanmasıyla belirlenebilir. İlgili konuma daha sonra referans nükleik asit molekülünde atanan numara verilir. Hizalama, özellikle dizi özdeşliği %80'den yüksek olduğu durumda, manüel olarak veya gözle gerçekleştirilebilir.

Burada kullanılan bir insan proteini, tüm alelik varyantlar ve koruyucu varyasyonlar

20 dahil, bir insan genomunda mevcut olan DNA gibi bir nükleik asit molekülü tarafından kodlanan bir proteindir. Modifikasyon bir insan proteininin doğal tip veya belirgin dizisine dayandığı takdirde, bir proteinin bir varyantı veya modifikasyon bir insan proteindir.

Burada kullanılan bir ekleme varyantı genomik DNA'nın bir birincil kopyasının birden

25 fazla tipte mRNA sağlayan bir şekilde farklı işlenmesiyle üretilen bir varyantı belirtmektedir.

Burada kullanılan modifikasyon bir polipeptidin bir amino asit dizisindeki veya bir nükleik asit molekülündeki bir nükleotid dizisindeki modifikasyonu belirtmektedir ve sırasıyla amino asit ve nükleotid delesyonları, eklemeleri ve ikamelerini (ör.,

30 süstitüsyonlar) kapsar. Modifikasyon örnekleri amino asit süstitüsyonlarıdır. Bir amino asit süstitüe edilmiş polipeptid amino asit süstitüsyonları içermeyen bir polipeptide

%65, %70, %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya daha yüksek dizi özdeşliği sergileyebilir. Amino asit süstitüsyonları koruyucu veya koruyucu olmayan tipte olabilir. Genel olarak, bir polipeptiddeki herhangi bir modifikasyon polipeptidin bir aktivitesini korur. Örneğin rekombinant DNA usullerinin kullanılması gibi bir polipeptidin modifiye edilmesine yönelik usuller teknikte uzman kişilerce bilinmektedir.

Burada kullanılan uygun koruyucu amino asit süstitüsyonları teknikte uzman kişilerce bilinmektedir ve genel olarak oluşan molekülün biyolojik aktivitesini değiştirmeden yapılabilir. Teknike uzman kişilerce anlaşılacağı gibi, genel olarak, bir polipeptidin esansiyel olmayan bölgelerindeki tekli amino asit süstitüsyonları biyolojik aktiviteyi büyük ölçüde değiştirmez (bkz., ör., Watson vd., Molecular Biology of the Gene, 4. Baskı, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. co., sayfa 224). Bu tip süstitüsyonlar örneğin aşağıda Tablo 2'de verilenlere göre yapılabilir:

**Tablo 2**

Orijinal kalıntı	Örnek koruyucu süstitüsyon
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

Orijinal kalıntı	Örnek koruyucu süstitüsyon
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

Başka süstitüsyonlar da mümkündür ve deney yoluyla veya bilinen koruyucu süstitüsyonlara göre belirlenebilir.

Burada kullanılan destekleyici terimi bir genin RNA polimerazı bağlanmasını ve transkripsiyonun başlatılmasını sağlayan DNA dizileri içeren bir bölümü anlamına gelir. Destekleyici dizileri her zaman olmamakla birlikte yaygın olarak 5' kodlayıcı olmayan gen bölgesinde bulunur.

Burada kullanılan izole edilmiş veya saflaştırılmış polipeptid veya protein veya bunun biyolojik olarak aktif bölümü proteinin türetildiği hücre veya dokudaki hücre malzemelerden veya diğer yabancı proteinlerden büyük ölçüde arınmış veya kimyasal olarak sentezlendiğinde ise büyük ölçüde kimyasal prekürsörlerden veya diğer kimyasal maddelerden arınmıştır. İnce tabaka kromatografisi (TLC), jel elektroforezi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi saflığı değerlendirmek için teknikte uzman kişilerce kullanılan standart analiz usulleriyle ölçüldüğünde tespit edilebilir katışıklıklar içermedikleri görüldüğü takdirde terkiplerin büyük ölçüde saf olduğu veya ek saflaştırmanın enzimsel ve biyolojik özellikleri gibi maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini tespit edilebilecek ölçüde değiştirmeyeceği şekilde yeterince saf olduğu belirlenebilir. Kimyasal olarak büyük ölçüde saf bileşikler üretmek için bileşiklerini saflaştırma usulleri teknikte uzman kişilerce bilinmektedir. Ancak, büyük ölçüde kimyasal olarak saf bir bileşik stereoisomerlerin bir karışımı olabilir. Bu gibi durumlarda, ek saflaştırma bileşiğın özgül aktivitesini arttırabilir.

Dolayısıyla, büyük ölçüde saflaştırılmış bir polipeptid, örneğın büyük ölçüde saflaştırılmış bir çözünebilir PH20'ye yapılan atıf hücre malzemelerden büyük ölçüde arınmış protein terkiplerini, proteinin izole edildiği veya rekombinant bir şekilde üretildiği hücrelerin hücre malzemelerinden ayrıştırılmış protein terkiplerini belirtmektedir. Bir düzenlemede, hücre malzemelerden büyük ölçüde arınmış terimi yaklaşık %30'dan daha az (kuru ağırlık bazında) enzim olmayan protein (burada ayrıca

bir yabancı protein olarak da belirtilmektedir), genel olarak yaklaşık %20'den daha az enzim olmayan protein veya %10'dan daha az enzim olmayan protein veya yaklaşık %5'ten daha az enzim olmayan protein içeren enzim proteini terkiplerini kapsar. Enzim proteini rekombinant olarak üretildiğinde, hemen hemen hiç kültür ortamı da içermez, yani, kültür ortamı enzim proteini terkiplerinin hacim bakımından yaklaşık %20, %10 veya %5 veya daha azını oluşturur.

Burada kullanılan kimyasal prekürsörlerden veya diğer kimyasal maddelerden büyük ölçüde arınmış terimi proteinin protein sentezinde kullanılan kimyasal prekürsörler veya diğer kimyasal maddelerden ayrıştırılmış olduğu enzim proteini terkiplerini kapsar. Terim yaklaşık %30 (kuru ağırlık bazında), %20, %10, %5 veya daha az kimyasal prekürsörler veya enzim olmayan kimyasallar veya bileşenler içeren enzim proteini terkiplerini kapsar.

Örneğin bir sentetik nükleik asit molekülü veya bir sentetik gen veya bir sentetik peptide atıfla burada kullanılan sentetik terimi rekombinant usullerle ve/veya kimyasal sentez usulleriyle üretilen bir nükleik asit molekülünü veya polipeptid molekülünü belirtmektedir.

Burada kullanılan rekombinant yollarla veya rekombinant DNA usulleri kullanarak üretim ifadesi klonlanmış DNA tarafından kodlanan proteinleri eksprese etmek için iyi bilinen moleküler biyoloji usullerinin kullanılması anlamına gelir.

Burada kullanılan vektör (veya plazmid), ekspresyonu ve/veya replikasyonu için bir heterolog nükleik asidin hücrelere yerleştirilmesi için kullanılan ayrı ayrı elemanları belirtmektedir. Vektörler tipik olarak epizomal kalır, ancak bir geni veya bir bölümünü genomun bir kromozomuna entegre edecek şekilde tasarlanabilirler. Ayrıca, maya yapay kromozomları ve memeli yapay kromozomları gibi yapay kromozomlar olan vektörler de kapsanmaktadır. Bu tip araçların seçimi ve kullanımı teknikte uzman kişilerce iyi bilinmektedir.

Burada kullanılan bir ekspresyon vektörü DNA fragmanlarının ekspresyonunu gerçekleştirebilen destekleyici bölgeler gibi düzenleyici dizilere işlevsel olarak bağlı olan DNA eksprese edebilen vektörleri kapsar. Bu tip ek parçalar destekleyici ve sonlandırıcı diziler içerebilir ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla kopya orijinali, bir veya daha fazla seçilebilir işaret, bir geliştirici, bir poliadenilasyon sinyali içerebilir. Ekspresyon

vektörleri genel olarak plazmid veya viral DNA'dan türetilir veya her ikisinden de elemanlar içerebilir. Dolayısıyla, bir ekspresyon vektörü, uygun bir konak hücreye uygulandığında, klonlanmış DNA'nın ekspresyonunu sağlayan bir plazmid, rekombinant virüs veya bir başka vektör gibi bir rekombinant DNA veya RNA yapısını belirtmektedir.

5 Uygun ekspresyon vektörleri teknikte uzman kişilerce iyi bilinmektedir ve bunlara ökaryotik hücrelerde ve/veya prokaryotik hücrelerde kopyalanabilenler ve epizomal kalanlar veya konak hücre genomuna entegre olanlar dahildir.

Burada kullanılan vektör ayrıca "virüs vektörleri" veya "viral vektörleri" kapsar. Viral vektörler ekzojen genleri hücrelere aktarmak için (araçlar veya mekikler olarak) ekzojen genlere işlevsel olarak bağlı olan işlenmiş virüslerdir.

DNA parçalarına atıfla burada kullanılan "işlevsel olarak bağlı" terimi, parçaların öngörülen amaçlarıyla uyumlu bir şekilde görev yapacakları, ör., transkripsiyonun destekleyicinin aşağı yönünde ve herhangi bir transkripsiyonlu dizinin yukarı yönünde başlayacağı şekilde düzenlendiği anlamına gelir. Destekleyici genellikle transkripsiyon makinesinin transkripsiyonu başlatmak için bağlandığı ve kodlayıcı parça boyunca sonlandırıcıya ilerlediği alandır.

Burada kullanılan "değerlendirme" terimi numunede mevcut olan bir enzim gibi bir protein veya bunun bir alanının aktivitesi için bir mutlak değer elde edilmesi ve ayrıca aktivitenin seviyesini gösteren bir indeks, oran, yüzde, görsel veya bir başka değer elde edilmesi bağlamında nicel ve nitel tayini kapsar. Değerlendirme doğrudan veya dolaylı olabilir. Örneğin, tespit edilen kimyasal türlerin kendilerinin doğal olarak enzimle parçalanmış ürünü olması şart değildir, ancak örneğin bir türev veya bir başka madde olabilir. Örneğin, bir parçalanma ürününün tespiti bir floresan parça gibi bir tespit edilebilen parça olabilir.

25 Burada kullanılan biyolojik aktivite bir bileşiğin *in vivo* aktivitelerini veya bir bileşik, bileşim veya bir başka karışımın *in vivo* uygulamasından kaynaklanan fizyolojik tepkileri belirtmektedir. Dolayısıyla biyolojik aktivite bu tip bileşikler, bileşimler ve karışımların terapötik etkilerini ve farmasötik aktivitesini kapsar. Biyolojik aktiviteler bu tip aktiviteleri test etmek veya kullanmak için tasarlanan *in vitro* sistemlerde gözlemlenebilir. Dolayısıyla, buradaki amaçlar doğrultusunda, bir hiyalüronidaz enziminin bir biyolojik aktivitesi hiyalüronik asidi parçalamasıdır.

İki nükleik asit dizisine atıfla burada kullanılan eşdeğer terimi, söz konusu iki dizinin aynı amino asit dizilerini veya eşdeğer proteinleri kodladığı anlamına gelir. Eşdeğer iki protein veya peptide atıfla kullanıldığında, iki protein veya peptidin sadece protein veya peptidin aktivitesi veya fonksiyonunu büyük ölçüde değiştirmeyen amino asit süstitüsyonları  
5 içeren büyük ölçüde aynı amino asit dizisine sahip olduğu anlamına gelir. Eşdeğer bir özelliği belirttiğinde, özelliğin aynı kapsamda mevcut olması şart değildir (ör., iki peptid aynı tip enzim aktivitesini farklı hızlarda sergileyebilir), ancak aktiviteler genellikle büyük ölçüde aynıdır.

Burada kullanılan "modüle etme" ve "modülasyon" veya "değiştirme" terimleri bir  
10 protein gibi bir molekülün bir aktivitesindeki bir değişimi belirtmektedir. Örnek aktivitelere, sınırlayıcı olmaksızın, biyolojik aktiviteler, örneğin sinyal iletimi dahildir. Modülasyon aktivitede bir artış (yani, artış veya agonist aktivite), aktivitede bir düşüş (yani azalma veya inhibisyon) veya bir aktivitedeki herhangi bir başka değişiklik (örneğin periyodiklik, sıklık, süre, kinetik veya bir başka parametrede bir değişim) içerebilir.  
15 Modülasyon bağlama bağlı olabilir ve tipik olarak modülasyon bir belirtilen durumla, örneğin, doğal tip protein, bir yapısal durumdaki protein veya belirli bir hücre tipi veya koşulda eksprese edilen protein ile karşılaştırılır.

Burada kullanılan doğrudan uygulama terimi seyreltilmeden uygulanan bir bileşimi belirtmektedir.

20 Burada kullanılan tek dozajlı bir formülasyon sadece bir kez kullanıma mahsus bir formülasyonu belirtmektedir. Tipik olarak, tek dozajlı bir formülasyon doğrudan uygulama içindir.

Burada kullanılan çok dozajlı bir formülasyon tekrarlanan uygulamalarda kullanıma mahsus bir formülasyonu belirtmektedir.

25 Burada kullanılan bir bileşim herhangi bir karışımı belirtmektedir. Bir çözelti, süspansiyon, sıvı, toz, macun, sulu, susuz veya bunların herhangi bir kombinasyonu olabilir.

Burada kullanılan bir kombinasyon terimi iki veya daha fazla öge arasındaki veya içindeki herhangi bir ilişkiyi belirtmektedir. Kombinasyon iki veya daha fazla ayrı öge,  
30 örneğin iki bileşim veya iki koleksiyon olabilir, bunların bir karışımı, örneğin iki veya

daha fazla ögenin tek bir karışımı veya bunların herhangi bir varyasyonu olabilir. Bir kombinasyonun elemanları genel olarak fonksiyonel olarak ilişkili veya ilgilidir.

Burada kullanılan "hastalık veya rahatsızlık" bir organizmadaki sınırlayıcı olmaksızın enfeksiyonlar, edinilmiş bozukluklar, genetik bozukluklar dahil neden veya bozukluktan kaynaklanan ve belirlenebilen semptomlarla karakterize edilen bir patolojik bozukluğu belirtmektedir. Buradaki ilgili hastalıklar ve rahatsızlıklar hiyalüronan ile ilişkili hastalıklar ve rahatsızlıklardır.

Burada kullanılan "intravenöz uygulama" terimi bir terapötik maddenin doğrudan bir damara iletimini belirtmektedir.

Burada kullanılan bir "hiyalüronan ile ilişkili kanser" veya "hiyalüronan bakımından zengin kanser" terimi, neden, sonuç veya hastalıkta veya rahatsızlıkla gözlemlenen bir başka unsur olarak hiyalüronan seviyelerinin yüksek olduğu kanserleri kapsar. Hiyalüronan ile ilişkili kanserler veya tümörler bir doku veya hücrede yüksek hiyalüronan seviyeleri, yüksek interstisyel sıvı basıncı, düşük vasküler hacim ve/veya bir dokuda yüksek su içeriği ile ilişkilidir. Bu tip kanserlere, örneğin, geç aşamadaki kanserler gibi katı tümörler dahil tümörler, metastatik kanserler, farklılaşmamış kanserler, yumurtalık kanseri, in situ karsinom (ISC), skuamöz hücreli karsinom (SCC), prostat kanseri, pankreas kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, meme kanseri, kolon kanseri ve diğer kanserler dahildir.

Burada kullanılan yüksek hiyalüronan seviyeleri hastalık veya rahatsızlığa, sonuca veya hastalıkta gözlemlenen bir başka unsura bağlı olan özellikle doku, vücut sıvısı veya hücredeki hiyalüronan miktarını belirtmektedir. Örneğin, bir hiyalüronan bakımından zengin tümörün mevcudiyetinin bir sonucu olarak, hiyalüronan (HA) seviyeleri vücut sıvılarında, örneğin kan, idrar, tükürük ve serumda ve/veya tümörlü doku veya hücrede yüksek olabilir. Seviye bir standart veya bir başka uygun kontrolle, örneğin HA ile ilişkili hastalığı olmayan bir hastanın benzer bir numunesi ile karşılaştırılabilir.

Burada kullanılan bir hastalığı veya rahatsızlığı olan bir hastayı "tedavi etme" ifadesi tedavinin ardından hastanın semptomlarının kısmen veya tamamen iyileştirilmesi veya sabit kalması anlamına gelir. Dolayısıyla, tedavi korunma, terapi ve/veya iyileştirmeyi

kapsar. Koruma, bir potansiyel hastalığın önlenmesini ve/veya bir hastalığın semptomlarının kötüleşmesinin veya ilerlemesinin önlenmesini belirtmektedir.

Burada kullanılan farmasötik olarak etkili bir madde ifadesi, sınırlayıcı olmaksızın, örneğin, kemoterapi maddeleri, anestezi maddeleri, vazokonstriktörler, dağıtıcı maddeler, geleneksel terapötik ilaçlar, örneğin küçük moleküllü ilaçlar ve terapötik proteinler dahil, herhangi bir terapötik maddeyi veya biyoaktif maddeleri kapsar.

Burada kullanılan tedavi terimi bir rahatsızlık, bozukluk, hastalık veya endikasyonun semptomlarının iyileştirildiği veya yararlı bir şekilde değiştirildiği herhangi bir şekli belirtmektedir.

Burada kullanılan terapötik etki terimi, bir hastanın tedavisinden elde edilen, bir hastalığın veya rahatsızlığın semptomlarını değiştiren, tipik olarak geliştiren veya iyileştiren veya bir hastalık veya rahatsızlığı iyileştiren bir etki anlamına gelir. Terapötik olarak etkili bir miktar bir bileşim, molekül veya bileşiğin, bir hastaya uygulandıktan sonra bir terapötik etki sağlayan miktarını belirtmektedir.

Burada kullanılan "süje" terimi bir insan gibi bir memeli dahil bir hayvanı belirtmektedir.

Burada kullanılan bir hasta terimi hastalık veya rahatsızlığın semptomlarını gösteren bir insan süjeyi belirtmektedir.

Burada kullanılan hemen hemen aynı ifadesi teknikte uzman kişilerin aynı olarak veya makul bir hata aralığı içinde olarak kabul edeceği bir miktar içinde anlamına gelir.

Örneğin, tipik olarak, farmasötik bileşimler için, en az %1, %2, %3, %4, %5 veya %10 içinde olanlar hemen hemen aynı kabul edilir. Bu tip bir miktar hastaların belirli bileşimler için toleranslarındaki değişime bağlı olarak değişebilir.

Burada kullanılan doz uygulama rejimi terimi uygulanan maddenin, örneğin, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir çözünebilen hiyalüronidaz veya bir başka madde içeren bileşimin miktarını ve uygulama sıklığını belirtir. Doz uygulama rejimi tedavi edilecek olan hastalık veya rahatsızlığın bir fonksiyonudur ve dolayısıyla değişebilir.

Burada kullanılan, uygulama sıklığı birbirini izleyen tedavi uygulamaları arasındaki süreyi belirtmektedir. Örneğin, sıklık günler, haftalar veya aylar olabilir. Örneğin, sıklık haftada birden fazla, örneğin haftada iki kez, haftada üç kez, haftada dört kez, haftada beş kez, haftada altı kez veya günlük olabilir. Sıklık ayrıca bir, iki, üç veya dört hafta olabilir.



Özel sıklık tedavi edilen özel hastalık veya rahatsızlığın bir fonksiyonudur. Genel olarak, frekans haftada birden fazla ve genel olarak haftada iki kezdir.

Burada kullanılan bir "uygulama döngüsü" terimi ardı ardına uygulamalarda tekrarlanan enzim ve/veya bir ikinci maddenin uygulanmasında doz uygulama rejiminin tekrarlanan programını belirtmektedir. Öreğin, bir örnek uygulama döngüsü, üç hafta boyunca haftada iki kez uygulama ve ardından bir hafta boyunca doz uygulamasına ara verilmesini içeren 28 günlük bir döngüdür.

Burada mg/hastanın kg'si cinsinden dozaja atıf yapıldığında, bir ortalama hastanın kütleinin yaklaşık 70 kg-75 kg, örneğin 70 kg ve vücut yüzey alanının (BSA) 1.73 olduğu kabul edilmektedir.

Burada kullanılan bir farmasötik bileşim veya bir başka terapötik maddenin uygulanması gibi bir tedavi ile belirli bir hastalık veya rahatsızlığın semptomlarının iyileştirilmesi, bir rahatsızlığın semptomları veya olumsuz etkilerindeki bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasıyla ilişkili veya bu uygulamayla ortaya çıkan her türlü kalıcı veya geçici, uzun süreli veya kısa süreli azalmayı belirtmektedir.

Burada kullanılan önleme veya koruma bir hastalık veya rahatsızlığın oluşması riskinin azaltılmasını belirtmektedir.

Burada kullanılan bir "terapötik olarak etkili miktar" veya "terapötik olarak etkili doz" ifadesi en azından bir terapötik etki oluşturmak için yeterli olan bir madde, bileşik, malzeme veya bir bileşik içeren bir bileşimin miktarını belirtmektedir. Dolayısıyla, bir hastalık veya rahatsızlığın bir semptomunu önlemek, tedavi etmek, iyileştirmek, durdurmak veya kısmen durdurmak için gereken miktardır.

Burada kullanılan birim doz formu terimi insan ve hayvan hastalar için uygun olan ve teknikte bilindiği gibi ayrı ayrı ambalajlanan fiziksel olarak ayrı birimleri belirtmektedir.

Burada kullanılan tek dozajlı bir formülasyon tek bir doz olan bir formülasyonu belirtmektedir.

Burada kullanılan doğrudan uygulamaya mahsus formülasyon terimi bileşimin uygulama için ek seyreltme gerektirmediği anlamına gelir.

Burada kullanılan bir "mamul ürün", yapılan ve satılan bir üründür. Bu başvuru boyunca kullanılan terim anti-hiyalüronan maddelerini, örneğin hiyalüronan parçalayan enzimi, örneğin hiyalüronidazı ve ambalajlı ürünlerde yer alan ikici madde bileşimlerini kapsar. Örneğin, bir ikinci madde bir kortikosteroid, tümör-güdümlü taksan veya kemoterapi maddesidir.

Burada kullanılan akışkan terimi akabilen herhangi bir bileşimi belirtmektedir. Dolayısıyla akışkanlar yarı-katılar, macunlar, çözeltiler, sulu karışımlar, jeller, losyonlar, kremler ve bu tip diğer bileşimler formunda olan bileşimleri kapsar.

Burada kullanılan bir kombinasyon, örneğin burada sağlanan bileşimlerin bir kombinasyonu kombinasyondaki elemanların bir birleşimini belirtmektedir.

Burada kullanılan bir kit bir bileşen kombinasyonunu, örneğin, sınırlayıcı olmaksızın, buradaki bileşimlerin ve hazırlama, aktifleştirme ve iletim, uygulama, teşhis ve bir biyolojik aktivitenin veya özelliğin değerlendirilmesi için araçlar/cihazlar dahil, bir amaca yönelik bir başka ögenin bir kombinasyonunu belirtmektedir. Kitler isteğe bağlı olarak kullanım talimatları içerir.

Burada kullanılan bir hücresel ekstrakt veya lizat terimi bir çözülmüş veya parçalanmış hücreden yapılan bir terkip veya fraksiyonu belirtmektedir.

Burada kullanılan hayvan terimi herhangi bir hayvanı, örneğin, sınırlayıcı olmaksızın, insanlar, goriller ve maymunlar dahil primatlar; kemirgenler, örneğin fareler ve sıçanlar; kanatlı hayvanlar, örneğin tavuklar; geniş getiren hayvanlar, örneğin, keçiler, inekler, geyikler, koyunlar; domuzlar ve diğer hayvanları kapsar. İnsan olmayan hayvanlara burada kapsanan insanlar dahil değildir. Burada sağlanan hiyalüronidazlar herhangi bir kaynaktan, hayvan, bitki, prokaryotik ve mantardan olabilir. Çoğu hiyalüronidazlar, memeli menşeliler dahil, hayvan menşelidir. Genel olarak hiyalüronidazlar insan menşelidir.

Burada kullanılan anti-kanser tedavilerine kanser tedavisi için olan ilaçlar ve başka maddelerin ve ayrıca tedavi protokollerinin, örneğin ameliyat ve radyasyonun uygulanmasını kapsar. Anti-kanser tedavilerine anti-kanser maddelerinin uygulanması dahildir.

Burada kullanılan bir anti-kanser maddesi anti-kanser tedavisinde kullanılan herhangi bir madde veya bileşiği belirtmektedir. Bunlara, tek başına veya başka bileşiklerle kombinasyon halinde kullanıldığında, tümörler ve kanserle ilişkili klinik semptomları veya teşhis işaretlerini hafifletebilen, azaltabilen, iyileştirebilen, önleyebilen veya gerileme durumuna getiren veya bu durumda tutan ve burada sağlanan kombinasyonlarda ve bileşimlerde kullanılan herhangi bir madde dahildir. Örnek anti-kanser maddelerine, sınırlayıcı olmaksızın, hiyalüronan-parçalayan enzimler, örneğin tek başına veya başka anti-kanser maddeleriyle, örneğin kemoterapi maddeleri, polipeptidler, antikorlar, peptidler, küçük moleküller veya gen terapisi vektörleri, virüsler veya DNA'larla kombinasyon halinde kullanılan burada sağlanan PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimler dahildir.

Burada kullanılan bir kontrol bir test parametresi ile işlenmemiş olması dışında test numunesine büyük ölçüde özdeş olan bir numuneyi belirtmektedir veya bir plazma numunesi olduğu takdirde, ilgili rahatsızlıktan etkilenmemiş olan bir normal gönüllüden olabilir. Bir kontrol ayrıca bir dahili kontrol olabilir.

Burada kullanılan tekil formdaki "bir" ifadesi, kullanıldığı bağlamda tersi açık bir şekilde belirtilmediği sürece, çoğul formları kapsar. Dolayısıyla, örneğin, "bir hücre-dışı alan" içeren veya ihtiva eden bileşiğe yapılan atıf bir veya birden fazla hücre-dışı alan içeren bileşikler kapsar.

Burada kullanılan aralıklar ve miktarlar "yaklaşık" belirli bir değer veya aralık olarak ifade edilebilir. Yaklaşık ayrıca tam miktarı da kapsar. Dolayısıyla "yaklaşık 5 baz" hem "yaklaşık 5 baz" ve hem de "5 baz" anlamına gelir.

Burada kullanılan "isteğe bağlı" veya "isteğe bağlı olarak" terimleri müteakiben açıklanan olayın ve durumun olacağı veya olmayacağını ve açıklamanın bahsedilen olayın veya durumun gerçekleştiği ve gerçekleşmediği durumları kapsadığı anlamına gelir. Örneğin, bir isteğe bağlı olarak süstitüe edilmiş grup ifadesi grubun süstitüe edilmemiş olduğu veya süstitüe edilmiş olduğu anlamına gelir.

Burada herhangi bir koruyucu grup, amino asit ve diğer bileşikler için kullanılan kısaltmalar, aksi belirtilmedikçe, yaygın kullanımlarına, kabul edilmiş kısaltmalara veya

IUPAC-IUB Biyokimyasal Terminoloji Komisyonu'na göredir (bkz., (1972) Biochem. 11:1726).

## **B. ANTI-HİYALÜRONAN MADDESİ KOMBİNASYON TERAPİSİ**

Burada, kanserlerin tedavisinde kullanım için, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir  
 5 hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan, örneğin albümine bağlı  
 paklitakselin kombinasyon terapileri sağlanmaktadır. Örneğin, kanserlerin tedavisinde  
 kullanım için, polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin  
 PEGPH20 gibi bir hiyalüronidaz ve bir tümör-güdümlü taksan, örneğin albümine bağlı  
 paklitakselin kombinasyon terapileri sağlanmaktadır. Özellikle, burada sağlanan  
 10 kombinasyon terapisi stroma katmanından dolayı nüfuz edilemeyen katı tümörlerle  
 karakterize edilen her türlü kanserin tedavisinde kullanılır. Bu tip kanserlerin örneklerine,  
 katı tümör kanserleri, örneğin, sınırlayıcı olmaksızın, pankreas kanseri, meme kanseri,  
 prostat kanseri, mide kanseri, kolon kanseri, yumurtalık kanseri, baş ve boyun kanseri ve  
 diğerleri dahildir. Kombinasyon terapisi ayrıca bir başka sitotoksik kemoterapi ilacı,  
 15 örneğin anti-hiyalüronan maddesi, örneğin, polimere konjüge edilmiş hiyalüronan  
 parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın biri veya her ikisi tarafından aktivitesi  
 artırılan (ör., artan iletim ve/veya artan yarılanma ömrü sayesinde) herhangi bir ilaç  
 içerebilir. Örneğin, ek kemoterapi maddesi doğrudan anti-tümör aktiviteleri sergileyen  
 bir nükleosid analogu, örneğin gempisitabin veya bunun bir türevi olabilir.

### **20 1. Katı Tümörler ve Tümör Güdümlü Terapiler**

Katı tümörler bir hücre-dışı matris ve damar ağı ile çevrelenmiş kanser hücreleri ve  
 stroma hücrelerinden (ör., fibroblastlar ve enflamatuvar hücreler) oluşur. Stroma  
 hücreleri, hücre-dışı matris bileşenleri ve/veya damar ağı genel olarak normal dokularda  
 mevcut olanlara kıyasla anormaldir. Örneğin, birçok katı tümör normal dokulara kıyasla  
 25 yüksek bir sayıda fibroblast içerir. Ayrıca, katı tümörlerdeki damar ağı normal damar  
 ağına kıyasla dallanmış veya dolambaçlı bir yapı sergileyebilir ve açılmış damarlar,  
 endotelial astarda azalma ve/veya sıkıştırılmış damarlarla karakterize edilen yapısal  
 anormallikler içerebilir. Son olarak, tümör ve stroma hücreleri bir yoğun kütle oluşturan  
 ve yüksek tümör interstisyel basıncına katkı yapabilen, kolajenler, proteoglikanlar,  
 30 glikozaminoglikanlar (ör., hiyalüronan) ve diğer moleküller gibi hücre-dışı matris

bileşenlerinden bir karmaşık ağ üretir ve bir araya getirir. Uç küçük atardamarlar ve kılcal damarlardaki intravasküler basıncın üzerindeki yüksek interstisyel akışkan basıncı akışkanlar ve çözünmüş maddelerin interstisyuma perfüzyonunu bozabilir. Dolayısıyla, yüksek interstisyel basınç terapötik maddelerin tümör dokuları içine alınmasını engellerebilir ve ayrıca tümör hücrelerinin büyüme özelliklerini tümör hücresi proliferasyonunu destekleyecek şekilde etkileyebilir.

Tümör terapilerinin etkili olması için, ilaçlar etkili bir şekilde tümör kan damarlarından çıkmalı ve tümör dokularına nüfuz ederek kanser hücrelerine ulaşmalıdır. Yüksek interstisyel sıvı basıncının yanı sıra hücre-dışı matris ve ilişkili hücrelerin yoğun bileşimi ve düzeni ilacın nüfuz etmesini etkiler. Sonuç olarak, stroma bariyeri çoğunlukla antitümör ilaçlarının tümörlere nüfuz etmesini önler, bu da birçok geleneksel kanser tedavisinin etkisiz hale getirir.

Örneğin, pankreas kanseri tüm katı tümör kanserlerinin en az nüfuz edilebilenleri arasındadır. Sonuç olarak, pankreas duktal adenokarsinomu dahil pankreas kanserleri 5 yıllık hayatta kalma oranının %5'ten düşük olacağı şekilde, geleneksel kemoterapi maddelerine doğal bir dirençle karakterize edilir. Pankreas kanseri için standart terapi gemsitabin ile tedavidir. Gemisitabin, hasta hayatta kalma oranının artırılması üzerinde sınırlı etkilere sahiptir. Örneğin, gemisitabin monoterapisi ile tedavi edilen hastaların sadece yaklaşık dörtte biri fluorourasil (5-FU) kemoterapi maddesiyle tedaviden sadece bir ay uzun olan 5 ayın bir üzerinde ortalama hayatta kalma süresiyle bir klinik fayda sergilemektedir (Burriss vd. (1997) *J Clin Oncol*, 15:2403-2413). Tedaviye pankreas kanseri ameliyatı veya bir başka kemoterapi olmayan ek madde terapisinin eşlik ettiği bir ek madde ortamında, gemisitabin hayatta kalma süresini sadece ameliyat olan hastalara kıyasla iki ay arttırmıştır (Neuhaus vd. (2008) *J. Clin. Oncol.* 26: 20 Mayıs ek; özet).

Son dönemde, stroma katmanına ve ilişkili damar ağına nüfuz edebilen bir terapötik madde içeren terapiler geliştirilmiştir. Stromayı yok edebilen, stromada delikler açabilen veya bir şekilde nüfuz edebilen terapötik maddeler nüfuz edilemeyen bir stroma katmanıyla karakterize edilen birçok kanser için ümit vadeden terapötik maddeler olarak görülmektedir. Bu tip maddelere, örneğin, albümine konjüge edilmiş taksanlar (Von Hoff vd. (2011) *J. Clin. Oncol.*, 29:4548-54; Frese vd. (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269), bir kirpi inhibitörü (Olive vd. (2009) *Science*, 324:1457-61) ve polimere konjüge edilmiş

hiyalüronidaz (Provenzano vd. (2012) *Cancer Cell*, 21:418-429) dahildir. Bu tedavilerin her biri ayrıca kemoterapi maddesinin (ör., gemitabin) monoterapisine kıyasla geliştirilmiş antitümör etkileri ve hayatta kalma süresinin ikiye katlanmasını sağlayacak şekilde, stroma güdümlü olmayan kemoterapi maddelerinin artan iletimiyle ilişkilidir.

#### 5 a. Tümör-Güdümlü Taksan

Taksanlar, örneğin paklitaksel (ör. Taxol®) ve dosetaksel (ör. Taxotere®) birden fazla tümör tipinin tedavisinde kullanım için kuvvetli kemoterapi maddeleridir. Taksanlar mikrotübüllere yüksek afiniteyle bağlanan, böylece hücre bölünmesini engelleyen mitotik inhibitörler olarak görev yapar. Sonuç olarak, taksanlar tümör hücresi büyümesini ve metastazı önler ve hücre ölümüne neden olabilir. Çözünürlük ve ilişkili toksisiteler, uzun süre sistemik mevcudiyet ve tümör stromasına erişememe ile ilişkili problemlerden dolayı, taksanların terapötik kullanımı sınırlanmıştır.

Taksanların terapötik kullanımı ile ilişkili problemleri çözmek için, taksanların albümine bağlı tanecik formlarından oluşan gp60 reseptörü güdümlü nano-tanecikli ilaç formülasyonu geliştirilmiştir. Bunlara, örneğin, nano-tanecikli albümine bağlı (nab)-paklitaksel (ABI-007, ör. Abraxane®) ve nano-tanecikli albümine bağlı dosetaksel (ABI-008) dahildir. Gp60, damar endotelyumu üzerindeki albümin reseptörüdür. Gp60 aracılığıyla albümin reseptörü aracılığıyla alım, hücre membranının invajinasyonu ile hücre-dışı boşluk, transitöz ve kaveole içeriklerinin damar-dışı birikimine bağlı plazma bileşenleri içeren transitotik veziküller oluşmasına yol açan hücre-dışı kaveolin-1 ile birleşmeyle sonuçlanır. Ek olarak, albümin ayrıca çeşitli kanserlerde aşırı eksprese edilen ve kötü prognozla ilişkili olan bir hücre-dışı matris glikoproteini olan SPARC'a (asit ve sistein bakımından zengin salgılanan protein) da bağlanır. Sonuç olarak, ilaç iletimi için stroma bariyerleri atlatılır ve daha yüksek bir tümör-içi ilaç konsantrasyonu elde edilir. Nab-Paklitaksel, geleneksel çözücü-bazlı paklitakसेle kıyasla, daha yüksek tümör-içi konsantrasyon ve yüksek biyoyararlanım sağlayabilir (Foote (2007) *Biotechnology Annual Review*, 13:345).

Tümör-güdümlü taksanlar, örneğin albümine konjüge edilmiş taksanlar stromaya nüfuz ederek tüketebildiklerinden veya çökertebildiklerinden, başka maddelerin tümöre iletimini geliştirmek için bu maddeler başka stroma güdümlü olmayan kemoterapi

maddeleriyle kombinasyon halinde kullanılabilir. Geliştirilmiş iletim mekanizması stroma mimarisinin parçalanmasına ve kemoterapi maddesinin yüksek perfüzyonunu ve iletimini sağlayan reaktif anjiyogenezin başlatılmasına atfedilmektedir (bkz., ör., Frese vd. (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269). Örneğin, çalışmalar bir albumine-konjüge edilmiş taksan olan nab-paklitakselin, gemsitabin ile kombinasyon halinde, tek başına gemsitabin ile tedaviye kıyasla, tümör içindeki gemsitabin miktarını neredeyse 2.8 kat arttırdığını göstermiştir (Von Hoff vd. (2011) *J. Clin. Oncol.*, 29:4548-4554). Sonuçlar ayrıca, kombinasyon terapisinin pankreas kanseri olan hastaların hayatta kalma süresini iki katına çıkardığını göstermiştir (Von Hoff vd. (2011)).

10 Nab-paklitaksel terapisiyle kombinasyon halinde geliştirilmiş tümör-içi gemsitabin miktarları mekanizması yakın zamanda nab-paklitaksel ile tedavi edilen gruplarda sitidin deaminazdaki (Cda) bir azalmayla ilgili bir bağımsız mekanizmaya atfedilmiştir (Frese vd. (2012) *Cancer Discovery* 2:260-269). Cda hücrelerde her yerde eksprese edilmektedir ve diflorodeoksiüridin (dFdU) metaboliti halinde deaminasyonla gemsitabini pasifleştirebilir. Nab-paklitaksel tedavisi reaktif oksijen türlerini (ROS) arttırmış, bu da mRNA seviyelerinde herhangi bir modülasyon olmadan Cda parçalanmasına yol açmıştır. Dolayısıyla, nab-paklitaksel ile birlikte tedavi gemsitabinin deaminasyonunda bir azalma sağlar ve böylece gemsitabini stabilize ederek tümör-içi gemsitabin seviyelerini geliştirir.

#### **b. Anti-Hiyalüronan Maddesi**

20 Anti-hiyalüronan maddeleri, sentezini engelleyerek veya parçalanmasını artırarak hiyalüronik asit (HA; burada hiyalüronan olarak da belirtilmektedir) seviyelerini düşürür. Örneğin, hiyalüronan-parçalayan enzimler, örneğin hiyalüronidaz enzimleri, hiyalüronik aside müdahale eden ve parçalayan enzimlerdir. Hiyalüronan katı tümörlerin hücre-dışı matrisinin önemli bir bileşenidir. HA, D-glükuronik aside  $\beta$ -1,3 N-asetil-D-glükozamin-bağlı  $\beta$ -1,4, disakkarid tekrarlanan birimleri içeren bir yüksek molekül ağırlıklı doğrusal glikozaminoglikandır. HA kanda doğal olarak oluşur ve pankreas kanser hücreleri dahil bazı kanser hücrelerinde son derece yüksek seviyelerde salgılanır. Lokal HA metabolizması anormallikleri birçok katı tümör habisliklerinde rapor edilmektedir, burada yüksek HA seviyeleri sıklıkla meme, mide, kolorektal, yumurtalık, prostat ve akciğer karsinomu gibi tümörlerde kötü prognozla korelasyonludur.

HA, tümörler gibi hasta dokularda yüksek su alımı ve interstisyel sıvı basıncında (IFP) rol oynar, dolayısıyla sıkıştırılmış tümör damar ağına neden olur. Örneğin, enflamasyon bölgelerinde veya bir tümör odağında, hiyalüronan, başka matris bileşenleri ve su hızla toplanır. Bu hızlı toplanmadan dolayı, hastalıklı bölge çevresiyle dengelenemez ve  
5 dolayısıyla normal dokulardan daha yüksek bir interstisyel sıvı basıncına sahip olur. Yukarıda bahsedildiği gibi, çoğu katı tümörün ve HA toplanmasıyla ilişkili diğer hastalıklı dokuların IFP'si yüksektir ve etkili ilaç iletimi için bir bariyer oluşturur (Heldin vd. (2004) Nat Rev Cancer 4(10):806-813). HA toplanması ayrıca tümör hücreleri arasında içinde temas inhibisyonunu azaltır (bkz., ör., Itano vd. (2002) Proc. Natl. Acad.  
10 Sci. ABD 99:3609-3614).

HA sentezini inhibe eden veya hiyalüronan parçalayan anti-hiyalüronan maddeleri, örneğin hiyalüronan parçalayan enzimler, ör., hiyalüronidazlar (ör., PH20) dokunun söneceği, kan damarlarının genişleyeceği ve bölge boyunca daha fazla kanın akabileceği şekilde, hiyalüronanı azaltabilir. Bu, doku bölgesinde interstisyel sıvı basıncında bir  
15 azalma ve damar perfüzyonunda bir ilişkili artış sağlar. Örneğin, hiyalüronidazın tümörlerden HA'yı uzaklaştırarak tümör hacminde azalma, tümör-içi interstisyel basınçta azalma, tümör hücresi proliferasyonunda yavaşlama ve tümöre nüfuz etmeyi artırarak birlikte uygulanan kemoterapi ilaçları ve biyolojik maddelerin etkinliğinin artmasını sağlar (bkz., ör., ABD yayınlanmış başvuru No. 20100003238 ve Uluslararası  
20 yayınlanmış PCT Başvurusu No WO 2009/128917).

Sistemik tedavi için bir PH20 enzimi gibi hiyalüronidaz kullanımında enzimin kısa yarılanma ömrüyle ilişkili problemler mevcuttur. Örneğin, modifiye edilmemiş hiyalüronidaz tipik olarak kanda dakikalar cinsinden, genellikle 5 dakikadan kısa bir enzimsel aktivite yarılanma ömrüne sahiptir. Bu, bu tip enzimlerin genel olarak  
25 intravenöz uygulamalarda ve etki süresinin kısa süreli olduğu başka uygulamalarda kullanım için uygun olmadığı anlamına gelir. Bunun nedeni, parçalanmanın ardından, HA substratının 5 saatlik bir yarılanma ömrüyle değiştirilmesidir. Buna karşılık, bir hiyalüronidazın iletimini ve hücreyle ilişkili hiyalüronanla (ör., tümörle ilişkili hücre çevresindeki hiyalüronan) ile birleşme süresini uzatan usuller HA bakımından zengin  
30 tümörlerin tedavisine olanak sağlar. Bu tip usullere, sınırlayıcı olmaksızın, enzimin bir polimere konjüge edilmesi, aglikosillenmiş veya glikosilasyonu azaltılacak şekilde



modifiye edilmiş bir enzimin kullanılması, enzimin sürekli infüzyonu ve/veya enzimin lokal olarak iletilmesi dahildir. Örneğin, PEG'leme gibi hiyalüronidazın polimerle modifikasyonu enzimin yarılanma ömrünü yaklaşık 48 ila 72 saate yükseltir ve HA bakımından zengin tümörlerin sistemik tedavisine olanak sağlar (bkz., ör., ABD 5 yayınlanmış başvurusu No. 20100003238 ve Uluslararası yayınlanmış PCT Başvurusu No. WO 2009/128917). Modifiye edilmemiş hiyalüronidaza kıyasla artan yarılanma ömrü HA'nın sürekli uzaklaştırılmasına olanak sağlar ve böylece tümör gibi hastalıklı dokular içindeki HA yenilenme miktarını azaltır veya düşürür. Böylece, polimer konjügasyonu ile plazma enzim seviyelerinin korunması HA'yı, örneğin tümör HA'yı 10 uzaklaştırabilir ve ayrıca HA sentezine karşı koyabilir.

Ek olarak, polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimler, örneğin bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronidaz veya PH20, örneğin PEGPH20, HA'yı parçalayarak kanser hücrelerini çevreleyen stromayı tüketebilir. Bu tip maddeler tümörlerin tedavisi için tek maddeli terapide veya gemsitabin gibi stroma güdümlü 15 olmayan kemoterapi maddelerinin iletimini arttırmak için kombinasyon terapisinde kullanılabilir. Pankreas kanseri olan hastalardaki klinik denemelerin sonuçları da gemsitabinle kombinasyon halinde PEGPH20 tedavisinin tek başına gemsitabinle tedaviye kıyasla toplam hayatta kalma süresini neredeyse iki katına çıkardığını göstermektedir (Provenzano vd. (2012) Cancer Cell, 21:418-429).

## 20 **2. Anti-Hiyalüronan Maddesi Ve Tümör-Güdümlü Taksan Kombinasyon Terapisi**

Burada, en az iki farklı stroma veya tümör güdümlü terapi içeren kombinasyon terapilerinin bir tek stroma hedef alan maddeden çok daha yüksek etki sergilediği bulunmuştur. Örneğin, tümör-güdümlü taksan ve bir anti-hiyalüronan maddesi, özellikle HA seviyelerini düşürmek için yeterli bir süre boyunca bir tümör üzerindeki hücre 25 çevresindeki HA'ya ulaşabilen bir anti-hiyalüronan maddesi ile kombinasyon terapisinin her iki maddenin tek başına uygulandığı tedaviye kıyasla yüksek etkinlik sergilediği bulunmuştur. Örneğin, bir tümör-güdümlü taksan yaksan ve bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronidaz ile kombinasyon terapisini tek maddeli tedaviye kıyasla etkinlikte %25'lik bir artış sağlar. Ayrıca stroma güdümlü olmayan kemoterapi ilacı gemsitabinle 30 kombinasyon halinde, sadece gemsitabinle tedaviye kıyasla bir pankreas kanseri fare modelinde bir örnek kanserde orta hayatta kalma süresini %79 arttırmış ve sadece tek bir

stromayı hedef alan madde içeren mevcut terapilere kıyasla %30'dan fazla arttırmıştır. Etkinlikteki bu artış mevcut tedavilere kıyasla pankreas kanseri ve nüfuz edilemeyen bir stroma ile karakterize edilen başka kanserleri olan hastaların hayatta kalma sürelerinde önemli bir iyileşmeye dönüşebilir.

- 5 Dolayısıyla, burada katı tümör stromal kanserlerin tedavisi için, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim veya polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., hiyalüronidaz veya PH20) ve bir tümör-güdümlü taksan, örneğin bir albümine bağlı taksan içeren bir kombinasyon terapisi kullanılan usuller sağlanmaktadır. Örneğin, kombinasyon terapisi pankreas kanseri, meme kanseri, 10 prostat kanseri, mide kanseri, kolon kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri, yumurtalık kanseri ve diğerlerinin tedavisi için kullanılabilir. Anti-hiyalüronan maddesi, örneğin polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., hiyalüronidaz veya PH20) ve bir tümör-güdümlü taksan (ör., albümine bağlı taksan) içeren bileşimler kombinasyonda ayrı ayrı bir şekilde sağlanabilir veya tek bir bileşim halinde sağlanabilir.
- 15 Ayrı ayrı bir şekilde sağlandığında ve uygulandığında, maddeler aynı anda veya hemen hemen aynı anda, herhangi bir sırada sırayla veya fasıllı olarak uygulanabilir. Örneğin, bir anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., hiyalüronidaz veya PH20) ve bir tümör-güdümlü taksan (ör., albümine bağlı taksan) ayrı bir şekilde uygulanabilir, burada hemen hemen aynı anda uygulanabilirler 20 veya arada saatler veya günler olacak şekilde uygulanabilir. Enjeksiyon bölgesi aynı veya farklı olabilir. Farklı olduğu takdirde, enjeksiyon bölgesi birinci uygulanan maddenin enjeksiyon bölgesine yakın olabilir.

- Tümör güdümlü maddelerin kombinasyonu katı tümör stroma kanserlerini tedavi etmek için birlikte kullanılabilir veya başka kemoterapi maddeleri veya tedavilerle ek 25 kombinasyonlar halinde kullanılabilir. Belirli örneklerde, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., hiyalüronidaz veya PH20) ve bir tümör-güdümlü taksan (ör., albümine bağlı taksan) kombinasyonu bir kemoterapi maddesi ile ek kombinasyon halinde kullanılır. Diğer madde stromayı hedef alan veya almayan bir madde olabilir. Tipik olarak, diğer madde doğrudan antitümör 30 aktivitesi sergileyen bir stromal olmayan sitotoksik maddedir. Örneğin, ek kemoterapi maddesi platin (cisplatin veya karboplatin), paklitaksel, gemsitabin, dosetaksel,

vinorelbin, irinotekan ve pemetreksed gibi bir sitotoksik madde olabilir. Tipik olarak, ek kemoterapi maddesi bir nükleosid analogu, örneğin gempitabindir. Ek tedavi veya madde anti-hiyalüronan maddesi, örneğin polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., hiyalüronidaz) ve/veya bir tümör-güdümlü taksan (ör., albümine bağlı taksan) 5 kombinasyonundan ayrı bir şekilde veya birlikte uygulanabilir. Ek madde kombinasyonda ayrı bir şekilde uygulanabilir veya tek bir bileşim halinde sağlanabilir. Ayrı bir şekilde sağlandığı ve uygulandığı takdirde, ek madde anti-hiyalüronan maddesi ve/veya bir albümine bağlı taksan kombinasyon terapisi ile herhangi bir sırayla aynı anda veya hemen hemen aynı anda, sırayla veya fasıllı olarak uygulanabilir. Tipik olarak, ek 10 maddenin geliştirilmiş iletimini sağlamak için, ek madde anti-hiyalüronan maddesi ve/veya bir albümine bağlı taksan kombinasyon terapisinin uygulanmasından sonra uygulanır. Ek kemoterapi maddesinin geliştirilmiş iletimi ve yarılanma ömrü sayesinde, mevcut dozaj rejimlerine göre ek maddenin uygulama dozajı düşürülebilir ve/veya uygulama sıklığı azaltılabilir. Sonuç olarak, burada sağlanan kombinasyon terapisi 15 birlikte uygulanan ek terapötik maddenin (ör., gempitabin gibi nükleosid analogu) tek başına uygulanmasına veya tek başına bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin, hiyalüronan parçalayan enzim veya tümör-güdümlü taksanla uygulanmasına kıyasla daha az yan etkileri olmasını sağlayabilir.

Aşağıdaki bölümlerde, burada sağlanan kombinasyon terapisinde kullanıma yönelik 20 polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimler, tümör-güdümlü taksanlar ve diğer örnek sınırlayıcı olmayan kemoterapi maddeleri dahil, örnek anti-hiyalüronan maddeleri açıklanmaktadır. Ayrıca stromal katı tümör kanserlerinin tedavisi için örnek dozaj rejimleri ve usulleri açıklanmaktadır.

### **C. Kombinasyon Terapisi Maddeleri**

25 Burada, kanserlerin tedavisinde kullanım için, anti-hiyalüronan maddeleri, örneğin hiyalüronan parçalayan enzimler ve bir tümör-güdümlü taksan, örneğin albümine bağlı paklitakselin kombinasyon terapileri sağlanmaktadır. Özellikle, kanserlerin tedavisinde kullanım için, bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin PEGPH20 gibi bir hiyalüronidaz ve bir tümör-güdümlü taksan, örneğin albümine bağlı 30 paklitakselin kombinasyon terapileri sağlanmaktadır. Özellikle, burada sağlanan kombinasyon terapisi hücre-dışı matristen dolayı nüfuz edilemeyen katı tümörlerle

karakterize edilen her türlü kanserin tedavisinde kullanılır. Bu tip kanserlerin örneklerine, katı tümör kanserleri, örneğin, sınırlayıcı olmaksızın, pankreas kanseri, meme kanseri, prostat kanseri, mide kanseri, kolon kanseri, yumurtalık kanseri, baş ve boyun kanseri ve diğerleri dahildir. Kombinasyon terapisi ayrıca bir başka sitotoksik kemoterapi ilacı, 5 örneğin anti-hiyalüronan maddesi, örneğin, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın biri veya her ikisi tarafından aktivitesi artırılan (ör., artan iletim ve/veya artan yarılanma ömrü sayesinde) herhangi bir ilaç içerebilir. Örneğin, ek kemoterapi maddesi doğrudan anti-tümör aktiviteleri sergileyen bir nükleosid analogu, örneğin gemsitabin veya bunun bir türevi olabilir.

### 10 **1. Anti-Hiyalüronan Maddeleri**

Kombinasyonlar ve usuller ve bunların kullanımları dahil burada sağlanan kombinasyon terapisi bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim, ör., bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim içerir. Anti-hiyalüronan maddesi, hedefine ulaşacak şekilde ve özellikle hücre çevresinde yüksek HA içeren bir 15 tümör hücresine ulaşacak şekilde uygulanabilen bir maddedir. Örneğin, anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim kesintisiz infüzyonla uygulanabilir veya lokal olarak enjekte edilebilir, bir polimerle modifiye edilebilir veya aglikosillenmiş olan veya aglikosillenmiş olacağı veya düşük glikosilasyona sahip olacağı şekilde modifiye edilmiş bir maddedir. Bir örnekte, sağlanan bileşimler ve kombinasyonlar, 20 örneğin bir hastada uzun süren/uzun süreli tedavi etkilerini desteklemek için, tipik olarak hiyalüronan parçalayan enzimin yarılanma ömrünü arttırmak için, bir veya daha fazla polimerik moleküle (polimer) konjüğe edilerek modifiye edilmiş olan bir hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir çözünebilen hiyalüronidaz (ör., bir PH20 veya kesilmiş PH20) içerir.

25 Hiyalüronan hücre-dışı matrisin bir bileşeni ve interstisyel matrisin önemli bir bileşenidir. Hiyalüronan parçalayan enzimler, hiyalüronan hidrolizini katalize ederek, hiyalüronan viskozitesini düşürür ve böylece doku geçirgenliğini artırır ve parenteral olarak uygulanan sıvıların absorpsiyon hızını artırır. Dolayısıyla, hiyalüronan parçalayan enzimler, örneğin hiyalüronidazlar dahil anti-hiyalüronan maddeleri, örneğin, dağılım ve 30 iletimlerini arttırmak için başka maddeler, ilaçlar ve proteinlerle birlikte yayıcı veya dağıtıcı maddelere olarak kullanılmaktadır.

Anti-hiyalüronan maddeleri, sentezini engelleyerek veya parçalanmasını arttırarak hiyalüronik asit (HA; burada hiyalüronan olarak da belirtilmektedir) seviyelerini düşürür. Örneğin, hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzimler hiyalüronik aside müdahale eder ve parçalar. Hiyalüronan parçalayan enzimler gibi hiyalüronan sentezini bozan veya

5 inhibe eden maddelerle tedavi, dokunun söneceği, kan damarlarının genişleyeceği ve bölge boyunca daha fazla kanın akabileceği şekilde hiyalüronanı azaltır. Bu tip anti-hiyalüronan maddelerinin örnekleri hiyalüronan sentezini inhibe eden veya hiyalüronanı parçalayan maddelerdir.

#### **a. Hiyalüronan Sentezini İnhibe Eden Maddeler**

10 Anti-hiyalüronan maddelerine hiyalüronan sentezini inhibe eden maddeler, örneğin bir HA sentazın ekspresyonunu inhibe eden, azaltan veya düşüren maddeler, HA sentezi inhibitörleri ve tirozin kinaz inhibitörleri dahildir.

HA *has-1*, *has-2* ve *has-3* olarak gösterilen, HA sentazlar olarak belirtilen üç ilgili memeli geninin ürünleri olan üç enzim tarafından sentezlenebilir. Farklı hücre tipleri farklı HAS

15 enzimlerine sahiptir ve HAS mRNA'larının ekspresyonu HA biyosentezi ile korelasyonludur. Tümör hücrelerinde HAS genlerinin susturulmasının tümör büyümesi ve metastazı inhibe ettiği bilinmektedir. Bir anti-hiyalüronan maddesi bir HA sentazın ekspresyonunu inhibe eden veya seviyesini azaltan veya düşüren herhangi bir madde içerir. Bu tip maddeler teknikte uzman kişilerce bilinmektedir veya belirlenebilir.

20 Örneğin, bir HAS kodlayan bir veya daha fazla nükleik asit molekülüne özgün olarak hibritlenen veya bir başka şekilde etkileşime giren oligonükleotidler sağlanarak bir HAS azaltılabilir. Örneğin, hiyalüronan sentezini inhibe eden anti-hiyalüronan maddelerine bir *has* genine yönelik antisense veya sense molekülü dahildir. Bu tip antisense veya sense

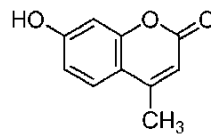
25 inhibisyon tipik olarak en az bir sarmal veya parçanın ayrılacağı, parçalanacağı veya bir başka şekilde işlevsiz hale getirileceği şekilde oligonükleotid sarmalları veya parçalarının hidrojen bağlanmasına dayanan hibridizasyonuna dayanır. Bazı örneklerde, transkripsiyon sonrası gen susturma (PTGS), RNAi, ribozimler ve DNazimler kullanılabilir. Teknikte uzman kişiler HAS1 (DİZİ ID NO:195'te verilen), HAS2 (DİZİ ID NO:196'da verilen) veya HAS3'ün (DİZİ ID NO:197 veya 198'de verilen) dizisine

30 göre bu tip yapılar oluşturabilir. Teknikte bilindiği gibi, bir antisense veya sense bileşiğin

dizisinin özgün olarak hibritlenebilir olması için hedef nükleik asidininine %100 tamamlayıcı olması gerekli değildir. Ek olarak, bir oligonükleotid müdahil veya komşu parçaların hibridizasyon olayında (ör., bir ilmek yapısı veya firkete yapısı) rol oynamayacağı şekilde bir veya daha fazla parça üzerinde hibritlenebilir. Genel olarak, antisense veya sense bileşikler hedef nükleik asit içindeki bir hedef bölgeye en az %70 dizi tamamlayıcılığına, örneğin, %75 ila %100, örneğin %75, %80, %85, %90, %95 veya %100 tamamlayıcılığa sahiptir. Örnek sense veya antisense moleküller teknikte bilinmektedir (bkz., ör., Chao vd. (2005) J. Biol. Chem., 280:27513-27522; Simpson vd. (2002) J. Biol. Chem., 277:10050-10057; Simpson vd. (2002) Am. J Path., 161:849; Nishida vd. (1999) J. Biol. Chem., 274:21893-21899; Edward vd. (2010) British J Dermatology, 162:1224-1232; Udabage vd. (2005) Cancer Res., 65:6139; ve yayınlanmış ABD Patent Başvurusu No. US20070286856).

Bir HA sentezi inhibitörü olan bir başka örnek anti-hiyalüronan maddesi 4-Metilumbelliferon (4-MU; 7-hidroksi-4-metilkumarin) veya bunun bir türevidir. 4-MU, HA sentezi için gerekli olan UDP-GlcUA prekürsör havuzunu azaltarak etki eder. Örneğin, memeli hücrelerinde, HA, UDP-glükuronik asit (UGA) ve UDP-N-asetil-D-glükozamin prekürsörleri kullanılarak HAS tarafından sentezlenir. 4-MU, UGA oluşturulan işlemi engeller, böylece hücre-içi UGA havuzunu tüketir ve HA sentezi inhibisyonu sağlar. 4-MU'nun anti-tümör aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir (bkz., ör., Lokeshwar vd. (2010) Cancer Res., 70:2613-23; Nakazawa vd. (2006) Cancer Chemother. Pharmacol., 57:165-170; Morohashi vd. (2006) Biochem. Biophys. Res. Comm., 345-1454-1459). Ağız yoluyla 600 mg/kg/d oranında 4-MU uygulaması B16 melanom modelinde metastazları %64 azaltır (Yoshihara vd. (2005) FEBS Lett., 579:2722-6). 4-MU yapısı aşağıda verilmektedir. Ayrıca, 4-MU türevleri, özellikle 6,7-dihidroksi-4-metil kumarin ve 5,7-dihidroksi-4-metil kumarin, anti-kanser aktivitesi sergilemektedir (bkz., ör., Morohashi vd. (2006) Biochem. Biophys. Res. Comm., 345-1454-1459).

#### 4-Metilumbelliferon (4-MU; C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>)



Ek örnek anti-hiyalüronan maddeleri tirozin kinaz inhibitörleri, örneğin Leflunomide (Arava), genistein veya erbstatindir. Leflunomide ayrıca bir pirimidin sentezi inhibitörüdür. Leflunomide romatoid artrit (RA) tedavisi için bilinen bir ilaçtır ve ayrıca allogreflerin yanı sıra ksenogreflerin reddinin tedavisinde etkilidir. HA'nın RA'ya doğrudan veya dolaylı olarak katkı yaptığı bilinmektedir (bkz., ör., Stuhlmeier (2005) J Immunol., 174:7376-7382). Tirozin kinaz inhibitörleri *HAS1* geni ekspresyonunu inhibe eder (Stuhlmeier 2005).

### **b. Hiyalüronan Parçalayan Enzimler Ve Polimere-Konjüge Edilmiş Hiyalüronan Parçalayan Enzimler**

Anti-hiyalüronan maddelerine hiyalüronan parçalayan enzimler dahildir. Hiyalüronidazlar gibi hiyalüronan parçalayan enzimler hücre-dışı matrisin bir temel bileşeni ve interstisyel bariyerin önemli bir bileşeni olan hiyalüronanı parçalayan bir enzim familyasıdır. Hiyalüronan parçalayan enzimler sırayla değişen  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 ve  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 3 glikosidik bağları aracılığıyla birbirine bağlanan tekrarlanan disakkarid birimlerinden, D-glükuronik asit (GlcA) ve N-asetil-D-glükozamin (GlcNAc) oluşan hiyalüronan polimerlerini parçalayarak hiyalüronanı parçalar. Hiyalüronan zincirlerinin uzunluğu yaklaşık 25,000 veya daha fazla disakkarid tekrarına kadar ulaşabilir ve hiyalüronan polimerlerinin boyutu *in vivo* olarak yaklaşık 5,000 ila 20,000,000 Da arasında olabilir. Hiyalüronan parçalayan enzimler, interstisyel bariyerin bir büyük bileşeni olan hiyalüronanın hidrolizini katalize ederek, hiyalüronanın viskozitesini düşürür ve böylece doku geçirgenliğini artırır.

Buna paralel olarak, sağlanan kombinasyonlar, kullanımlar ve usuller için olan hiyalüronan parçalayan enzimlere bir hiyalüronan disakkarid zinciri veya polimerinin parçalanmasını katalize etme kabiliyeti olan her türlü enzim dahildir. Bazı örneklerde, hiyalüronan parçalayan enzim hiyalüronan zinciri veya polimerindeki  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 glikosidik bağını parçalar. Bazı örneklerde, hiyalüronan parçalayan enzim hiyalüronan zinciri veya polimerindeki  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 3 glikosidik bağının parçalanmasını katalize eder.

Hiyalüronan parçalayan enzimlere hiyalüronidazların yanı sıra hiyalüronanı bölme kabiliyeti olan kondrotinazlar ve liyazlar gibi başka enzimler dahildir. Ayrıca, hiyalüronan parçalayan enzimlere hücrelerden eksprese edilebilen ve salgılanabilen

çözünebilen formlar da dahildir. Aşağıda açıklandığı gibi, hiyalüronan parçalayan enzimler hücrelerden salgılanan membrana bağlı veya çözünebilen formlarda mevcuttur. Buradaki amaçlar doğrultusunda, buradaki kombinasyonlar, usuller ve kullanımlarda kullanılmak üzere çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler sağlanmaktadır.

5 Dolayısıyla, hiyalüronan parçalayan enzimler bir glikosilfosfatidilinositol (GPI) çapası içerdiğinde ve/veya membrana bağlı veya çözünmez olduğu takdirde, bu tip hiyalüronan parçalayan enzimler, enzimi salgılanabilir veya çözünebilir hale getirmek için GPI çapasının kesilmesi veya silinmesiyle çözünebilen formda sağlanabilir. Dolayısıyla, hiyalüronan parçalayan enzimlere kesilmiş varyantlar, bir GPI çapasının tamamı veya bir

10 bölümünü uzaklaştırmak için kesilmiş varyantlar dahildir. Bu tip örnek çözünebilen hiyalüronidazlar çözünebilen PH20 hiyalüronidazları, örneğin ABD Patenti No. 7,767,429; ABD Yayını No. US20040268425 veya US20100143457'de verilenlerdir.

Burada sağlanan hiyalüronan parçalayan enzimlere ayrıca teknikte uzman kişilerce bilinen veya burada açıklanan herhangi bir hiyalüronan parçalayan enzimin, herhangi bir

15 hiyalüronidaz veya çözünebilen hiyalüronidazın, örneğin bir PH20'nin varyantları dahildir. Örneğin, hiyalüronan parçalayan enzimler birincil dizisinde amino asit süstitüsyonları, eklemeleri ve/veya delesyonları gibi bir veya daha fazla varyasyon içerebilir. Bir hiyalüronan parçalayan enzimin bir varyantı genel olarak varyasyonu içermeyen hiyalüronan parçalayan enzime kıyasla en az veya yaklaşık %60, %70, %80,

20 %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek dizi özdeşliği sergiler. Buradaki amaçlar doğrultusunda, enzim hiyalüronidaz aktivitesini, örneğin varyasyonu içermeyen bir hiyalüronan parçalayan enzimin aktivitesinin en az veya yaklaşık %5, %10, %15, %20, %25, %30, %35, %40, %45, %50, %55, %60, %65, %70, %75, %80, %85, %90, %95 veya daha fazlasını koruduğu sürece (teknikte bilinen veya

25 burada açıklanan *in vitro* ve/veya *in vivo* analizlerle ölçüldüğünde), hiyalüronan parçalayan enzime herhangi bir varyasyon eklenebilir. Örneğin, bir polimere konjüge edilebilenler dahil örnek hiyalüronan parçalayan enzimler DİZİ ID NO: 2, 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189 ve 199-210'dan herhangi biri veya DİZİ ID NO: 2, 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189 ve 199-210'dan herhangi birine en az veya yaklaşık %60, %70, %80, %90,

30 %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek dizi özdeşliği sergileyen herhangi birinde verilen herhangi biri olabilir.



Hiyalüronidazlar dahil hiyalüronan parçalayan enzimlerin çeşitli formları insanlar dahil hastalarda terapötik kullanım için hazırlanmış ve onaylanmıştır. Örneğin, hayvandan türetilen hiyalüronidaz terkiplerine Vitrase® (ISTA Pharmaceuticals), bir saflaştırılmış küçükbaş hayvan testisi hiyalüronidazı, Amphadase® (Amphastar Pharmaceuticals), bir büyükbaş hayvan testisi hiyalüronidazı ve Hydase™ (Prima Pharm Inc.), bir büyükbaş hayvan testisi hiyalüronidazı dahildir. Hylenex® (Halozyme Therapeutics), rHuPH20 olarak gösterilen, çözünebilen PH20 formlarını kodlayan nükleik asit içeren genetik olarak işlenmiş Çin Hamsteri Yumurtalığı (CHO) hücreleri tarafından üretilen bir insan rekombinant hiyalüronidazıdır (bkz., ör., ABD Yayını No. US20040268425; ABD Patenti No. 7,767,429). Anlaşılacağı gibi, herhangi bir hiyalüronidaz terkihi burada sağlanan kombinasyonlar, usuller ve kullanımlarda kullanılabilir, bkz., ör., ABD Patenti No. 2,488,564, 2,488,565, 2,676,139, 2,795,529, 2,806,815, 2,808,362, 5,747,027 ve 5,827,721 ve Uluslararası PCT Yayını No. WO2005/118799; ABD Yayını No. US20040268425; ABD Patenti No. 7,767,429; veya burada sağlanan herhangi biri.

Burada sağlanan kombinasyonlar ve usullerde kullanıma yönelik hiyalüronidaz enzimleri veya çözünebilen hiyalüronidaz enzimi, örneğin PH20 gibi örnek hiyalüronan parçalayan enzimlerin sınırlayıcı olmayan bir açıklaması aşağıda verilmektedir. Genel olarak, bu tip hiyalüronan parçalayan enzimlere bir polimere konjüge edilmiş olanlar dahildir.

### **i. Hiyalüronidazlar**

Hiyalüronidazlar bir büyük hiyalüronan parçalayan enzim familyasının elemanlarıdır. Üç genel hiyaluronidaz sınıfı mevcuttur: memeli tipi hiyalüronidazlar, bakteriyel hiyalüronidazlar ve sülükler, başka parazitler ve kabuklulardan hiyalüronidazlar. Sarıca arı (DİZİ ID NO:12 ve 13), bal arısı (DİZİ ID NO:14), eşek arısı (DİZİ ID NO:15) ve yaban arısı (DİZİ ID NO:16) gibi başka hiyalüronidazlar da bilinmektedir. Bu tip enzimlerin herhangi biri burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanılabilir.

#### **(a) Memeli-tipi hiyalüronidazlar**

Memeli tipi hiyalüronidazlar (EC 3.2.1.35) hiyalüronanın  $\beta$ -1→4 glikosidik bağımlı tetrasakkaridler ve heksasakkaridler gibi çeşitli oligosakkarid uzunlukları halinde hidroliz eden *endo*- $\beta$ -N-asetil-heksosaminidazlardır. Bu enzimler hem hidrolitik ve hem de

transglükosidaz aktivitelerine sahiptir ve hiyalüronan ve kondroitin sülfatları (CS), genel olarak, C4-S ve C6-S'yi parçalayabilir. Bu tip hiyalüronidazlara, sınırlayıcı olmaksızın, müteakiben verilenlerden olanlar dahildir: inekler (büyükbaş hayvan) (DİZİ ID NO:10, 11, 64, 203 ve 204 ve DİZİ ID NO:190-192'de verilen nükleik asit molekülleri), koyun (5 *Ovis aries*) (DİZİ ID NO: 26, 27, 63 ve 65, DİZİ ID NO:66 ve 193-194'te verilen nükleik asit molekülleri), domuz (DİZİ ID NO:20-21), fare (DİZİ ID NO:17-19, 32, 205), sıçan (DİZİ ID NO:22-24, 31, 206), tavşan (DİZİ ID NO:25, 207), orangutan (DİZİ ID NO:28), sinomolgus maymunu (DİZİ ID NO:29, 202), gine domuzu (DİZİ ID NO:30, 208), şempanze (DİZİ ID NO:101, 199, 200), rhesus maymunu (DİZİ ID NO:102, 201), tilki (10 DİZİ ID NO: 209 ve 210) ve insan hiyalüronidazları (DİZİ ID NO:1-2, 36-39). Yukarıda hiyalüronidazlara PH20 hiyalüronidazları dahildir. Ayrıca, ABD Pat. No. 5,747,027 ve 5,827,721'de açıklanan BH55 hiyalüronidazı da bu tiptir. Burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerdeki hiyalüronidazların örnekleri çözünebilen hiyalüronidazlardır.

15 Memeli hiyalüronidazları ayrıca baskın olarak testis ekstraktlarında bulunan nötr aktif ve baskın olarak karaciğer gibi organlarda bulunan asit aktif olanlar şeklinde ek olarak bölünebilir. Örnek nötr aktif hiyalüronidazlara PH20, örneğin sınırlayıcı olmaksızın, küçükbaş hayvan (DİZİ ID NO:27, 63 ve 65), büyükbaş hayvan (DİZİ ID NO:11 ve 64) ve insan (DİZİ ID NO:1) gibi farklı türlerden türetilen PH20 dahildir. İnsan PH20'si (20 SPAM1 veya sperm yüzeyi proteini PH20 olarak da bilinmektedir) genel olarak plazma membranına bir glikosilfosfatidil inositol (GPI) çapası aracılığıyla bağlanır. Sperm-yumurta yapışmasında doğal olarak rol oynar ve spermin hiyalüronik asidi sindirerek cumulus hücreleri katmanındaki spermin nüfuz etmesine yardımcı olur.

İnsan PH20'si (ayrıca SPAM1 olarak adlandırılmaktadır) dışında, insan genomunda beş (25 hiyalüronidaz-benzeri gen belirlenmiştir: HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 ve HYALP1. HYALP1 bir psödogenidir ve HYAL3'ün (DİZİ ID NO:38) herhangi bir bilinen substrata yönelik enzim aktivitesine sahip olduğu gösterilmemiştir. HYAL4 (DİZİ ID NO:39'da verilen prekürsör polipeptidi) bir kondroitinazdır ve hiyaluronana yönelik çok az aktivite sergiler. HYAL1 (DİZİ ID NO:36'da verilen prekürsör polipeptid) prototipik (30 asit-aktif enzimdir ve PH20 (DİZİ ID NO:1'de verilen prekürsör polipeptid) prototipik nötr-aktif enzimdir. Asit-aktif hiyaluronidazlar, örneğin HYAL1 ve HYAL2 (DİZİ ID

NO:37'de verilen prekürsör polipeptid) genel olarak nötr pH'de (yani pH 7) katalitik aktiviteye sahip değildir. Örneğin, HYAL1 pH 4.5'in üzerinde çok az *in vitro* katalitik aktiviteye sahiptir (Frost vd., (1997) Anal Biochemistry, 251:263-269). HYAL2 çok düşük bir *in vitro* özgül aktivitesi olan bir asit-aktif enzimdir. Hiyaluronidaz-benzeri enzimler ayrıca insan HYAL2 ve insan PH20 gibi genel olarak bir glikosilfosfatidil inositol (GPI) çapası aracılığıyla plazma membranına bağlananlar (Danilkovitch-Miagkova vd. (2003) Proc Natl Acad Sci ABD 100(8):4580-4585) ve insan HYAL1 gibi genel olarak çözünebilir olanlarla (Frost vd. (1997) Biochem Biophys Res Commun. 236(1):10-15) karakterize edilebilir.

## 10 PH20

Diğer memeli hiyaluronidazları gibi PH20 de hiyalüronik asidin  $\beta 1 \rightarrow 4$  glikosidik bağıntı tetrasakkaridler ve heksasakkaridler gibi çeşitli oligosakkarid uzunlukları halinde hidroliz eden bir endo- $\beta$ -N-asetil-heksosaminidazdır. Hem hidrolitik ve hem de transglikosidaz aktivitesine sahiptir ve hiyaluronik asit ve kondroitin sülfatları, örneğin C4-S ve C6-S'yi parçalayabilir. PH20, sperm-yumurta yapışmasında doğal olarak rol oynar ve spermin hiyalüronik asidi sindirerek cumulus hücreleri katmanındaki spermin nüfuz etmesine yardımcı olur. PH20 sperm yüzeyi üzerinde ve iç akrozomal membrana bağlı olduğu lipozomdan türetilen akrozomda bulunur. Plazma membranı PH20 sadece nötr pH'de hiyaluronidaz aktivitesine sahipken, iç akrozomal membran PH20 hem nötr ve hem de asidik pH'de aktiviteye sahiptir. Bir hiyaluronidaz olmasına ek olarak, PH20'nin ayrıca HA aracılığıyla hücre sinyali için bir reseptör ve oositi çevreleyen zona pellucida için bir reseptör olduğu görülmektedir.

Prekürsör ve olgun formlar dahil örnek PH20 proteinlerine, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: insan (DİZİ ID NO:1'de verilen prekürsör polipeptid, DİZİ ID NO: 2'de verilen olgun polipeptid), şempanze (DİZİ ID NO:101, 199, 200), Rhesus maymunu (DİZİ ID NO:102, 201), büyükbaş hayvan (DİZİ ID NO: 11 ve 64, 203, 204), tavşan (DİZİ ID NO: 25, 207), küçükbaş hayvan PH20 (DİZİ ID NO: 27, 63 ve 65), Sinomolgus maymunu (DİZİ ID NO: 29, 202), gine domuzu (DİZİ ID NO: 30, 208), sıçan (DİZİ ID NO: 31, 206), fare (DİZİ ID NO: 32, 205) ve tilki (DİZİ ID NO: 209 ve 210) PH20 polipeptidleri.

Büyükbaş hayvan PH20'si 553 amino asitli bir prekürösr polipeptiddir (DİZİ ID NO:11). Büyükbaş hayvan PH20'sinin insan PH20'si ile hizalanması, büyükbaş hayvan polipeptidinde bir GPI çapası olmadığından amino asit 470'ten ilgili karboksi ucuna kadar mevcut olan birden fazla boşlukla, çok zayıf homoloji göstermektedir (bkz., ör., Frost (2007) Expert Opin. Drug. Deliv. 4:427-440). Aslında, bariz GPI çapaları insanlar dışındaki başka PH20 türlerinde tahmin edilmemektedir. Dolayısıyla, küçükbaş hayvan ve büyükbaş hayvandan üretilen PH20 polipeptidleri doğal olarak çözünebilen formlarda mevcuttur. Büyükbaş hayvan PH20'si plazma membranına çok gevşek bağlı olarak mevcut olmasına rağmen, bir fosfolipaz duyarlı çapa ile bağlanmaz (Lalancette vd. (2001) Biol Reprod. 65(2):628-636). Büyükbaş hayvan hiyalüronidazının bu özgün özelliği çözünebilen büyükbaş hayvan testis hiyalüronidaz enziminin klinik kullanım için bir ekstrakt olarak kullanımına izin vermektedir (Wydase®, Hyalase®).

İnsan PH20'si mRNA kopyasının normal translasyonu ile N-ucunda 35 amino asitli bir sinyal dizisi (amino asit kalıntısı konumu 1-35) ve C-ucunda 19 amino asitli bir glikosilfosfatidilinositol (GPI) çapası bağlantısı sinyal dizisi (amino asit kalıntısı konumu 491-509) içeren 509 amino asitli bir prekürösr polipeptid (DİZİ ID NO:1) oluşturur. Dolayısıyla olgun PH20 DİZİ ID NO:2'de verilen amino 474 amino asitli bir polipeptiddir. Prekürösr polipeptidin ER'ye nakli ve sinyal peptidinin uzaklaştırılmasının ardından, C-ucu GPI-bağlantısı sinyal peptidi ayrılarak bir GPI çapasının DİZİ ID NO:1'de verilen prekürösr polipeptiddeki konum 490'a karşılık gelen amino asit konumundaki yeni oluşmuş C-ucu amino asidine bir GPI çapası kovalent bağlantısı sağlar. Böylece, DİZİ ID NO:2'de verilen amino asit dizisini içeren 474 amino asitli bir GPI-çapalı olgun polipeptid üretilir.

İnsan PH20'si nötr ve asit pH'de hiyalüronidaz aktivitesi sergiler. Bir yönde, insan PH20'si bir GPI çapası aracılığıyla plazma membranına genel olarak kilitlenen prototipik nötr-aktif hiyalüronidazdır. Bir başka yönde, PH20 nötr ve asidik pH'de hiyalüronidaz aktivitesine sahip olduğu iç akrozomal membran üzerinde eksprese edilir. PH20'nin polipeptidin ayrı ayrı bölgelerinde iki katalitik alan içerdiği görülmektedir: Peptid 1 ve Peptid 3 bölgeleri (Cherr vd., (2001) Matrix Biology 20:515-525). Kanıtlar, DİZİ ID NO:2'de verilen olgun polipeptidde amino asit konumu 107-137'ye ve DİZİ ID NO:1'de verilen prekürösr polipeptidde konum 142-172'ye karşılık gelen PH20'deki Peptid 1

bölgesinin nötr pH'de enzim aktivitesi için gerekli olduğunu göstermektedir. Bu bölge içinde konum 111 ve 113'teki (DİZİ ID NO:2'de verilen olgun PH20 polipeptidine karşılık gelen) amino asitlerin aktivite için önemli olduğu görülmektedir, çünkü amino asit ikamesiyle mutagenez doğal tip PH20'ye kıyasla sırasıyla %3 hiyalüronidaz aktivitesi veya tespit edilemeyen hiyalüronidaz aktivitesi olan PH20 polipeptidleri sağlar (Arming vd., (1997) Eur. J. Biochem. 247:810-814).

DİZİ ID NO:2'de verilen olgun polipeptidde amino asit konumu 242-262'ye ve DİZİ ID NO:1'de verilen prekürsör polipeptidde konum 277-297'ye karşılık gelen Peptid 3 bölgesinin asidik pH'de enzim aktivitesi için gerekli olduğu görülmektedir. Bu bölge içinde, olgun PH20 polipeptidinde konum 249 ve 252'deki amino asitlerin aktivite için çok önemli olduğu görülmektedir ve herhangi birinin mutagenezi hemen hemen hiç aktivite içermeyen bir polipeptid oluşturur (Arming vd., (1997) Eur. J. Biochem. 247:810-814).

Katalitik bölgelere ek olarak, PH20 ayrıca bir hiyalüronan bağlayan bölge içerir. Deneysel kanıtlar, bu bölgenin DİZİ ID NO:1'de verilen prekürsör polipeptidde amino asit konumu 205-235'e ve DİZİ ID NO:2'de verilen olgun polipeptidde konum 170-200'e karşılık gelen Peptid 2 bölgesinde yer aldığını göstermektedir. Bu bölge hiyalüronidazlar arasında yüksek oranda korunmuştur ve heparin bağlayıcı desene benzerdir. Konum 176'daki (DİZİ ID NO:2'de verilen olgun PH20 polipeptidine karşılık gelen) arginin kalıntısının bir glisin halinde mutasyonu doğal tip polipeptidin hiyalüronidaz aktivitesinin sadece %1'ini içeren bir polipeptid sağlar (Arming vd., (1997) Eur. J. Biochem. 247:810-814).

DİZİ ID NO:1'de açıklanan insan PH20'si polipeptidinde N82, N82, N166, N235, N254, N368, N393 ve S490'da N- ve O-bağlı glikosilasyon bölgeleri dahil yedi potansiyel glikosilasyon bölgesi mevcuttur. DİZİ ID NO:1'deki amino asit 36 ila 464'ün minimum oranda aktif insan PH20 hiyalüronidaz alanı içerdiği görüldüğünden, S490'daki glikosilasyon bölgesi uygun hiyalüronidaz aktivitesi için gerekli değildir. İnsan PH20'sinde altı disülfid bağı mevcuttur. İki disülfid bağı DİZİ ID NO:1'de açıklanan polipeptiddeki sistein kalıntıları C60 ve C351 arasında ve C224 ve C238 arasındadır (sırasıyla DİZİ ID NO:2'de verilen olgun polipeptidde kalıntı C25 ve C316 ve C189 ve C203'e karşılık gelir). Diğer dört disülfid bağı DİZİ ID NO:1'de açıklanan polipeptiddeki

sistein kalıntıları C376 ve C387 arasında; C381 ve C435 arasında; C437 ve C443 arasında; ve C458 ve C464 arasında oluşur (sırasıyla DİZİ ID NO:2'de verilen olgun polipeptidde kalıntı C341 ve C352 arasına; C346 ve C400 arasına; C402 ve C408 arasına; ve C423 ve C429 arasına karşılık gelir).

#### 5 (b) Bakteriyel hiyalüronidaz

Bakteriyel hiyalüronidazlar (EC 4.2.2.1 veya EC 4.2.99.1) hiyalüronanı ve çeşitli seviyelerde kondroitin sülfatları ve dermatan sülfatları parçalar. Bakterilerden izole edilen hiyalüronan liyazlar etki modları bakımından hiyalüronidazlardan (diğer kaynaklardan, ör., hiyalüronoglükozaminidazlar, EC 3.2.1.35) farklıdır. Hiyalüronandaki N-asetil-beta-D-glükozamin ve D-glükuronik asit kalıntıları arasındaki  $\beta 1 \rightarrow 4$ -glikosidik bağının hidrolizinden ziyade eliminasyon tepkimesini katalize ederek, 3-(4-deoksi- $\beta$ -D-glük-4-enuronosil)-N-asetil-D-glükozamin tetra- ve heksasakkaridler ve disakkarid nihai ürünleri veren endo- $\beta$ -N-asetilheksozaminidazlardır. Tepkime, indirgeyici olmayan uçlarında doymamış heksuronik asit kalıntıları olan oligosakkaridlerin oluşmasıyla sonuçlanır.

Sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanıma yönelik örnek bakteri hiyalüronidazlarına, sınırlayıcı olmaksızın, *Arthrobacter*, *Bdellovibrio*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Peptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides* ve *Streptomyces* suşları dahil mikroorganizmalardaki hiyalüronan parçalayan enzimler dahildir. Bu tip suşların ve enzimlerin özel örneklerine sınırlayıcı olmaksızın şunlar dahildir: *Arthrobacter türü* (suş FB24) (DİZİ ID NO:67), *Bdellovibrio bacteriovorus* (DİZİ ID NO:68), *Propionibacterium acnes* (DİZİ ID NO:69), *Streptococcus agalactiae* ((DİZİ ID NO:70); 18RS21 (DİZİ ID NO:71); serotip Ia (DİZİ ID NO:72); ve serotip III (DİZİ ID NO:73)), *Staphylococcus aureus* (suş COL (DİZİ ID NO:74); suş MRSA252 (DİZİ ID NO:75 ve 76); suş MSSA476 (DİZİ ID NO:77); suş NCTC 8325 (DİZİ ID NO:78); büyükbaş hayvan RF122 suşu (DİZİ ID NOS:79 ve 80); ve suş USA300 (DİZİ ID NO:81)), *Streptococcus pneumoniae* ((DİZİ ID NO:82); strain ATCC BAA-255 / R6 (DİZİ ID NO:83); ve serotip 2, suş D39 / NCTC 7466 (DİZİ ID NO:84)), *Streptococcus pyogenes* (serotip M1 (DİZİ ID NO:85); serotip M2, suş MGAS10270 (DİZİ ID NO:86); serotip M4, suş MGAS10750 (DİZİ ID NO:87); serotip M6 (DİZİ ID NO:88); serotip M12, suş MGAS2096 (DİZİ ID NO:89 ve 90); serotip M12, suş MGAS9429 (DİZİ ID

NO:91); ve serotip M28 (DİZİ ID NO:92)); *Streptococcus suis* (DİZİ ID NO:93-95); *Vibrio fischeri* (suş ATCC 700601/ ES114 (DİZİ ID NO:96)) ve hiyalüronik aside özel olan ve kondroitin veya kondroitin sülfatı bölmeyen *Streptomyces hyaluronolyticus* hiyalüronidaz enzimi (Ohya, T. ve Kaneko, Y. (1970) Biochim. Biophys. Acta 198:607).

### 5 (c) Sülükler, diğer parazitler ve kabuklulardan hiyalüronidazlar

Sülükler, diğer parazitler ve kabuklulardaki hiyalüronidazlar (EC 3.2.1.36) tetra- ve heksasakkarid nihai ürünleri oluşturan endo- $\beta$ -glükuronidazlardır. Bu enzimler hiyalüronattaki  $\beta$ -D-glükuronat ve N-asetil-D-glükozamin kalıntıları arasındaki bir 1 $\rightarrow$ 3-bağlarının hidrolizini katalize eder. Sülüklerden örnek hiyalüronidazlara sınırlayıcı  
10 olmaksızın Hirudinidae (ör., *Hirudo medicinalis*), Erpobdellidae (ör., *Nepheleopsis obscura* ve *Erpobdella punctata*), Glossiphoniidae (ör., *Desserobdella picta*, *Helobdella stagnalis*, *Glossiphonia complanata*, *Placobdella ornata* ve *Theromyzon türü*) ve Haemopidae'den (*Haemopsis marmorata*) hiyalüronidaz dahildir (Hovingh vd. (1999) Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 124(3):319-26). Sülük hiyalüronidazı ile  
15 aynı etki mekanizmasına sahip olan bir örnek bakteri hiyalüronidazı siyanobakterilerden *Synechococcus türü* hiyalüronidazıdır (suş RCC307, DİZİ ID NO:97).

### ii. Diğer hiyalüronan parçalayan enzimler

Sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde hiyalüronidaz familyasına ek olarak başka hiyalüronan parçalayan enzimler kullanılabilir. Örneğin, belirli kondroitinazlar ve  
20 liyazlar dahil hiyalüronanı parçalama kabiliyeti olan enzimler kullanılabilir. Hiyalüronanı parçalayabilen örnek kondroitinazlara, sınırlayıcı olmaksızın, kondroitin ABC liyaz (kondroitinaz ABC olarak da bilinmektedir), kondroitin AC liyaz (kondroitin sülfat liyaz veya kondroitin sülfat eliminaz olarak da bilinmektedir) ve kondroitin C liyaz dahildir. Sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanıma yönelik bu tip enzimlerin  
25 üretimi ve saflaştırılmasına yönelik usuller teknikte bilinmektedir (ör., ABD Patenti No. 6,054,569; Yamagata, vd. (1968) J. Biol. Chem. 243(7):1523-1535; Yang vd. (1985) J. Biol. Chem. 160(30):1849-1857).

Kondroitin ABC liyaz, çeşitli kondroitin-sülfat- ve dermatan-sülfat tipi glikozaminoglikanlar parçalayabilen iki enzim, kondroitin-sülfat-ABC endoliyaz (EC  
30 4.2.2.20) ve kondroitin-sülfat-ABC ekzoliyaz (EC 4.2.2.21) içerir (Hamai vd. (1997) J

Biol Chem. 272(14):9123-30). Kondroitin sülfat, kondroitin-sülfat proteoglikan ve dermatan sülfat kondroitin-sülfat-ABC endolizaz için tercih edilen substratlardır, ancak enzim daha düşük bir hızda hiyalüronana da etki edebilir. Kondroitin-sülfat-ABC endolizaz çeşitli kondroitin-sülfat- ve dermatan-sülfat tipi glikozaminoglikanları parçalayarak, nihai olarak  $\Delta$ 4-doymamış tetra- ve disakkaridler halinde parçalanmış farklı boyutlardaki  $\Delta$ 4-doymamış oligosakkaridlerin bir karışımını üretir. Kondroitin-sülfat-ABC ekzolizaz aynı substrat özgünlüğüne sahiptir, ancak kondroitin-sülfat-ABC endolizaz tarafından üretilen hem polimerik kondroitin sülfatlar ve hem de bunların oligosakkarid fragmanlarının indirgeyici olmayan uçlarından disakkarid kalıntılarını uzaklaştırır (Hamai, A. vd. (1997) J. Biol. Chem. 272:9123-9130). Örnek kondroitin-sülfat-ABC endolizazlar ve kondroitin-sülfat-ABC ekzolizazlara, sınırlayıcı olmaksızın, *Proteus vulgaris* ve *Flavobacterium heparinum*'dan olanlar dahildir (*Proteus vulgaris* kondroitin-sülfat-ABC endolizaz DİZİ ID NO:98'de verilmektedir; Sato vd. (1994) Appl. Microbiol. Biotechnol. 41(1):39-46).

Kondroitin AC lizaz (EC 4.2.2.5) kondroitin sülfat A ve C, kondroitin ve hiyalüronik asit üzerinde aktiftir, ancak dermatan sülfat (kondroitin sülfat B) üzerinde aktif değildir. Örnek bakteri kondroitinaz AC enzimlerine, sınırlayıcı olmaksızın, sırasıyla DİZİ ID NO:99 ve 100'de verilen *Flavobacterium heparinum* ve *Victivallis vadensis* ve *Arthrobacter aurescens*'ten olanlar dahildir (Tkalec vd. (2000) Applied and Environmental Microbiology 66(1):29-35; Ernst vd. (1995) Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 30(5):387-444).

Kondroitinaz C kondroitin sülfat C'yi parçalayarak tetrasakkarid ve ayrıca bir doymamış 6-sülfatlı disakkarid ( $\Delta$ 4-Di-6S) üretir. Ayrıca, hiyalüronik asidi parçalayarak doymamış sülfatlı olmayan disakkarid ( $\Delta$ 4-Di-OS) üretir. Bakterilerden örnek kondroitinaz C enzimlerine, sınırlayıcı olmaksızın, *Streptococcus* ve *Flavobacterium*'dan olanlar dahildir (Hibi vd. (1989) FEMS-Microbiol-Lett. 48(2):121-4; Michelacci vd. (1976) J. Biol. Chem. 251:1154-8; Tsuda vd. (1999) Eur. J. Biochem. 262:127-133).

### iii. Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler

Burada sağlanan bileşimlerde, kombinasyonlarda, kullanımlarda ve usullerde, çözünebilen hiyalüronidazlar dahil, çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler



sağlanmaktadır. Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimlere ekspresyondan sonra hücrelerden salgılanan ve çözünebilen formda mevcut olan her türlü hiyalüronan parçalayan enzim dahildir. Bu tip enzimlere, sınırlayıcı olmaksızın, çözünebilen hiyalüronidazlar, örneğin insan olmayan çözünebilen hiyalüronidazlar, örneğin insan olmayan hayvan çözünebilen hiyalüronidazları, bakteriyel çözünebilen hiyalüronidazlar ve insan hiyalüronidazları, Hyal1, büyükbaş hayvan PH20'si ve küçükbaş hayvan PH20'si, bunların alelik varyantları ve bunların diğer varyantları dahildir. Örneğin, çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimlere çözünebilir olacakları şekilde modifiye edilmiş olan her türlü hiyalüronan parçalayan enzim dahildir. Örneğin, bir GPI çapası içeren hiyalüronan parçalayan enzimler GPI çapasının tamamı veya bir bölümünün kesilmesi veya uzaklaştırılmasıyla çözünebilir hale getirilebilir. Örneğin, normal olarak bir GPI çapası aracılığıyla membrana bağlı olan insan hiyalüronidazı PH20, C-ucundaki GPI çapasının tamamı veya bir bölümünün kesilmesi veya uzaklaştırılmasıyla çözünebilir hale getirilebilir.

Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimlere ayrıca nötr aktif ve asit aktif hiyalüronidazlar dahildir. Sınırlayıcı olmaksızın uygulamanın ardından enzimin arzu edilen aktivite seviyesi ve/veya uygulama bölgesi gibi faktörlere bağlı olarak, nötr aktif ve asit aktif hiyalüronidazlar seçilebilir. Özel bir örnekte, buradaki bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanım için olan hiyalüronan parçalayan enzim bir çözünebilen nötr aktif hiyalüronidazdır.

Örnek hiyalüronidazlara herhangi bir türden bir PH20'nin bir çözünebilen formu, örneğin DİZİ ID NO: 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63-65, 101-102 ve 199-210'dan herhangi birindeki bir PH20'nin bir çözünebilen formu dahildir. Bu tip çözünebilen formlara, hiyalüronidazın çözünebilir (ekspresyondan sonra salgılanan) olduğu ve hiyalüronidaz aktivitesini koruduğu sürece, C-ucu GPI çapasının tamamı veya bir bölümü olmayan kesilmiş formlar dahildir. Bu tip formlar ayrıca tipik olarak, bir hücrede eksprese edildiklerinde, sinyal peptidini içermeyen olgun formlardır. Çözünebilen hiyalüronidazlara ayrıca DİZİ ID NO:1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63-65, 101-102 ve 199-210'da verilen herhangi bir türden PH20'lerin herhangi birinin varyantlarının çözünebilen formları veya bunların hiyalüronidaz aktivitesi sergileyen kesilmiş formları dahildir. Varyantlara, DİZİ ID NO: 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63-65, 101-102 ve 199-210'dan

herhangi birine, bunların olgun (ör., sinyal dizisini içermeyen) veya kesilmiş formlarına %60, %70, %80, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98, %99 veya daha yüksek oranda dizi özdeşliğine sahip olan polipeptidler dahildir. Amino asit varyantları koruyucu ve koruyucu olmayan mutasyonlar içerir. Anlaşılacağı gibi, yukarıda açıklanan veya teknikte uzman kişilerce bilinenler gibi bir hiyalüronidazın aktivitesi için önemli olan veya gerekli olan kalıntılar genel olarak sabittir ve değiştirilemez. Bunlara, örneğin, aktif bölge kalıntıları dahildir. Dolayısıyla, örneğin, bir insan PH20 polipeptidi veya bunun çözünebilir formundaki amino asit kalıntısı 111, 113 ve 176 (DİZİ ID NO:2'de verilen olgun PH20 polipeptidindeki kalıntılara karşılık gelen) genel olarak sabittir ve değiştirilmez. Uygun katlanma için gerekli olan glikosilasyonu ve disülfid bağlarının oluşmasını sağlayan diğer kalıntılar da sabit olabilir.

Bazı durumlarda, çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzim normal olarak GPI-çapalıdır (örneğin, insan PH20'si) ve C-ucunun kesilmesiyle çözünebilir hale getirilir. Bu şekilde kesme GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinin tamamını uzaklaştırabilir veya GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinin bir kısmını uzaklaştırabilir. Ancak, oluşan polipeptid çözünebilirdir. Çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimin GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinin bir bölümünün korunduğu durumlarda, polipeptid çözünebilir olduğu sürece, GPI-çapası bağlantısı sinyal dizisindeki 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 veya daha fazla amino asit kalıntısı korunabilir. GPI çapasındaki bir veya daha fazla amino asidi içeren polipeptidler uzatılmış çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler olarak adlandırılır. Teknikte uzman kişiler, bir polipeptidin GPI-çapalı olup olmadığını teknikte iyi bilinen usuller kullanarak belirleyebilir. Bu tip usullere, sınırlayıcı olmaksızın, GPI-çapası bağlantısı sinyal dizisi ve  $\omega$ -bölgesinin mevcudiyeti ve konumunu tahmin etmek için bilinen algoritmaların kullanımı ve fosfatidilinositole özel fosfolipaz C (PI-PLC) veya D (PI-PLD) ile sindirimden önce ve sonra çözünebilirlik analizleri gerçekleştirilmesi dahildir.

Uzatılmış çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler, oluşan polipeptidin çözünebilir olacağı ve GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinden bir veya daha fazla amino asit kalıntısı içereceği şekilde, her türlü doğal olarak oluşan GPI çapalı hiyalüronan parçalayan enzimde C-ucu kesimleri yapılarak üretilebilir (bkz., örneğin, ABD Yayınlanmış Pat. Başv. No. US20100143457). Örnek C-ucu kesilmiş, ancak GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinin bir bölümünü koruyan uzatılmış çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimlere,

sınırlayıcı olmaksızın, primat menşeli uzatılmış çözünebilen PH20 (esPH20) polipeptidleri, örneğin, insan ve şempanze esPH20 polipeptidleri dahildir. Örneğin, esPH20 polipeptidleri DİZİ ID NO:1, 2, 50, 51 veya 101'de verilen olgun veya prekürsör polipeptidlerin herhangi biri veya bunların aktif fragmanları dahil başka varyantlarında

5 C-ucu kesimiyle yapılabilir, burada oluşan polipeptid çözünebilirdir ve GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinden bir veya daha fazla amino asit kalıntısı içerir. Varyantlara, hiyalüronidaz aktivitesini koruyan DİZİ ID NO: 1, 2, 50, 51 veya 101'den herhangi birine %60, %70, %80, %90, %91, %92, %93, %94, %95 veya daha yüksek oranda dizi özdeşliğine sahip olan polipeptidler dahildir. Burada sağlanan esPH20 polipeptidlerinde,

10 oluşan esPH20 polipeptidi çözünebilir olduğu ve GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinden 1 veya daha fazla amino asit kalıntısını koruduğu sürece, DİZİ ID NO: 1, 2, 50, 51 veya 101'de verilen bir diziye sahip bir polipeptid gibi doğal tip polipeptide kıyasla 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 veya daha fazla amino asit C-ucundan kesilebilir.

Tipik olarak, buradaki bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanım için, bir

15 çözünebilen insan hiyalüronan parçalayan enzimi, örneğin, bir çözünebilen insan PH20'si kullanılır. Başka hayvanlardan hiyalüronan parçalayan enzimler, örneğin PH20 kullanılabilmesine rağmen, hayvan proteini olduklarından bu tip terkipler potansiyel olarak immünojeniktir. Örneğin, hastaların önemli bir bölümü sindirilen gıdaların

20 ardından ön duyarlılık sergilemektedir ve bunlar hayvan proteinleri olduğundan, tüm hastalar bir müteakip duyarlılık riski taşımaktadır. Dolayısıyla, insan olmayan terkipler kronik kullanım için uygun olmayabilir. İnsan olmayan terkipler arzu edildiği takdirde, bu tip polipeptidlerin düşük immünojenisiteye sahip olacakları şekilde hazırlanabilmesi kapsamaktadır. Bu tip modifikasyonlar teknikte uzman kişilerce bilinmektedir, bunlara, örneğin, moleküldeki bir veya daha fazla antijenik epitopun uzaklaştırılması ve/veya

25 ikame edilmesi dahildir.

Buradaki usullerde kullanılan hiyalüronidazlar (ör., PH20) dahil hiyalüronan parçalayan enzimler rekombinant olarak üretilebilir veya örneğin testis ekstraktları gibi doğal kaynaklardan saflaştırılabilir veya kısmen saflaştırılabilir. Rekombinant hiyalüronan parçalayan enzimler dahil rekombinant proteinlerin üretimine yönelik usuller burada

30 açıklanmaktadır ve teknikte iyi bilinmektedir.

**(a) Çözünebilen İnsan PH20'si**

Bir çözünebilir hiyalüronidaz örneği çözünebilir insan PH20'sidir. Rekombinant insan PH20'sinin çözünebilir formları üretilmektedir ve burada açıklanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanılabilir. Bu tip çözünebilir PH20 formlarının üretimi

5 ABD Yayınlanmış Patent Başvurusu No. US20040268425; US20050260186, US20060104968, US20100143457 ve Uluslararası PCT Yayımları No. WO2009111066'da açıklanmaktadır. Örneğin, çözünebilir PH20 polipeptidlerine, DİZİ ID NO:1 veya 2'deki amino asit dizisini içeren veya DİZİ ID NO:1 veya 2'de yer alan amino asit dizisine en az %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97 veya %98 dizi özdeşliğine sahip olan,

10 hiyalüronidaz aktivitesini koruyan ve çözünebilir olan C-ucu kesilmiş varyant polipeptidler dahildir. Bu polipeptidlere GPI çapası bağlantısı sinyal dizisinin tamamını veya bir bölümünü içermeyen çözünebilir PH20 polipeptidleri dahildir.

Ayrıca, GPI çapasındaki en az bir amino asidi içeren uzatılmış çözünebilir PH20 (esPH20) polipeptidleri dahildir. Dolayısıyla, bu polipeptidler ER'de proteinin C-ucuna

15 kovalent olarak bağlı bir GPI çapasına sahip olmak ve plazma membranının hücre-dışı yapraklığına bağlı olmak yerine, salgılanırlar ve çözünebilirlerdir. C-ucu kesilmiş PH20 polipeptidlerinde C-ucundan tam uzunluktaki doğal tip polipeptid, örneğin DİZİ ID NO:1 veya 2'de verilen diziyeye sahip bir tam uzunluktaki doğal tip polipeptid veya bunun alelik veya tür varyantları veya diğer varyantlarına kıyasla 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

20 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 veya daha fazla amino asit kesilir.

Örneğin, çözünebilir formlara, sınırlayıcı olmaksızın, DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit dizisindeki veya buna en az %85 özdeşlik sergileyen polipeptidlerdeki C-ucu amino asit kalıntısı 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482 ve 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498,

25 499 veya 500'e sahip olan DİZİ ID NO:1'de verilen insan PH20'sinin C-ucu kesilmiş polipeptidleri dahildir. İnsan PH20'sinin çözünebilir formlarına genel olarak DİZİ ID NO:1'de verilen amino asit 36-464'ü içerenler dahildir. Örneğin, memeli hücrelerinde eksprese edildiğinde, 35 amino asitli N-ucu sinyal dizisi işleme sırasında ayrılır ve proteinin olgun formu salgılanır. Dolayısıyla, olgun çözünebilir polipeptidler DİZİ ID

30 NO:1'deki amino asit 36 ila 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482 ve 483'ü içerir. Tablo 3'te, C-ucu kesilmiş çözünebilir PH20

polipeptidleri dahil örnek C-ucu kesilmiş PH20 polipeptidlerinin sınırlayıcı olmayan örnekleri verilmektedir. C-ucu kesilmiş PH20 proteinlerinin prekürsör ve olgun polipeptidlerinin örnek amino asit dizilerinin verildiği aşağıdaki Tablo 3'te, prekürsör ve olgun polipeptidlerin uzunluğu (amino asit cinsinden) ve dizi belirteci (DİZİ ID NO) verilmektedir. Doğal tip PH20 polipeptidi de karşılaştırma için Tablo 3'te verilmektedir. Özellikle, örnek çözünebilen hiyalüronidazlar 442, 443, 444, 445, 446 veya 447 amino asit uzunluğunda olan çözünebilen insan PH20 polipeptidleri, örneğin DİZİ ID NO: 4-9'dan herhangi birinde verilenler veya bunların alelik veya tür varyantları veya diğer varyantlarıdır.

10

**Tablo 3. Örnek C-ucu kesilmiş PH20 polipeptidleri**

<b>Polipeptid</b>	<b>Prekürsör (amino asit)</b>	<b>Prekürsör DİZİ ID NO</b>	<b>Olgun (amino asit)</b>	<b>Olgun DİZİ ID NO</b>
doğal tip	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

<b>Polipeptid</b>	<b>Prekürsör (amino asit)</b>	<b>Prekürsör DİZİ ID NO</b>	<b>Olgun (amino asit)</b>	<b>Olgun DİZİ ID NO</b>
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

Örneğin, çözünebilen PH20 formlarına, örneğin, DİZİ ID NO: 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189'dan herhangi birinde verilen amino asit dizisine sahip olan veya DİZİ ID NO: 4-9, 47, 48, 150-170, 183-189'dan herhangi birinde verilen amino asit dizisine en az %85, %86, %87, %88, %89, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 dizi özdeşliğine sahip olan ve hiyalüronidaz aktivitesini koruyan polipeptidler dahildir.

Genel olarak çözünebilen PH20 formları, glikosilasyon hiyalüronidazların katalitik aktivitesi ve stabilitesi için önemli olduğundan, polipeptidin aktiviteyi koruduğundan emin olmak için doğru N-glikosilasyon sağlayan protein ekspresyon sistemleri kullanılarak üretilir. Bu tip hücrelere, örneğin, Çin Hamsteri Yumurtalık (CHO) hücreleri (ör. DG44 CHO hücreleri) dahildir.

**(b) rHuPH20**

Rekombinant çözünebilen insan PH20'si formları üretilmektedir ve burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanılabilir. Rekombinant insan PH20'sinin bu tip çözünebilen formlarının üretimi, örneğin, ABD Yayınlanmış Patent Başvurusu No. S20040268425; US 20050260186; US20060104968; US20100143457 ve Uluslararası PCT Başv. No. WO2009111066'da açıklanmaktadır. Bu tip polipeptidlerin örnekleri amino asit 1-482'yi (DİZİ ID NO:3'te verilen) kodlayan bir nükleik asit molekülünün ekspresyonuyla üretilenlerdir. Bu tip bir örnek nükleik asit molekülü DİZİ ID NO:49'da verilmektedir. Translasyon sonrası işlem 35 amino asitli sinyal dizisini uzaklaştırarak 447 amino asitli bir çözünebilen rekombinant insan PH20'si (DİZİ ID NO:4) bırakır. Kültür ortamında üretildiğinden, C-ucunda heterojenlik olur, dolayısıyla rHuPH20 olarak belirtilen ürün değişik oranlarda DİZİ ID NO:4-9'dan herhangi biri veya daha fazlasını içerebilen bir tür karışımı içerir. Tipik olarak, rHuPH20, CHO hücreleri (ör. DG44 CHO hücreleri) gibi aktiviteyi korumak için doğru N-glikosilasyon sağlayan hücrelerde üretilir.

**iv. Hiyalüronan parçalayan enzimlerin glikosilasyonu**

Hiyalüronidazlar dahil bazı hiyalüronan parçalayan enzimlerin N- ve O-bağlı glikosilasyon dahil glikosilasyonu katalitik aktiviteleri ve stabiliteleri için önemli olabilir. Bir glikoproteini modifiye eden glikan tipinin değiştirilmesi bir proteinin antijenisitesi, yapısal katlanması, çözünebilirliği ve stabilitesi üzerinde önemli etkilere sahip olabilmesine rağmen, çoğu enzimin en uygun enzim aktivitesi için glikosilasyon gerektirdiği düşünülmemektedir. Bazı hiyalüronidazlar için, N-bağlı glikosilasyonun uzaklaştırılması hiyalüronidaz aktivitesinin hemen hemen tamamen pasifleşmesine yol açabilir. Dolayısıyla, bu tip hiyalüronidazlar için, N-bağlı glikanların mevcudiyeti bir aktif enzim oluşturmak için önemlidir.

N-bağlı oligosakkaridler birkaç ana tipe ayrılmaktadır (aligomanoz, karmaşık, hibrit, sülfatlı), bunların tümü -Asn-Xaa-Thr/Ser- dizileri (burada Xaa Pro değildir) içinde kalan Asn kalıntılarındaki amid azotu aracılığıyla bağlı (Man) 3-GlcNAc-GlcNAc-çekirdeklerine sahiptir. Bir -Asn-Xaa-Cys- bölgesindeki glikosilasyonu pıhtılaşma proteini C için rapor edilmiştir. Bazı durumlarda, bir hiyalüronidaz gibi bir hiyalüronan parçalayan enzim hem N-glikosidik ve hem de O-glikosidik bağlar içerebilir. Örneğin,

PH20 O-bağlı oligosakkaridlerin yanı sıra N-bağlı oligosakkaridlere sahiptir. DİZİ ID NO: 1'de açıklanan insan PH20'sinde N82, N166, N235, N254, N368, N393'te altı potansiyel N-bağlı glikosilasyon bölgesi mevcuttur. Amino asit kalıntısı N82, N166 ve N254'te karmaşık tipte glikanlar yer alırken, amino asit kalıntısı N368 ve N393'te yüksek manoz tipi glikanlar yer alır. Amino asit kalıntısı N235'te yaklaşık %80 yüksek manoz tipi glikanlar ve %20 karmaşık tipte glikanlar yer alır. Yukarıda belirtildiği gibi, S490'daki O-bağlı glikosilasyon hiyalüronidaz aktivitesi için gerekli değildir.

Bazı örneklerde, sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve/veya usullerde kullanıma yönelik hiyalüronan parçalayan enzimler glikosilasyon bölgelerinin biri veya tümünde glikosillenmiştir. Örneğin, insan PH20'si veya bunun bir çözünebilen formu için, DİZİ ID NO:1'deki amino asit N82, N166, N235, N254, N368 ve N393'e karşılık gelen N-glikosilasyon bölgelerinin 2, 3, 4, 5 veya 6'sı glikosillenmiştir. Bazı örneklerde, hiyalüronan parçalayan enzimler bir veya daha fazla doğal glikosilasyon bölgesinde glikosillenmiştir. Bazı örneklerde, hiyalüronan parçalayan enzimler polipeptidde bir veya daha fazla ek bölgede glikosilasyon sağlamak için bir veya daha fazla doğal olmayan glikosilasyon bölgesinde modifiye edilir. Bu tip örneklerde, ek şeker parçalarının bağlanması arttırılmış yarılanma ömrü ve/veya arttırılmış aktivite gibi molekülün farmakokinetik özelliklerini geliştirebilir.

Bazı örneklerde, burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve/veya usullerde kullanıma yönelik hiyalüronan parçalayan enzimler kısmen deglikosillenmiştir (veya N-kısmen glikosillenmiş polipeptidler). Örneğin, bir tam glikosillenmiş hiyalüronidazın hiyalüronidaz aktivitesinin tamamını veya bir bölümünü koruyan kısmen deglikosillenmiş çözünebilen PH20 polipeptidleri burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve/veya usullerde kullanılabilir. Örnek kısmen deglikosillenmiş hiyalüronidazlara DİZİ ID NO: 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63, 65, 101-102 ve 199-210'dan herhangi birinde verilenler veya bunların alelik varyantları, kesilmiş varyantları veya diğer varyantları gibi herhangi bir türden bir kısmen deglikosillenmiş PH20 polipeptidinin çözünebilen formları dahildir. Bu tip varyantlar teknikte uzman kişilerce bilinmektedir ve bunlara DİZİ ID NO: 1, 2, 11, 25, 27, 29-32, 63, 65, 101-102 ve 199-210'dan herhangi birine veya bunların kesilmiş formlarına %60, %70, %80, %90, %91, %92, %93, %94, %95 veya daha yüksek oranda dizi özdeşliğine sahip olan polipeptidler



dahildir. Burada sağlanan kısmen deglikosillenmiş hiyalüronidazlara hibrit, füzyon ve kimerik kısmen deglikosillenmiş hiyalüronidazlar ve kısmen deglikosillenmiş hiyalüronidaz konjügelere de dahildir.

Glikosidazlar veya glikosid hidrolazlar, iki daha küçük şeker oluşturacak şekilde glikosidik bağın hidrolizini katalize eden enzimlerdir. Omurgalılardaki N-glikanların ana tiplerine yüksek manozlu glikanlar, hibrit glikanlar ve karmaşık glikanlar dahildir. Sadece kısmi protein deglikosilasyonu sağlayan çeşitli glikosidazlar mevcuttur, örneğin: EndoF1, yüksek manozlu ve hibrit tipi glikanları parçalar; EndoF2, iki-antenli karmaşık tip glikanları parçalar; EndoF3, iki-antenli ve daha fazla dallanmış karmaşık glikanları parçalar; ve EndoH, yüksek manozlu ve hibrit tipi glikanları parçalar. Bir hiyalüronan parçalayan enzimin, örneğin bir çözünebilen PH20 gibi bir çözünebilen hiyalüronidazın bu glikosidazların biri veya tümüyle işlenmesi sadece kısmen deglikosilasyonla ve dolayısıyla hiyalüronidaz aktivitesinin korunmasıyla sonuçlanabilir.

Kısmen deglikosillenmiş hiyalüronan parçalayan enzimler, örneğin kısmen deglikosillenmiş çözünebilen hiyalüronidazlar, bir veya daha fazla glikosidazla, genel olarak tüm N-glikanları uzaklaştırmayan, ancak proteini sadece kısmen deglikosilleyen bir glikosidazla sindirimle üretilebilir. Örneğin, PH20'nin (ör., rHuPH20 olarak belirtilen bir rekombinant PH20) yukarıdaki glikosidazların (ör., EndoF1, EndoF2 ve/veya EndoF3) biri veya tümüyle işlenmesi kısmi deglikosilasyon sağlar. Bu kısmen deglikosillenmiş PH20 polipeptidleri tam olarak glikosillenmiş polipeptidlerine benzer olan hiyalüronidaz enzimi aktivitesi sergileyebilir. Buna karşılık, PH20'nin tüm N-glikanları parçalayan bir glikosidaz olan PNGaseF ile işlenmesi tüm N-glikanların tamamen uzaklaştırılmasına neden olur ve dolayısıyla PH20'yi enzimsel olarak pasif hale getirir. Dolayısıyla, tüm N-glikosilasyon bölgeleri (ör, DİZİ ID NO:1'de açıklanan insan PH20'sindeki amino asit N82, N166, N235, N254, N368 ve N393'tekiler) glikosillenebilmesine rağmen, bir veya daha fazla glikosidazla işlem bir veya daha fazla glikosidazla sindirilmeyen bir hiyalüronidaza kıyasla düşük glikosilasyon kapsamı sağlayabilir.

Kısmen deglikosillenmiş çözünebilen PH20 polipeptidleri dahil kısmen deglikosillenmiş hiyalüronan parçalayan enzimler bir tam glikosillenmiş polipeptiddeki glikosilasyon seviyesinin %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70 veya %80'ine sahip olabilir. Bir

örnekte, DİZİ ID NO:1'deki amino asit N82, N166, N235, N254, N368 ve N393'e karşılık gelen N-glikosilasyon bölgelerinin 1, 2, 3, 4, 5 veya 6'sı, artık yüksek manozlu veya karmaşık tip glikan içermeyecekleri ve daha ziyade en az bir N-asetilglükozamin parçası içerecekleri şekilde, kısmen deglikosillenmiştir. Bazı örneklerde, DİZİ ID NO:1'deki amino asit N82, N166 ve N254'e karşılık gelen 1, 2 veya 3 N-glikosilasyon bölgesi deglikosillenmiştir, yani bir şeker parçası içermezler. Bazı örneklerde, DİZİ ID NO:1'deki amino asit N82, N166, N235, N254, N368 ve N393'e karşılık gelen 3, 4, 5 veya 6 N-glikosilasyon bölgesi glikosillenmiştir. Glikosillenmiş amino asit kalıntıları minimum oranda bir N-asetilglükozamin parçası içerir. Tipik olarak, kısmen deglikosillenmiş çözünebilir PH20 polipeptidleri dahil kısmen deglikosillenmiş hiyalüronan parçalayan enzimler tam olarak glikosillenmiş polipeptid tarafından sergilenen hiyalüronidaz aktivitesinin %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90, %100, %110, %120, %130, %140, %150, %200, %300, %400, %500, %1000 veya daha fazlası olan hiyalüronidaz aktivitesi sergiler.

#### 15 **v. Modifiye Edilmiş (Polimere-Konjüge Edilmiş) Hiyalüronan Parçalayan Enzimler**

Polietilen glikol (PEG'leme parçası PEG) gibi polimerik moleküllerin hiyalüronidazlar gibi hiyalüronan parçalayan enzimlere kovalent veya bir başka şekilde stabil bağlanması (konjüge etme) oluşan hiyalüronan parçalayan enzim-polimer bileşimine yararlı özellikler kazandırır. Bu tip özelliklere geliştirilmiş biyo-uyumluluk, proteinin (ve enzimsel aktivitenin) bir hastada kandaki, hücrelerdeki ve/veya başka dokulardaki yarılanma ömrünün arttırılması, proteinin proteazlar ve hidrolizden etkili bir şekilde korunması, geliştirilmiş biyo-dağılım, geliştirilmiş farmakokinetikler ve/veya farmakodinamikler ve arttırılmış suda çözünebilirlik dahildir.

25 Hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzime konjüge edilebilen örnek polimerlere doğal ve sentetik homopolimerler, örneğin, polioller (yani, poli-OH), poliaminler (yani, poli-NH<sub>2</sub>) ve polikarboksil asitleri (yani, poli-COOH) ve ayrıca heteropolimerler, yani, bir veya daha fazla bağlayıcı grup, ör., bir hidroksil grubu ve amin grupları içeren polimerler dahildir. Uygun polimerik moleküllerin örneklerine müteakiben verilenler  
30 arasından seçilen polimerik moleküller dahildir: polialkilen oksitler (PAO), örneğin, polialkilen glikoller (PAG), örneğin, polietilen glikoller (PEG), metoksi polietilen

glikoller (mPEG) ve polipropilen glikoller, PEG-glisidil eterler (Epoks-PEG), PEG-oksikarbonilimidazol (CDI-PEG) dallanmış polietilen glikoller (PEG'ler), polivinil alkol (PVA), poli(etilenimin) (PEI), doğrusal poliamidoaminler, poliakrilamid (PAAm), polidimetilakrilamid (PDAAm), polivinil alkol (PVA), polikarboksilatlar, polivinilpirolidon (PVP), poli-D,L-amino asitler, polietilen-ko-maleik asit anhidrit, polistiren-ko-maleik asit anhidrit, dekstranlar, örneğin, karboksimetil-kitosan, dekstrin, dekstranlar, heparin, homolog albümin, selülozlar, örneğin, metilselüloz, karboksimetilselüloz, etilselüloz, hidroksietilselüloz, karboksietilselüloz ve hidroksipropilselüloz, hidrolizatlar, kitosan, nişastalar, örneğin, hidroksietil-nişastaları ve hidroksipropil-nişastaları, glikojen, agarozlar ve bunların türevleri, guar gomu, pullulan, inülin, ksantan gomu, karragenan, pektin, alginik asit hidrolizatlar ve biyo-polimerler.

Tipik olarak polimerler, dekstran ve pullulan gibi polisakkaridlere kıyasla daha az çapraz bağlama kabiliyeti olan reaktif gruba sahip olan polialkilen oksitler (PAO), örneğin, polietilen oksitler, örneğin, PEG, tipik olarak mPEG'dir. Tipik olarak, polimerler toksik olmayan polimerik moleküller, örneğin hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzime nispeten basit bir kimya kullanılarak kovalent olarak konjüge edilebilen (ör., proteinin yüzeyi üzerindeki bağlantı gruplarına) (m)polietilen glikoldür (mPEG).

Terapötik maddelerin PEG'lenmesinin proteoliz direncini arttırdığı, plazma yarılanma ömrünü arttırdığı ve antijenisite ve immünojenisiteyi azalttığı rapor edilmiştir. PEG'leme usullerinin örnekleri teknikte bilinmektedir (bkz., örneğin, Lu ve Felix, Int. J. Peptide Protein Res., 43:127-138, 1994; Lu ve Felix, Peptide Res., 6:140-6, 1993; Felix vd., Int. J. Peptide Res., 46:253-64, 1995; Benhar vd., J. Biol. Chem., 269: 13398-404, 1994; Brumeanu vd., J Immunol., 154:3088-95, 1995; bkz. ayrıca, Caliceti vd. (2003) Adv. Drug Deliv. Rev. 55(10):1261-77 ve Molineux (2003) Pharmacotherapy 23 (8 Pt 2):3S-8S). PEG'leme ayrıca nükleik asit moleküllerinin *in vivo* iletiminde de kullanılabilir. Örneğin, adenovirüsün PEG'lenmesi stabiliteyi ve gen transferini arttırabilir (bkz., ör., Cheng vd. (2003) Pharm. Res. 20(9):1444-51).

Hiyalüronidazlar dahil hiyalüronan parçalayan enzimlere bağlanmak için uygun polimerik moleküllere sınırlayıcı olmaksızın şunlar dahildir: polietilen glikol (PEG) ve PEG türevleri, örneğin metoksi-polietilen glikoller (mPEG), PEG-glisidil eterler (Epoks-PEG), PEG-oksikarbonilimidazol (CDI-PEG), dallanmış PEG'ler ve polietilen oksit

(PEO) (bkz., ör. Roberts vd., *Advanced Drug Delivery Review* (2002) 54: 459-476; Harris ve Zalipsky, S (eds.) "Poly(ethylene glycol), Chemistry and Biological Applications" ACS Symposium Series 680, 1997; Mehvar vd., *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3(1):125-136, 2000; Harris, (2003) *Nature Reviews Drug Discovery* 2:214-221; ve  
 5 Tsubery, (2004) *J Biol. Chem* 279(37):38118-24). Polimerik molekülün molekül ağırlığı tipik olarak yaklaşık 3 kDa ile yaklaşık 60 kDa arasında olabilir. Bazı düzenlemelerde, bir hiyalüronidaz, örneğin bir PH20 gibi bir proteine konjüge edilen polimerik molekülün molekül ağırlığı 5 ile 60 kDa arasında veya yaklaşık olarak arasında, örneğin, en az veya yaklaşık en az 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 veya 60 kDa'dan yüksek olabilir.

#### 10 **PEG'lenmiş çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzimler**

Buradaki kombinasyonlar ve usullerde kullanılan hiyalüronan parçalayan enzim bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir PEG'lenmiş çözünebilen hiyalüronan parçalayan enzim olabilir. Bir örnekte, bir PEG'lenmiş çözünebilen hiyalüronidaz, ör., PEG'lenmiş PH20'dir. Polipeptidlerin bir PEG'ye veya PEG türevine  
 15 kovalent olarak bağlanarak (konjüge edilerek) modifiye edilmesine (yani, "PEGleme") yönelik çeşitli usuller teknikte bilinmektedir (bkz., ör., U.S. 2006/0104968; U.S. 5,672,662; U.S. 6,737,505; ve U.S. 2004/0235734). PEG'leme tekniklerine, sınırlayıcı olmaksızın, özel birleştiriciler ve bağlama kimyaları (bkz., ör., Roberts vd., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54:459-476, 2002), birden fazla PEG parçasının tek bir konjügasyon  
 20 bölgesine bağlanması (örneğin, dallanmış PEG'ler kullanılarak; bkz., ör., Guiotto vd., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:177-180, 2002), bölgeye özel PEG'leme ve/veya mono-PEG'leme (bkz., ör., Chapman vd., *Nature Biotech.* 17:780-783, 1999) ve bölgeye yönelik enzimsel PEG'leme (bkz., ör., Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002) dahildir. Teknikte açıklanan usuller ve teknikler tek bir protein molekülüne bağlı 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,  
 25 8, 9, 10 veya 10'dan fazla PEG veya PEG türevine sahip olan proteinler üretebilir (bkz., ör., U.S. 2006/0104968).

PEG'leme için çeşitli tepkime maddeleri teknikte açıklanmaktadır. Bu tip tepkime maddelerine, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: N-hidroksisüksinimidil (NHS) aktifleştirilmiş PEG, süksinimidil mPEG, mPEG<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid, mPEG  
 30 süksinimidil alfa-metilbütanoat, mPEG süksinimidil propionat, mPEG süksinimidil bütanoat, mPEG karboksimetil 3-hidroksibütanoik asit süksinimidil ester,

homobifonksiyonel PEG-süksinimidil propionat, homobifonksiyonel PEG propionaldehit, homobifonksiyonel PEG bütiraldehit, PEG maleimid, PEG hidrazid, p-nitrofenil-karbonat PEG, mPEG-benzotriazol karbonat, propionaldehit PEG, mPEG bütiraldehit, dallanmış mPEG<sub>2</sub> bütiraldehit, mPEG asetil, mPEG piperidon, mPEG metilketon, mPEG "birleştiricisiz" maleimid, mPEG vinil sülfon, mPEG tiol, mPEG ortopiridiltioester, mPEG ortopiridil disülfid, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, vinilsülfon PEG-NHS, akrilat PEG-NHS, floresein PEG-NHS ve biyotin PEG-NHS (bkz., ör., Monfardini vd., Bioconjugate Chem. 6:62-69, 1995; Veronese vd., J. Bioactive Compatible Polymers 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,324, 844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990, 237; U.S. 6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S. 6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US 2004/0235734; WO0500360; U.S. 2005/0114037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 1064951; EP 0822199; WO 01076640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; ve WO 0187925).

## 2. Taksanlar ve Bunların Formülasyonları

Burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usuller ve bunların kullanımı dahil kombinasyon terapisi bir taksan içerir. Taksanlar genel olarak terapötik kullanımlarını sınırlayan düşük oranda suda çözünürlüğe sahiptir. Burada sağlanan bileşimler ve kombinasyonlarda, taksanlar suda çözünebilirlik sergileyen formülasyonlar şeklinde sağlanmaktadır. Burada sağlanan özel örneklerde, taksanlar bir tümörün stromasını veya hücrelerini hedef alan ve/veya bunlara nüfuz eden formülasyonlar olarak sağlanmaktadır. Bu tip bir taksan formülasyonu örneği albümine bağlı taksandır.

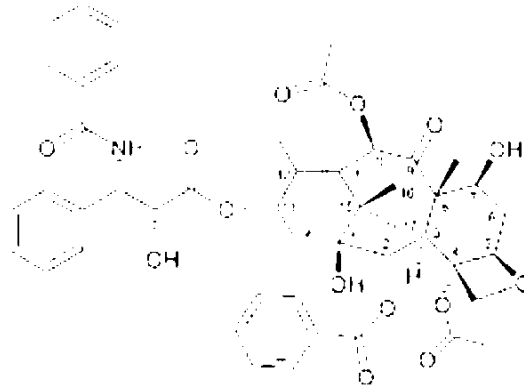
### a. Taksanlar

Taksanlar *Taxus* (porsuk ağaçları) cinsi bitkilerden üretilen doğal olarak üretilen diterpenlerdir. Taksanlar, tübülüne bağlanan ve mikrotübül polimerleşmesini stabilize etme görevi göre, böylece mikrotübül birleşmesi ve yapı bozumunda rol oynayan normal dengeyi bozan ve mikrotübül fonksiyonunu geciktiren anti-mitotik maddelerdir. Taksanlar mikrotübül oluşmasını desteklemesine rağmen, mitotik iğciğin mikrotübüllerini oluşturan tübülünün depolimerizasyonunu önlerler. Mikrotübüller hücre bölünmesi için önemlidir ve taksanlara maruz kalan hücrelerin bölünmesi premitotik G2 fazında durur ve başarısız olur. Dolayısıyla, bu ilaçlarla işlenen hücreler mitozda tutulduğundan, bu ilaçlar hücre bölünmesi sürecini engeller. Bu, başarısız mitozdan dolayı nihai olarak hücre ölümüyle sonuçlanabilir.

Taksanlar ayrıca işlenen hücrelerde O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toplanması dahil reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturur. ROS toplanması paklitaksel dahil taksanların doğrudan sitotoksik aktivitesinin yanı sıra komşu hücreler üzerinde yakınlık etkileri ile ilişkilidir (bkz., ör. Alexandre vd. (2007) *Cancer Res.*, 67:3512).

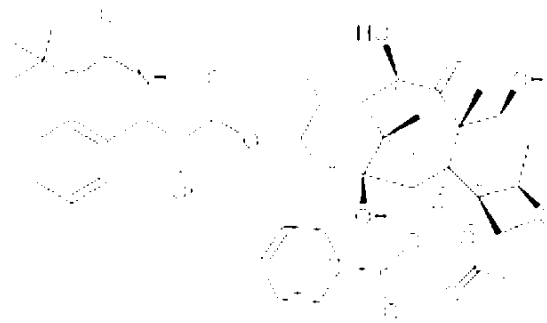
Burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanıma yönelik taksanlara tübülün depolimerizasyonunu inhibe eden her türlü diterpen bileşiği dahildir. Bu tip taksanlara özellikle ayrıca işlenen hücrelerde ROS birikmesini sağlayan herhangi bir bileşik dahildir. Taksanlara doğal olarak oluşan bir diterpenin saflaştırılmış formları olanlar veya yapay olarak sentezlenenler dahildir. Taksanlara kristalin olmayan ve/veya amorf olanlar dahildir. Taksanlara ayrıca bir taksanın susuz formları da dahildir.

Paklitaksel (taksol) doğal olarak oluşan bir diterpenoiddir. Kimyasal adı 5β,20-epoksi-1,2α,4,7β,10β,13α-heksahidroksitaks-11-en-9-on 4,10-diasetat 2-benzoattır. Taksol Batı Prosuk Ağacı, *Taxus brevifolia*'nın gövde kabuğunun yanı sıra *T. baccata* ve *T. cuspidata*'da bulunmaktadır. İlk olarak Pasifik porsuk ağacının, *Taxus brevifolia*, kabuğundan izole edilmiştir (Wani vd. (1971) *J. Am. Chem. Soc.*, 93:2325). A. Paklitakselin çekirdek yapısı dört halka (altı elemanlı A ve C halkası, sekiz elemanlı B halkası ve dört elemanlı D halkası) içerir. Paklitakselin yapısı aşağıda verilmektedir ve gösterilen numaralandırmada bu ilaç sınıfı için geleneksel numaralandırma sistemi kullanılmaktadır.



Paklitaksel Avrupa veya Himalaya porsuk ağacının iğneleri ve dallarından türetilen bakatinler olarak adlandırılan prekürsör kimyasal maddelerden yarı-sentetik usullerle hazırlanabilir. Paklitaksel, örneğin, bakatinden, paklitakselin hidroksil grupları haline gelecek olan bakatindeki hidroksil gruplarına koruyucu gruplar bağlanması, prekürsör bakatinin paklitaksele dönüştürülmesi ve daha sonra hidroksil gruplarından koruyucu grupların uzaklaştırılmasıyla paklitaksel elde edilmesiyle hazırlanabilir. Ek olarak, paklitaksel son dönemde basit prekürsörlerden sentezlenmektedir. (Bkz., ör., Uluslararası PCT Yayını No. WO93/10076, WO93/16059; ABD Pat. No. 5,200,534, ABD Pat. No. 5,015,744; ABD Pat. No. 4,960,790; Nicolaou (1993) Nature 364: 464-466; Nicolaou, K. C. vd. (1994) Nature, 367:630-634; ve Holton vd. (1994) J. Am. Chem. Soc., 116: 1597-1600).

Dosetaksel (taksoter) burada sağlanan kombinasyonlar ve bileşimlerde kullanılma yönelik bir başka örnek taksandır. Dosetakselin kimyasal adı 1,7 $\beta$ ,10 $\beta$ -trihidroksi-9-okso-5 $\beta$ ,20-epoksitaks-11-en-2 $\alpha$ ,4,13 $\alpha$ -triil 4-asetat 2-benzoat 13- $\{(2R,3S)$ -3-[(*tert*-bütoksikarbonil)amino]-2-hidroksi-3-fenilpropanoat) ve bu ilaç sınıfı için geleneksel numaralandırma kullanılarak gösterilen numaralandırmayla aşağıda verilen yapıya sahiptir.



Dosetaksel, Avrupa porsuk ağacında, *Taxus baccata*., bulunan bir yarı-sentetik, ikinci jenerasyon taksan türevidir. Dosetaksel, Avrupa porsuk ağacından ekstrakte edilen 10-deasetil bakatin III'ün bir esterlenmiş ürünüdür. Kimyasal yapısında iki konumda paklitakselden farklıdır: bir asetat ester içermez ve fenilpropionat yan zincirinde

5 paklitakseldeki benzil amid yerine bir tert-bütül karbamat ester mevcuttur. Bir paklitaksel analogu olan dosetaksel *Taxus baccata* iğnelerinden ekstrakte edilen bir sitotoksik olmayan prekürsör olan 10-deasetil bakatin III'ten yarı-sentetik olarak üretilir ve kimyasal olarak sentezlenen bir yan zincirle esterlenir (Cortes ve Pazdur, 1995, J. Clin. Oncol. 13(10):2643-55).

10 Burada sağlanan bileşimler, kombinasyonlar ve usullerde kullanıma yönelik taksanlara paklitaksel veya dosetaksel analogları, türevleri ve ön-ilaç formları dahildir. Bu tip taksan türevlerine paklitaksel veya dosetaksele kıyasla geliştirilmiş suda çözünürlük sergileyenler dahildir. Örneğin, taksan türevleri, analogları ve ön-ilaç formlarına halka konumları modifiye edilenler veya türetilenler ve özellikle 2'- ve 7 veya 10-konumu

15 uygun bir grupla türetilenler dahildir (bkz., ör., Fu vd. (2009) Current Medicinal Chemistry, 16:1-13).

Örneğin, taksan türevleri, analogları veya ön-ilaç formların, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: 2'-O-konumunda çeşitli süstitüe edilmiş açil gruplarına sahip olan su çözünebilir taksoller (bkz., ör., ABD Patenti No. 4,942,184); 2' ve/veya 7' hidroksinin

20 seçilen bir amino asit veya bir amino asit mimetiği bileşikle türetildiği su çözünebilir taksoller (bkz., ör., ABD Patenti No. 4,960,790); sülfonatlı 2'-akriloil, sülfonatlı 2'-O-açil asit taksol ve süstitüe edilmiş 2'-benzoil ve 2'7-dibenzoil taksol (bkz., ör., ABD Patenti No. 5,352,805 ve 5,411,984); taksolün 2'- ve/veya 7-O-ester ve 2'- ve/veya 7-O-karbonat türevleri (bkz., ör., ABD Patenti No. 5,817,840); polietilen glikol, poli(L-glütamik asit),

25 poli(L-aspartik asit) gibi polimerlerle konjügasyonla oluşturulan taksan türevleri (bkz., ör., ABD Patenti No. 5,977,163); bir taksanın yan zincirinin C-7, C-10 ve/veya 2'-konumunda bir fosfonoksi grubuna sahip olan taksan ön-ilaç formları (bkz., ör., WO9414787); 2'-süksinilpaklitaksel ve 2'-glütarilpaklitaksel tuzları (Deutch vd. (1989) J. Med. Chem., 32:788-792); paklitakselin 2' ve 7-amino acid türevleri ve bunların tuzları

30 (Matthew vd. (1992) J. Med. Chem., 35:145-151); sülfonat türevleri (Zhao vd. (1991) J. Nat. Prod., 54:1607-1611); 7-fosfat paklitaksel analogları (Vyas vd. (1993) Bioorg. Med.



Chem., Lett., 3:1357-1360); paklitakselin 2' ve 7-polietilen glikol esterleri (Greenwald vd. (1995) J. Org. Chem., 60:331-336; Greenwald vd. (1996) J. Med. Chem., 39:424-431); 2' ve 7-fosfonoksifenil-propionat paklitaksel (Ueda vd. (1993) Bioorg. Med. Chem. Lett., 3:1761-1766); paklitakselin 2' ve 7-metilpiridinyum asetat analogları (Nicolaou vd. 5 (1994) Angew Chemie, 106:1672-1675); Paloma vd. (1994) Chem. Biol., 1:107-112); 2' konumunda malik asit içeren paklitaksel ön-ilacı (Damen vd. (2000) Bioorg. Med. Chem. Lett., 8:427-432); taksanların ve özellikle taksolün sülfonat tuzları (ABD Patenti No. 5,059,699); taksanın yağda çözünürlüğünü arttırmak için bir açıl zinciri bağlanan türevler (bkz., ör., ABD Patenti No. 6,482,850); dosetakselin susuz üründen daha yüksek stabilite 10 sergileyen trihidrat formları (bkz., ör., ABD Patenti No. 6,022,985 ve 6,838,569); C-10 taksan türevleri, örneğin C-10 konumunda bir karbamat parçası içerenler (ABD Patenti No. 8,138,361); hidrofobik taksan türevleri (ABD Patenti Yayını No. US20090263483); ve taksanların hidrazid içeren karboksilat türevleri (bkz., ör., ABD Patenti No. 8,133,888).

#### 15 **b. Tümör- veya Stromal-Güdümlü Taksanlar**

Buradaki bileşimler ve kombinasyonlarda sağlanan taksan bileşikleri genel olarak tümörü ve tümörü çevreleyen stromayı hedef alacak şekilde hazırlanır. Burada sağlanan bileşimler ve kombinasyonlardaki taksan ayrıca geliştirilmiş çözünürlük sergileyen çözünürlüştürülmüş veya nano-dağıtılmış formülasyonlar olarak sağlanır.

20 Doğal veya yarı-sentetik üretilen paklitaksel (taksol) düşük suda çözünürlük ve özgün olmayan hedef alma veya lokalizasyon gibi problemler sergilemektedir. Örneğin, paklitaksel ve dosetaksel dahil taksanlar suda çok az çözünür (10 µg/mL'den az) ve sonuç olarak intravenöz uygulama için bir sulu ortamla pratik olarak formüle edilemez. Suda 25 çözünebilirlik problemlerini çözmek için, mevcut paklitaksel formülasyonları kanser hastalarına intravenöz uygulama için birincil çözücü/yüzey aktif madde olarak polietoksilenmiş hint yağı (Polyoxyl 35 veya Cremophor®) ile, yardımcı çözücü olarak kullanılan yüksek konsantrasyonlarda etanol ile formüle edilir. Paklitaksel gibi, dosetaksel de su içinde çok az çözünür. Halihazırda, dosetakseli çözmek için kullanılan 30 çözücü/yüzey aktif madde polisorbitat 80'dir (Tween 80) (Bissery vd. 1991 Cancer Res. 51(18):4845-52; Tomiak vd. 1992). Mevcut formülasyonlardaki etanol, Cremophor

ve/veya Tween ciddi cilt döküntüleri, kızarıklıkları, kurdeşen, kızarıklık, nefes darlığı, taşikardi ve diğerleri dahil, aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşmasıyla ilişkilidir.

Ayrıca, bir kanser dokusuna yönelik özgünlüğün artırılmasıyla, taksan molekülleri daha az sistemik etkiler veya maruz kalmadan dolayı daha az toksisite dergiler. Tipik olarak,  
 5 bir tümör-güdümlü taksan bir tümör ayırt etme parçasına doğrudan veya bir birleştirici aracılığıyla konjüge edilmiş veya birleştirilmiş bir taksan, bunun bir türevi, analogu veya ön-ilacıdır. Tümör ayırt etme parçası, normal hücrelere kıyasla kanser hücreleri üzerinde farklı şekilde eksprese edilen bir tümöre özel işaret veya parçayı ayırt eden bir monoklonal antikor, protein, peptid, lipid veya makromoleküler kompleks olabilir.  
 10 Kanser hücreleri bir taksanın iletimi için hedef alınabilen birçok tümöre özel işaret veya reseptörü aşırı eksprese eder.

Tümör-güdümlü taksan miseller, nano-tanecikler, mikroküreler, lipozomlar veya hidrojen formülasyonları olarak sağlanabilir. Bu tip formülasyonlar sulu ortam içinde düşük çözünürlük sergileyebilen taksanlar gibi aktif bileşenleri kapsüllemek için kullanılabilir.  
 15 Bu tip formülasyonlar teknikte uzman kişilerce iyi bilinmektedir. Bazı örneklerde, iletim aracı bir makromoleküler kompleks, monoklonal antikor, protein, peptid veya lipid gibi tümör hedef alan parça le kaplanır veya konjüge edilir. Dolayısıyla, bazı örneklerde, ilaç iletim platformu taksanı kapsüller ve kendisi tümör hedefleme sağlamak için yüzey üzerinde bir hedef alma ligandı veya bir başka polimerik kaplama içerir.

20 Örnek tümör-güdümlü taksanlar ve bunların formülasyonları müteakiben verilenler gibi bir tümör hedef alma parçası içerir: bir makromolekül, örneğin poly-L-glütamat (PGA-TXL, Xyotax; Li vd. (1998) *Cancer Res.*, 58:2404-2409); bir tümör işaretine yönelik bir monoklonal antikor, örneğin p140 TrkA veya p75 reseptörleri (Guillemard ve Saragovi (2001) *Cancer Res.*, 61:694) veya anti-epidermal büyüme faktörü reseptörü (yani anti-  
 25 EGFR monoklonal antikor, örneğin setuksimab; Safavy vd. (2003) *Bioconjug.*, 14:302-10; Ojima vd. (2002) *J. Med. Chem.*, 45:5620-3), anti-HER2 (Herceptin, trastuzumab, Cirstoiu-Hapca vd. (2010) *J. Control Release*, 144:324-31); bir polidoymamış yağ asidi, örneğin dokosaheksaenoik asit (DHA; Bradley vd. (2001) *Clin. Cancer Research*, 7:3229-38), linolenik asit veya linoleik asit (Kuznetsova vd. (2006) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*,  
 30 15:974-7); bir peptid, örneğin BBN[7-13] olarak belirtilen, hücre yüzeyi bombesin/gastrin serbest bırakan peptide (BBN/GRP) bağlanan bir 7-amino asitli sentetik

peptid (Safavy vd. (1999) *J. Med. Chem.*, 42:4919-4924), bir LRP-1 güdümlü 19 amino asitli peptid angiopep-2 (Wen vd. (2011) *Molecular Cancer Therapeutics*, 10 (11 Ek):Abstract B49), matris metaloproteaz 2 tarafından parçalanmış bir oktapeptid (MMP2; Yamada vd. (2010) *Cancer Biology and Therapy*, 9:192-203), bir RGD peptidi (bkz., ör., Zhao vd. (2009) *J. Drug Target*, 17:10-8); tümöre özel reseptörleri hedef alan proteinler, örneğin vitamin reseptörleri, örneğin biyotin (vitamin H veya B-7, folat veya folik asit, vitamin B12 veya riboflavin (bkz., ör., Chen vd. (2010) *Biconjug. Chem.*, 21:979-987, Li vd. (2011) *International Journal of Nanomedicine*, 6:1167-1184); hiyalüronik asit (HA) (Auzenne vd. (2007) *Neoplasia*, 9:479-486); transferrin (Sahoo vd. (2004) *Int. J. Cancer*, 112:335-40); ve albümin.

### **Albümine-Bağlı Taksan**

Bir çözünebilen polimer-ilaç kompleksi örneğin bir albümine-konjüge edilmiş taksandır. Albümin vitaminler veya hormonlar gibi endojen hidrofobik moleküllerin bir doğal taşıyıcısıdır. Bir taşıyıcı görevi görmesine ek olarak, albümin ayrıca endotel hücrelerinin yüzeyi üzerindeki kaveoleler aracılığıyla transsitoz gerçekleştiren gp60'a bağlanarak protein-bağlı plazma bileşenlerinin endotelial transsitozunu sağlar. Albümin ayrıca birçok tümör hücresi üzerinde mevcut olan sistein bakımından zengin salgılanan protein aside (SPARC, osteonektin olarak da bilinir) bağlanabilir. Albümin, dolayısıyla, albümine bağlı ilaçların tümör hücresinde toplanmasını destekler.

Albüminlere insan serum albümininin (HSA) yanı sıra büyükbaş hayvan serum albümini (BSA) gibi insan olmayan albümin dahildir. HSA yüksek oranda çözünebilen globüler bir  $M_r$ 65K proteindir ve 585 amino asit içerir (DİZİ ID NO:211). HSA plazmadaki en bol proteindir ve insan plazmasındaki koloid ozmotik basıncının %70-80'inden sorumludur. HSA'nın amino asit dizisi toplam 17 disülfid köprüsü, bir serbest tiol (Cys 34) ve tek bir triptofan (Trp 214) içerir.

İnsan serum albümini (HSA) birden fazla hidrofobik bağlayıcı bölgeye sahiptir (HSA'nın bir endojen ligandı olan yağ asitleri için toplam sekiz) ve çeşitli farmasötik madde gruplarına, özellikle nötr ve negatif yüklü hidrofobik bileşiklere bağlandığı gösterilmiştir (Goodman vd., *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9. Baskı, McGraw-Hill New York (1996)). HSA'nın alt-alanı IIA ve IIIA'da, polar ligand özellikleri için bağlantı

noktaları olarak görev yapan yüzeyin yakınında yüklü lizin ve arginin kalıntıları içeren yüksek oranda uzamış hidrofobik cepler olan iki yüksek afiniteli bağlayıcı bölge olduğu ileri sürülmüştür (bkz., ör., Fehske vd., *Biochem. Pharmacol.*, 30, 687-92 (1981), Vorum, *Dan. Med. Bull.*, 46, 379-99 (1999), Kragh-Hansen, *Dan. Med. Bull.*, 37:57-84 (1990),  
 5 Curry vd., *Nat. Struct. Biol.*, 5, 827-35 (1998), Sugio vd., *Protein. Eng.*, 12, 439-46 (1999), He vd., *Nature*, 358, 209-15 (1992) ve Carter vd., *Adv. Protein. Chem.*, 45, 153-203 (1994)). Paklitaksel ve dosetakselin HSA'ya bağlandığı gösterilmiştir (bkz., ör., Paal vd., *Eur. J. Biochem.*, 268(7), 2187-91 (2001), Purcell vd., *Biochim. Biophys. Acta*, 1478(1), 61-8 (2000), Altmayer vd., *Arzneimittelforschung*, 45, 1053-6 (1995), Garrido  
 10 vd., *Rev. Esp. Anestesiol. Reanim.*, 41, 308-12 (1994); ve Urien vd., *Inyvest. New Drugs*, 14(2), 147-51 (1996)).

Bileşimde albüminin taksana ağırlık oranı yaklaşık 20:1 veya daha düşük, örneğin 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 veya daha düşük ve genel olarak en az veya yaklaşık en az 9:1'dir. Elde edilen ürün çözücü ve/veya yüzey  
 15 aktif madde içermeyecek şekilde oluşturulabilir. Taksan albüminle kaplanır. Taksan/albümin nanotanecikleri genel olarak en fazla 200 nm ve genel olarak 100 nm ila 200 nm ortalama çapa, örneğin 130 nm ortalama çapa sahiptir.

Örneğin, albümine bağlı taksanlara albümine bağlı (nab-)paklitaksel (ör. Abraxane, American Bioscience, Inc. (Santa Monica, CA); ayrıca ABD Pat. No. 5,439,686 ve  
 20 6,749,868'de açıklanmaktadır) veya albümine bağlı dosetaksel (örneğin, ABD Pat. başvurusu Yayın No. 20080161382, 20070117744 ve 20070082838'de açıklanan) dahildir. İnsan albümini topaklaşmayı önlemek için paklitaksel nano-taneciklerine yüksek ve sterik stabilizasyon sağlayan bir yüzey aktif polimer olarak görev yapar. Stabilizasyon, albüminin paklitaksel nano-taneciklerinin yüzeyi üzerine tutunması,  
 25 böylece paklitaksel taneciklerinin topaklaşmasını önleyen bir yüzey-aktif polimer olarak görev yapan bir tabaka oluşması sayesinde gerçekleşir. Paklitaksel ve insan albümini arasındaki etkileşim zayıftır ve her iki madde de ilacın hazırlanmasından sonra serbestçe ayrışır. Dolayısıyla, hazırlanarak kan akışına enjekte edildiğinde, paklitaksel konsantrasyonu hızla düşer ve albümin taneciklerinin ayrı ayrı albümin molekülleri  
 30 olarak ayrıştığına ve daha sonra paklitaksel hala bağlı haldeyken dolaşıma girdiğine inanılmaktadır. Özellikle, albümine bağlı paklitaksel (ör. nab-paklitaksel veya Abraxane)

salin çözeltisi (%0.9 NaCl) içinde seyreltilmiş paklitaksel ve insan serum albümininin bir liyofilize edilmiş formülasyonundan türetilen bir koloidal süspansiyon olarak kullanılabilir. Elde edilen ilaç taneciği kompleksi ortalama 130 nm boyutta stabilize edilebilir. Yukarıda açıklananların herhangi biri gibi başka taksanlar içeren nano-  
5 tanecikler de oluşturulabilir ve kullanılabilir ve yukarıda açıklananlarla aynı özellikleri içerebilir.

### 3. Ek Kemoterapi Maddesi (ör. Nükleosid Analöğü)

İsteğe bağlı olarak, burada sağlanan kombinasyon terapisine bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan-parçalayan enzim ve/veya bir taksan formülasyonunun biri veya her ikisiyle  
10 birlikte uygulamayla aktivitesi gelişen veya artan bir ek kemoterapi maddesi eklenebilir. Örneğin, bir veya daha fazla nükleosid analöğü, özellikle anti-metabolit, burada sağlanan kombinasyon terapisine eklenebilir. Hücreye girdikten sonra, nükleosid analogları ardı ardına nükleosid 5'-mono-fosfatlar, di-fosfatlar ve tri-fosfatlar halinde fosforillenir. Örneğin, genel olarak, nükleosid analogları nükleosidin trifosfatı halinde  
15 forforillenmesiyle (ör., difosfat kinazlarla) bir aktif bileşiğe dönüştürüldükten sonra DNA'ya eklenecek bir substrat olarak bir fizyolojik nükleosid (ör. dCTP) ile rekabet edebilir. Dolayısıyla, nükleosid analogları fizyolojik nükleosidleri taklit eder. Eklendiğinde, analog yetersiz bir substrattır, dolayısıyla kopyalanmayı geciktirir ve/veya zincir sonlanmasına neden olur. Nükleosid analoglarının bir özeti için, bkz., Sampath vd.  
20 (2003), *Oncogene*, 22:9063-9074. Nükleosid analoglarının bir aktif forma dönüştürülmeleri gerekli olduğundan, genel olarak bir aktif form halinde fosforillenmeleri gereken ön-ilaçlardır.

Buradaki bileşimler ve kombinasyonlarda kullanıma yönelik nükleosid analoglarına purin ve pirimidin nükleosid analoglarının yanı sıra bunların türevleri ve ön-ilaç formları  
25 dahildir. Pirimidin nükleosid analoglarına, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: floropirimidin 5-florourasil (5-FU; fluorourasil), 5-floro-2'-deoksisitidin (FCdR), arabinosilsitozin (ara-C; sitozin arabinosid veya sitarabin olarak da adlandırılmaktadır), gemsitabin (2'-deoksi-2',2'-diflorositidin), troksasitabin (beta-L-dioksolan sitidin, BCH-4556), desitabin (5-aza-2'-deoksisitidin), Azasitidin (4-amino-1-β-D-ribofuranosil-1,3,5-  
30 triazin-2(1H)-on), psödoizositidin (psi ICR), 5-aza-2'-deoksi-2',2'-diflorositidin; 5-aza-2'-deoksi-2'-florositidin; 1-β-D-ribofuranosil-2(1H)-pirimidinon (Zebularine); 2',3'-

dideoksi-5-floro-3'-tiasitidin (Emtriva); 2'-siklositidin (Ancitabine); 1- $\beta$ -D-arabinofuranosil-5-azasitozin (Fazarabine veya ara-AC); 6-azasitidin (6-aza-CR); 5,6-dihidro-5-azasitidin (dH-aza-CR); N<sup>4</sup>-pentiloksikarbonil-5'-deoksi-5-florositidin (Capecitabine); N<sup>4</sup>-oktadesil-sitarabin; ve elaidik asit sitarabin ve bunların türevleri ve  
5 ön-ilaç formları. Purin nükleosid analoglarına, örneğin, fludarabin, kladribin, klofarabin, nelarabin, forodesin, pentostatin ve tezasitabin ve bunların türevleri ve ön-ilaç formları dahildir.

Nükleosid analoglarının diğer ön-ilaç formları bilinmektedir veya oluşturulabilir. Örneğin, diğer ön-ilaç formlarına hücre sel alım özelliklerini ve/veya deaminazla  
10 pasifleştirme direncini değiştirecek şekilde modifiye edilmiş olanlar dahildir (aşağıda açıklanmaktadır). Örneğin, bu tip ön-ilaç formları geliştirilmiş ağız yoluyla absorpsiyona ve/veya arttırılmış veya özel doku hedeflemesine olanak sağlayabilir (Li vd. (2008) Journal Pharm. Science, 97:1109-1134).

Bazı nükleosid analoglarının antitümör aktivitesinin elde edilebilen düşük sitotoksik  
15 seviyelerle sınırlanmaktadır. Bunun nedeni büyük ölçüde birçok dokuda bulunabilen enzimlerin pasifleşmesidir. Örneğin, bazı nükleosid analoglarının metabolik olarak pasifleşmesine deaminasyon neden olabilir. Deaminasyon bir nükleotide özel deaminaz, örneğin adenosin deaminaz veya sitidin deaminazla katalize (cdA) edilebilir. Dolayısıyla, bazı kanser ilaçları bir organizmanın doğal olarak oluşan enzimleri, örneğin adenosin  
20 deaminaz (ADA, EC 3.5.4.4) ve sitidin deaminaz (CDA, sitozin nükleosid deaminaz, sitidin aminohidrolaz veya EC 3.5.4.5 olarak da adlandırılmaktadır) tarafından metabolize edilir. Bu enzimler insanlar ve diğer organizmalarda sırasıyla doğal amino aminopurin ve aminopirimidin nükleosidlerini deamine etme görevi görür. Bu enzimler ayrıca aktif nükleosid bazlı kanser ilaçlarını pasif metabolitlere dönüştürür. Örneğin,  
25 CDA, pirimidin kurtarma sürecinin bir bileşenidir. Hidrolitik deaminasyonla sitidin ve deoksisitidini sırasıyla üridin ve deoksiüridine dönüştürür (Cacciamani vd. (1991) Arch. Biochem. Biophys. 290:285-292; Wentworth ve Wolfenden (1978) Methods Enzymol. 57:401-407; Wisdom ve Orsi (1967) Biochem. J. 104:7P). Ayrıca ara-C ve aşağıda bahsedilen diğerleri gibi klinik olarak yararlı ilaçlar olan çeşitli sentetik sitozin  
30 analoglarını da deamine eder (Eliopoulos vd. (1998) Cancer Chemother. Pharmacol. 42:373-378; Kees vd. (1989) Cancer Res. 49:3015-3019; Antiviral Chem. Chemother.

(1990) 1:255-262). Örneğin, gempitabinin plazmadaki yarılanma ömrü, endojen enzim deoksisitidin deaminaz tarafından karşılık gelen urasil türevi (dFdU) halinde hızlı deaminasyondan dolayı, yaklaşık 10 dakikadır (P. G. Johnston vd., *Cancer Chromatography and Biological Response Modifiers*, Annual 16, 1996, Bölüm 1, ed. Pinedo H. M. vd.).

Örneğin, purin nükleosid ilacı arabinosiladenin (fludarabin, ara-A) ADA tarafından deamine edilir; ana amino grubu hidroksil ile ikame edilmiş oluşan bileşik ana bileşiğe kıyasla bir antitümör maddesi olarak pasiftir. Benzer şekilde, arabinosilsitozin ilacı (sitarabin Ara-C (veya AraC); 4-Amino-1-( $\beta$ -D-arabinofuranosil)-2(1H)-pirimidinon; Sitozin arabinosid; veya 1-( $\beta$ -D-Arabinofuranosil)sitozin olarak da adlandırılmaktadır) CDA tarafından pasif arabinosilurasil halinde metabolik olarak parçalanır. Gemcitabin, desitabin, azasitidin ve diğerleri de benzer şekilde pasifleştirilir. Sitozin nükleosidleri ve bunların analogları (ör. sitarabin ve gempitabin) gibi nükleosid analoglarının deaminasyonu aktif metabolitler olarak görev yapan toksik hücre-içi trifosfat türevlerinin birikmesini önler.

Sitozin bileşiklerinin üridin türevlerine dönüştürülmesi genellikle terapötik aktivite kaybına ve ek yan etkilere yol açar. Ayrıca, sitozin analogu ilaçlara direnç kazanan kanserlerin genellikle aşırı CDA eksprese ettiği gösterilmiştir (*Leuk. Res.* 1990, 14, 751-754). Yüksek seviyede CDA eksprese eden lösemi hücreleri ve katı tümörler sitozin antimetablitlerine karşı direnç oluşturabilir ve dolayısıyla bu tip terapötik maddelerin antineoplastik aktivitesini sınırlayabilir (*Biochem. Pharmacol.* 1993, 45:1857-1861). Nükleosid analoglarına yönelik direnç yüksek dozajlar, kesintisiz infüzyonlar veya tekrarlanan uygulamalar gerektirebilir. Bu etkiler özellikle miyelo-bastırma ve immüno-bastırma ile ilgili olarak ciddi olumsuz etkilere yol açabilir.

Reaktif oksijen türleri (ROS) nükleosid deaminazlar dahil enzimlerin pasifleşmesiyle ilişkilidir. Taksanların tümör-içi ROS oluşturduğu ve dolayısıyla nükleosid deaminazların aktivitesini pasifleştirdiği bilinmektedir (bkz., ör. Frese vd. (2012) *Cancer Discovery*, 2:260-269).

Dolayısıyla, buradaki amaçlar doğrultusunda, burada sağlanan kombinasyonlar ve bileşimlerde kullanıma yönelik örnek nükleosid analogları bir deaminaz için substrat olanlar ve bu şekilde pasifleştirilenlerdir. Örneğin, deaminaz bir sitidin deaminaz veya

bir adenosin deaminaz olabilir. Bu tip analogların tümör-içi seviyesi ve aktivitesi bir polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve bir taksan formülasyonu içeren kombinasyon terapisinde büyük ölçüde arttırılabilir. Bu tip nükleosid analoglarının örneklerine, sınırlayıcı olmaksızın, fludarabin, sitarabine, gemsitabin, desitabin ve azasitidin veya bunların türevleri dahildir. Özel örneklerde, nükleosid analogu mesane, meme, akciğer, yumurtalık, pankreas ve diğer kanserleri gibi katı tümörleri tedavi edebilen bir tanedir.

Burada sağlanan nükleosid analoglarının herhangi biri lipozomlar, mikro-tanecikler, nano-tanecikler veya polimer-konjügelere olarak formüle edilebilir. Örneğin, formülasyonlar uygulanan ilaçların iletimini kontrol edecek ve/veya yarılanma ömürlerini arttıracak şekilde hazırlanabilir. Örneğin, lipozomal formülasyonların örnekleri bilinmektedir (bkz., ör., ABD Patenti No. 5,736,155 ve 8,022,279).

### **Örnek Nükleosid Analogları**

#### **i) Gemsitabin**

Gemsitabin (2',2'-diflorodeoksisitidin, dFdC) bir diflorlanmış deoksisitidin analogudur ve dolayısıyla bir nükleosid analogu veya bir antimetabolittir. Hücreye girdikten sonra, nükleosid monofosfat ve difosfat kinazlar tarafından hücre-içi fosforilasyon sırasıyla 5'-difosfat (dFdCDP) ve 5'-trifosfat (dFdCTP) türevleri üretir. Gemsitabin trifosfat, DNA'ya eklenme için dCTP ile rekabet eden bir sahte baz olarak görev yapar. DNA'ya eklendiği takdirde, DNA zinciri uzamasının durdurulmasından önce sadece bir tane daha nükleotid eklenebilir. DNA polimeraz epsilon bu durumda gemsitabin nükleotidini uzaklaştırılmaz ve büyüyen DNA sarmallarını onaramaz (maskelenmiş zincir sonlandırma).

Gemsitabin bir liyofilize edilmiş toz formülasyon olan Gemzar® olarak pazarlanmaktadır. Gemzar®, enjeksiyonluk gemsitabin, USP, 2'-deoksi-2',2'-diflorositidin monohidroklorür ( $\beta$ -izomeri) olan Gempitabin HCl içerir. Gemzar®, bir steril liyofilize edilmiş toz olarak manitol (sırasıyla, 200 mg veya 1 g) ve sodyum asetat (sırasıyla, 12.5 mg veya 62.5 mg) ile formüle edilen 200 mg veya 1 g gemsitabin HCl (serbest baz olarak ifade edilmektedir) içeren bir intravenöz formülasyon olarak sunulmaktadır. Formülasyonun pH'si hidroklorik asit ve/veya sodyum hidroksit eklenerek ayarlanabilir. Gemzar®, bunun hazırlanmasına yönelik bir işlem ve bunun kullanımına



yönelik usuller ABD Pat. No. 5,464,826 ve ABD Pat. No 4,808,614'te açıklanmaktadır. Gemzar® halihazırda pankreas kanseri, meme kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisi için onaylanmıştır ve yumurtalık kanseri için değerlendirilmektedir. Ek olarak Gemzar® HCV tedavisinin yanı sıra bir bağışıklık fonksiyonu modülatörü olarak da kullanılabilir (bkz., ABD Pat. No 6,555,518).  
5 Gemzar®, intravenöz infüzyonla 30 dakika içinde yaklaşık 1000 ila 1250 mg/m<sup>2</sup> dozda, haftada bir kez 7 hafta boyunca uygulanabilir ve ardından tedaviye bir hafta ara verilebilir.

Çeşitli ön-ilaç formları dahil, gemsitabinin sentetik türevleri bilinmektedir (bkz., örneğin,  
10 Ishitsuka vd, Uluslararası Yayın No. WO03/043631; Alexander vd. (2003) J. Med. Chem., 46: 4205-4208; ABD Pat. No. 6,303,569; Guo vd. (2001) Cancer Chemother. Pharmacol.,48:169-176; Uluslararası Yayın No. WO01/21135; Di Stefano vd. (1999) Biochem. Pharmacol., 57: 793-799; Guo vd. (1999) J. Org. Chem., 64: 8319-8322; Uluslararası Yayın No. WO99/33483; Uluslararası Yayın No. WO98/32762; Uluslararası  
15 Yayın No. WO98/00173; ABD Pat. No. 5,606,048; ABD Pat. No. 5,594,124; Avrupa Patent Başvurusu No. EP712860; ABD Pat. No. 5,521,294; ABD Pat. No. 5,426,183; ABD Pat. No. 5,401,838; Avrupa Patenti No. EP0376518; Avrupa Patent Başvurusu No. EP577303; Avrupa Patent Başvurusu No. EP576230; Chou vd. (1992) Synthesis, 565-570; Richardson vd. (1992) Nucleic Acid Res., 20: 1763-1768; Baker vd. (1991) J. Med.  
20 Chem., 34: 1879-1884; Uluslararası Yayın No. WO91/15498; Avrupa Patent Başvurusu No. EP329348; Avrupa Patent Başvurusu No. EP272891).

Örnek geliştirilmiş ön-ilaçlara, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: gemsitabin elaidat (ayrıca 9(E)-Oktadekenoik asit 2'-deoksi-2',2'-diflorositidin-5'-il ester; 2'-Deoksi-2',2'-difloro-5'-O-[9(E)-oktadekenoil]sitidin; CP-4126 olarak da adlandırılmaktadır; veya  
25 CAS Kayıt no. 210829-30-4); Azelaik asit gemsitabin ester meglümin tuzu (ayrıca 1-[5-O-(9-Karboksinonanoil)-β-D-arabinofuranosil]sitozin meglümin tuzu olarak da adlandırılmaktadır); Azelaik asit gemsitabin esterin diğer tuzları; ve 1-[4-(2-Propilpentanamido)-2-okso-1H-pirimidin-1-il]-2-deoksi-2,2-difloro-β-D-ribofuranoz (ayrıca LY-2334737 olarak da adlandırılmaktadır). Örneğin, CP-4126, gemsitabinin bir  
30 lipofilik doymamış yağ asidi esteri türevidir. Lipofilikliği sayesinde, yüksek bir hücresel alım ve toplanma sergiler, böylece yüksek bir aktif metabolitlere dönüşüm sağlar.

Diğer nükleosid analoglarına kıyasla, gemsitabin ve bunun türevleri veya ön-ilaçları özellikle katı tümörlere yönelik olarak daha yüksek anti-tümör aktivitesi sergiler. Gemsitabinin anti-tümör aktivitesi pankreas, küçük hücreleri ve küçük hücreleri olmayan akciğer ve mesane kanserlerine karşı gösterilmiştir.

- 5 Nispeten hidrofilik bir bileşik olan gemsitabinin pasif difüzyon aracılığıyla plazma membranlarına nüfuz etme kabiliyeti sınırlıdır. Dolayısıyla, yüksek dozajlar veya infüzyonlar gereklidir. Gemsitabin uygulaması bazı yan etkilerle ilişkilidir. Sitotoksik seviyeleri korumak için uygulanan dozajlar veya uzun infüzyon süreleri miyelotoksisite ve başka olumsuz etkiler, örneğin yükselen karaciğer transaminaz enzimi, bulantı ve kusma ve cilt kızarmasıyla ilişkili olabilir.

### ii) Sitarabin

- Sitarabin ilk olarak *Cryptotethya crypta* süngerinden izole edilmiş olan bir nükleosid analogudur. Sitarabin, dCTP ile rekabet edebilen ara-CTP halinde fosforillenir. ara-CTP de DNA'ya eklenebilir ve zincir polimerizasyonu ve DNA onarımını engelleyebilir.
- 15 Sitarabin, sitidin deaminaz tarafından pasifleştirilebilir.

- Sitarabin çoğunlukla hematolojik kanserlerde kullanılmaktadır. Sitarabinin sentetik türevleri geliştirilmiş ve bunların katı tümörlere karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Bunlara, örneğin, gemsitabin (bkz., yukarı) dahildir. Örneğin, sitarabinin ester türevleri bilinmektedir. Bu tip bir türevin örneği sitarabinin 5'-elaidik asit esteri olan CP-4055'tir
- 20 (bkz., ör., Bristol vd. (1999) Cancer Res., 59:2944).

Sitotoksik etkilerin yeterli seviyelerde sürdürülmesiyle ilgili problemlerden dolayı, uygulanan dozajlar veya arttırılan infüzyon süreleri miyelo-bastırma ve başka özel doku tahribatları gibi yan etkilere neden olabilir.

### iii) Desitabin

- 25 Desitabin (5-aza-2'-deoksisitidin, 5-aza-CdR), sitidinin bir pirimidin nükleosid analogudur. Desitabin ilk olarak paraçilglükosil izosiyanatların siklikleştirilmesiyle hazırlanmıştır (Pliml ve Sorm (1964) Collect. Czech. Chem. Commun. 29:2576-2577). Desitabinin iki izomerik formu birbirinden ayırt edilebilir.  $\beta$ -anomeri aktif formdur.

Desitabin, bir enjeksiyonluk steril liyofilize toz formunda olan piyasadan temin edilebilen DACOGEN™ ürününün aktif bileşenidir.

Hücre-içinde, desitabin önce başlıca olarak hücre döngüsünün S fazı sırasında sentezlenen deoksisitidin kinaz tarafından aktif formuna, fosforillenmiş 5-aza-  
5 deoksisitidin, dönüştürülür. Desitabinin deoksisitidin kinazın katalitik bölgesine yönelik afinitesi doğal substratına, deoksisitidin, benzerdir (Momparder vd. (1985) Pharmacol Ther 30:287-299). Deoksisitidin kinaz tarafından trifosfat formuna dönüştürüldükten sonra, doğal substratına, dCTP, benzer bir hızda kopyalanan DNA'ya eklenir (Bouchard ve Momparder (1983) Mol. Pharmacol. 24:109-114).

10 Desitabinin fonksiyonlarından biri özgün ve kuvvetli bir şekilde DNA metilasyonunu inhibe etme kabiliyetidir. Sitozinin 5-metilsitozin halinde metillenmesi DNA seviyesinde gerçekleşir. Desitabinin DNA sarmalına eklenmesi hipo-metilasyon etkisine sahiptir. Farklılaşmış hücrelerin her bir sınıfı kendine has metilasyon düzenine sahiptir. Kromozom çiftleşmesinden sonra, bu metilasyon düzenini korumak için, ebeveyn sarmal  
15 üzerindeki 5-metilsitozin tamamlayıcı yavru DNA sarmalı üzerindeki metilasyonu yönlendirme görevi görür. Sitozindeki 5 konumundaki karbonun bir azotla ikame edilmesi normal DNA metilasyonu sürecini engeller. Özel bir metilasyon bölgesinde 5-metilsitozinin desitabinle ikame edilmesi, muhtemelen enzim ve desitabin arasında bir kovalent bağ oluşmasından dolayı, DNA metiltransferazın tersine çevrilmeyen bir şekilde  
20 pasifleşmesine neden olur (Juttermann vd. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 91:11797-11801). Metilasyon için gereken enzim olan DNA metiltransferazın özgün bir şekilde inhibe edilmesiyle, tümör bastırıcı genlerin anormal metilasyonu önlenir.

Desitabin ve özellikle  $\beta$ -anomerin hazırlanmasına yönelik usuller teknikte bilinmektedir (bkz., ör., ABD Patenti No. 3,350,388; ABD Patenti No. 3,817,980; ABD Patenti No.  
25 4,209,613; ABD yayınlanmış Başvuru No. US20120046457; Uluslararası Başvuru Yayın No. WO2008/101448; Winkley vd. (1970) J Org Chem, 35:491-495; Piskala vd. (1978) Nucleic Acids Research, 1:s109-s114; Ben-Hattar vd. (1986) J Org Chem, 51:3211-3213.) Desitabin teknikte bilinen standart usullerle formüle edilebilir. Formülasyonlar sıvı veya liyofilize edilmiş formülasyonlar olabilir. Örneğin, desitabin yaygın olarak,  
30 potasyum dihidrojen fosfat gibi bir tamponlama tuzu ve sodyum hidroksit gibi pH modifiye ediciyle birlikte, bir enjeksiyonluk steril liyofilize toz olarak sunulmaktadır.

Örneğin, desitabin SuperGen, Inc. tarafından 20 mL'lik cam şişeler içinde paketlenmiş, 50 mg desitabin, monobazik potasyum dihidrojen fosfat ve sodyum hidroksit içeren liyofilize toz olarak sunulmaktadır. 10 mL enjeksiyonluk steril su ile hazırlandığında, her bir mL 5 mg desitabin, 6.8 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve yaklaşık 1.1 mg NaOH içerir. Oluşan  
 5 çözeltinin pH'si 6.5-7.5'tir. Hazırlanan çözelti ayrıca soğuk infüzyon sıvıları, yani %0.9 Sodyum Klorür; veya %5 Dekstroz; veya %5 Glükoz; veya Laktatlı Ringer içinde 1.0 veya 0.1 mg/mL konsantrasyona seyreltilebilir. Açılmamış şişeler tipik olarak orijinal paket içinde soğutulmuş (2-8° C.; 36-46° F.) saklanır. Sıvı formülasyonlar da bilinmektedir (bkz., ör., ABD Patenti No. 6,982,253).

10 Sitidin deaminaz tarafından katalize edilen desitabinin 5-aza-2'-deoksiüridin halinde deaminasyonundan dolayı, desitabin kısa bir *in vivo* yarılanma ömrü sergiler (Chabot vd. (1983) Biochemical Pharmacology 22:1327-1328). Desitabinin  $K_m$ 'si, doğal substratı deoksisitidin için 12  $\mu\text{M}$  olan  $K_m$ 'ye kıyasla, insan karaciğerinden saflaştırılan enzim için  
 15 deaminaz tarafından desitabininkinden yaklaşık 6 kat daha yüksek olmuştur. Kısa yarılanma ömründen dolayı, desitabin hastalara en çok enjeksiyonla, örneğin bir bolus I.V enjeksiyonu, kesintisiz I.V. infüzyonu veya I.V. infüzyonu ile uygulanır.

I.V. infüzyonunun uzunluğu sulu çözeltiler içinde desitabinin bozunmasıyla sınırlanabilir. Sulu çözeltilerde daha stabil olan desitabin türevleri mevcuttur (bkz., ör.,  
 20 ABD Patenti No. 7,250,416).

#### iv) Azasitidin

Azasitidin, AZA veya 4-amino-1- $\beta$ -D-ribofuranosil-1,3,5-triazin-2(1H)-on olarak da bilinen 5-azasitidin (National Service Center adı NSC-102816; CAS Kayıt No 320-67-2) bir desitabin analogudur (bkz., ör., Hanna vd. (1998) Collect. Czech. Chem. Commun.,  
 25 63:222-230). Halihazırda VIDAZA® ilaç ürünü olarak pazarlanmaktadır. Azasitidin bir nükleosid analogu, özellikle bir sitidin analogudur. Doğal nükleosidinin bir antagonistidir. Örneğin, azasitozin ve sitozin arasındaki tek yapısal fark sitozin için sitozin halkasındaki 5 konumundaki karbona kıyasla azasitozinde bu konumda bir azot atomu mevcut olmasıdır.

Azasitidin hazırlanmasına yönelik usuller ve özellikle su kullanımının önlendiği usuller teknikte bilinmektedir (ABD Pat. No. 3,350,388; ABD Pat. No. 8,058,424; Winkley ve Robins (1970) J. Org. Chem., 35:491; Piskala ve Sorm (1978) Nucl. Acid. Chem., 1:435; ve Vorbrueggen vd. (1981) Chemische Berichte, 114:1234-1255.

- 5 Azasitidin, sitidin deaminaz için bir substrattır (bkz., ör., Voytek vd. (1977) Cancer Res., 37:1956-61). *In vivo* olarak sitotoksik etkiler sergilemesi için yüksek konsantrasyonlar veya kesintisiz infüzyonlar gereklidir. Yan etkilere, diğer etkilerin yanı sıra, düşük beyaz ve kırmızı kan hücresi ve trombosit sayısı, bulantı, kusma, yorgunluk, ishal dahildir.

#### **D. HİYALÜRONAN PARÇALAYAN ENZİMLERİN NÜKLEİK ASİTLERİ VE 10 KODLANMIŞ POLİPEPTİDLERİNİ ÜRETME USULLERİ**

Burada verilen bir hiyalüronan parçalayan enzimin, örneğin bir çözünebilir hiyalüronidazın polipeptidleri protein saflaştırma ve rekombinant protein ekspresyonu tekniğinde iyi bilinen usullerle elde edilebilir. Arzu edilen genleri kodlayan nükleik asitlerin belirlenmesi için teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir usul kullanılabilir.

- 15 Bir hücre veya doku kaynağından bir hiyalüronidazı kodlayan bir tam uzunluktaki (yani, tüm kodlayıcı bölgeyi kapsayan) cDNA veya genomik DNA klonu elde etmek için teknikte mevcut olan herhangi bir usul kullanılabilir. Modifiye edilmiş veya varyant çözünebilir hiyalüronidazlar örneğin bölgeye yönelik mutagenезle bir doğal tip polipeptidten elde edilebilir.

- 20 Polipeptidler, nükleik asit moleküllerini klonlama ve izole etme tekniğinde bilinen herhangi bir mevcut usul kullanılarak klonlanabilir veya izole edilebilir. Bu tip usullere nükleik asitlerin PCR amplifikasyonu ve nükleik asit hibridizasyonu tarama, antikor bazlı tarama ve aktivite bazlı tarama dahil kütüphanelerin taranması dahildir.

- 25 Bir arzu edilen polipeptidi kodlayan nükleik asit moleküllerini izole etmek için, örneğin polimeraz zincir tepkimesi (PCR) usulleri dahil, nükleik asit amplifikasyonu usulleri kullanılabilir. Bir nükleik asit içeren malzeme bir arzu edilen polipeptidi kodlayan nükleik asit molekülünün izole edilebildiği bir başlangıç malzemesi olarak kullanılabilir. Örneğin, amplifikasyon usullerinde DNA ve mRNA terkipleri, hücre ekstraktları, doku ekstraktları, sıvı numuneler (ör., kan, serum, tükürük), sağlıklı ve/veya hasta deneklerden  
30 numuneler kullanılabilir. Bir başlangıç malzemesi kaynağı olarak nükleik asit

kütüphaneleri de kullanılabilir. Primerler bir arzu edilen polipeptidin amplifikasyonu için tasarlanabilir. Örneğin, primerler bir arzu edilen polipeptidin oluşturulduğu eksprese edilen dizilere göre tasarlanabilir. Primerler bir polipeptid amino asit dizisinin geri translasyonuna göre tasarlanabilir. Amplifikasyonla oluşturulan nükleik asit  
5 molekülünün dizisi tayin edilebilir ve bir arzu edilen polipeptidi kodlayıp kodlamadıkları teyit edilebilir.

Bir polipeptidi kodlayan nükleik asit molekülüne sentetik geni bir vektöre, örneğin bir protein ekspresyon vektörüne veya çekirdek proteini kodlayan DNA dizilerinin amplifikasyonu için tasarlanmış bir vektöre klonlanması amacıyla sınırlama endonükleaz  
10 bölgeleri içeren birleştirici diziler dahil ek nükleotid dizileri birleştirilebilir. Ayrıca, bir polipeptid-kodlayan nükleik asit molekülüne işlevsel olarak fonksiyonel DNA elemanlarını temsil eden ek nükleotid dizileri bağlanabilir. Bu tip dizilerin örneklerine, sınırlayıcı olmaksızın, hücre içi protein ekspresyonu sağlayacak şekilde tasarlanan destekleyici dizileri ve salgı dizileri, örneğin protein salgısını sağlayacak şekilde  
15 tasarlanan heterolog sinyal dizileri dahildir. Bu tip diziler teknikte uzman kişilerce bilinmektedir. Enzim-kodlayan nükleik asit moleküllerine ayrıca protein bağlayıcı bölgeleri temsil eden baz dizileri gibi ek nükleotid kalıntısı dizileri birleştirilebilir. Bu tip bölgelere, sınırlayıcı olmaksızın, bir enzimin özel hedef hücrelere alınmasını sağlayan veya bir sentetik gen ürününün farmakokinetiklerini değiştiren proteinler sağlayan veya  
20 kodlayan kalıntı dizileri dahildir. Örneğin, enzimler PEG parçalarına birleştirilebilir.

Ek olarak, örneğin, polipeptidin tespiti veya afiniteyle saflaştırılmasına yardımcı olması için, etiketler veya başka parçalar eklenebilir. Örneğin, enzim-kodlayan nükleik asit moleküllerine ayrıca bir epitop etiketi veya bir başka tespit edilen işareti temsil eden baz dizileri gibi ek nükleotid kalıntısı dizileri birleştirilebilir. Bu tip dizilerin örneklerine bir  
25 His etiketi (ör., 6xHis, HHHHHH; DİZİ ID NO:54) veya Flag Etiketi (DYKDDDDK; DİZİ ID NO:55) kodlayan nükleik asit dizileri dahildir.

Belirlenen ve izole edilen nükleik asitler daha sonra uygun bir klonlama vektörüne yerleştirilir. Teknike bilinen çok sayıda vektör-konak sistemi kullanılabilir. Olası vektörlere, sınırlayıcı olmaksızın, plazmidler veya modifiye edilmiş virüsler dahildir,  
30 ancak vektör sistemi kullanılan konak hücreyle uyumlu olmalıdır. Bu tip vektörlere, sınırlayıcı olmaksızın, lamda türevleri gibi bakteriyofajlar veya pCMV4, pBR322 veya

- pUC plazmid türevleri gibi plazmidler veya Bluescript vektörü (Stratagene, La Jolla, CA) dahildir. Diğer ekspresyon vektörlerine burada açıklanan HZ24 ekspresyon vektörü dahildir. Bir klonlama vektörüne yerleştirme, örneğin, DNA fragmanının, tamamlayıcıya birleşik uçlara sahip olan bir klonlama vektörüne bağlanmasıyla gerçekleştirilebilir.
- 5 Yerleştirme TOPO klonlama vektörleri (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak gerçekleştirilebilir. DNA'yı bölmek için kullanılan tamamlayıcı sınırlama bölgeleri klonlama vektöründe mevcut olmadığı takdirde, DNA moleküllerinin uçları enzimatik olarak modifiye edilebilir. Alternatif olarak, nükleotid dizilerinin (birleştiriciler) DNA uçlarına bağlanmasıyla arzu edilen herhangi bir bölge üretilebilir; bu bağlanan
- 10 birleştiriciler sınırlama endonükleaz ayırt etme dizileri kodlayan özel kimyasal olarak sentezlenmiş oligonükleotidler içerebilir. Bir alternatif usulde, bölünen vektör ve protein homopolimerik kuyruklamayla modifiye edilebilir. Rekombinant moleküller konak hücrelere gen dizisinin birçok kopyasının oluşturulacağı şekilde örneğin transformasyon, transfeksiyon, enfeksiyon, elektroporasyon ve sonoporasyon yoluyla uygulanabilir.
- 15 Özel düzenlemelerde, konak hücrelerin izole edilmiş protein geni, cDNA veya sentezlenmiş DNA dizisi içeren rekombinant DNA molekülleriyle transformasyonu genin birden fazla kopyasının oluşturulmasını sağlar. Dolayısıyla, transformasyon ürünlerinin büyütülmesi, transformasyon ürünlerinden rekombinant DNA moleküllerinin izole edilmesi ve gerektiğinde izole edilmiş rekombinant DNA'da yerleştirilmiş genin
- 20 çıkarılmasıyla gen büyük miktarlarda elde edilebilir.

### 1. Vektörler ve hücreler

- Burada açıklanan herhangi bir hiyalüronan parçalayan enzim gibi arzu edilen proteinlerin bir veya daha fazlasının rekombinant ekspresyonu için, proteini kodlayan nükleotid dizisinin tamamını veya bir bölümünü içeren nükleik asit uygun bir ekspresyon
- 25 vektörüne, yani, eklenen protein kodlayıcı dizinin transkripsiyonu ve translasyonu için gerekli elemanları içeren bir vektöre yerleştirilebilir. Gerekli transkripsiyon ve translasyon sinyalleri ayrıca enzim genleri ve/veya bunların yan bölgeleri için doğal destekleyici tarafından sağlanabilir.

Ayrıca enzimi kodlayan nükleik asit içeren vektörler sağlanmaktadır. Ayrıca vektörler içeren hücreler sağlanmaktadır. Hücrelere ökaryotik veya prokaryotik hücreler dahildir ve vektörler burada kullanım için her türlü uygun vektörlerdir.

5 Vektörleri içeren endotelial hücreler dahil prokaryotik ve ökaryotik hücreler sağlanmaktadır. Bu tip hücrelere bakteri hücreleri, maya hücreleri, mantar hücreleri, Arkeler, bitki hücreleri, böcek hücreleri ve hayvan hücreleri dahildir. Hücreler, proteinin hücre tarafından eksprese edileceği koşullar altında yukarıda bahsedilen hücrelerin büyütülmesi ve eksprese edilen proteinin toplanmasıyla bir proteini üretmek için kullanılır. Buradaki amaçlar doğrultusunda, örneğin enzim ortam içine salgılanabilir.

10 Hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidini, bazı örneklerde bir çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidini kodlayan, nükleotidlerin bir dizisinin yanı sıra bunun birden fazla kopyasını içeren doğal veya heterolog sinyal dizisine birleştirilmiş vektörler sağlanmaktadır. Vektörler enzim proteininin hücrede ekspresyonu için veya enzim proteininin bir salgılanmış protein olarak eksprese edileceği şekilde seçilebilir.

15 Polipeptidi kodlayan diziyi eksprese etmek için çeşitli konak-vektör sistemi kullanılabilir. Bunlara, sınırlayıcı olmaksızın, virüsle (ör., vaksinia virüsü, adenovirüs ve başka virüsler) enfekte edilmiş memeli hücresi sistemleri; virüsle (ör., baculovirüs) enfekte edilmiş böcek hücresi sistemleri; maya vektörleri içeren maya gibi mikroorganizmalar; veya bakteriyofaj, DNA, plazmid DNA veya kozmid DNA ile transforme edilmiş bakteriler  
20 dahildir. Vektörlerin ekspresyon elemanlarının kuvvetleri ve özgünlükleri değişir. Kullanılan konak-vektör sistemine bağlı olarak, çeşitli sayıdaki transkripsiyon ve translasyon elemanlarının herhangi biri kullanılabilir.

Uygun transkripsiyon/translasyon kontrol sinyalleri ve protein kodlayan diziler içeren bir kimerik gen içeren ekspresyon vektörleri yapmak için, bir vektöre DNA fragmanlarının  
25 eklenmesine yönelik teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir usul kullanılabilir. Bu usullere *in vitro* rekombinant DNA ve sentetik teknikler ve *in vivo* rekombinantlar (genetik rekombinasyon) dahildir. Protein veya bunun alanlarını, türevlerini, fragmanlarını veya homologlarını kodlayan nükleik asit dizilerinin ekspresyonu genlerin veya bunların fragmanlarının rekombinant DNA molekülü/molekülleriyle transforme  
30 edilmiş bir konakta eksprese edileceği şekilde bir ikinci nükleik asit dizisi tarafından düzenlenebilir. Örneğin, proteinlerin ekspresyonu teknikte bilinen herhangi bir



destekleyici/geliştirici ile kontrol edilebilir. Özel bir düzenlemede, destekleyici bir arzu edilen proteinin genleri için doğal değildir. Kullanılabilen destekleyicilere, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: SV40 erken destekleyicisi (Bernoist ve Chambon, Nature 290:304-310 (1981)), Rous sarkom virüsünün 3' uzun uç tekrarında yer alan destekleyici

5 (Yamamoto vd., Cell 22:787-797 (1980)), herpes timidin kinaz destekleyicisi (Wagner vd., Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 78:1441-1445 (1981)), metalotionein geninin düzenleyici dizileri (Brinster vd., Nature 296:39-42 (1982)); prokaryotik ekspresyon vektörleri, örneğin  $\beta$ -laktamaz destekleyicisi (Jay vd., (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 78:5543) veya *tac* destekleyicisi (DeBoer vd., Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 80:21-25 (1983)); bkz.,

10 ayrıca "Useful Proteins from Recombinant Bacteria", Scientific American 242:79-94 (1980)); nopalin sentetaz destekleyicisini içeren bitki ekspresyon vektörleri (Herrera-Estrella vd., Nature 303:209-213 (1983)) veya karnabahar mozaik virüsü 35S RNA destekleyicisi (Gardner vd., Nucleic Acids Res. 9:2871 (1981)) ve fotosentez enzimi ribuloz bisfosfat karboksilazdaki destekleyici (Herrera-Estrella vd., Nature 310:115-120

15 (1984)); maya ve diğer mantarlardan destekleyici elemanlar, örneğin Gal4 destekleyicisi, alkol dehidrojenaz destekleyicisi, fosfoglisero kinaz destekleyicisi, alkalın fosfataz destekleyicisi ve müteakiben verilen doku özgünlüğü sergileyen ve transgenik hayvanlarda kullanılan hayvan transkripsiyon kontrol bölgeleri: pankreas asiner hücrelerinde aktif olan elastaz I geni kontrol bölgesi (Swift vd., Cell 38:639-646 (1984);

20 Ornitz vd., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409 (1986); MacDonald, Hepatology 7:425-515 (1987)); pankreas beta hücrelerinde aktif olan insülin geni kontrol bölgesi (Hanahan vd., Nature 315:115-122 (1985)), lenfoid hücrelerinde aktif olan immünoglobülin geni kontrol bölgesi (Grosschedl vd., Cell 38:647-658 (1984); Adams vd., Nature 318:533-538 (1985); Alexander vd., Mol. Cell Biol. 7:1436-1444 (1987)),

25 testis, meme, lenfoid ve mast hücrelerinde aktif olan fare meme tümörü virüsü kontrol bölgesi (Leder vd., Cell 45:485-495 (1986)), karaciğerde aktif olan albümin geni kontrol bölgesi (Pinkert vd., Genes and Devel. 1:268-276 (1987)), karaciğerde aktif olan alfa-fetoprotein geni kontrol bölgesi (Krumlauf vd., Mol. Cell. Biol. 5:1639-1648 (1985); Hammer vd., Science 235:53-58 (1987)), karaciğerde aktif olan alfa-1 antitripsin geni

30 kontrol bölgesi (Kelsey vd., Genes and Devel. 1:161-171 (1987)), miyeloid hücrelerinde aktif olan beta globin geni kontrol bölgesi (Magram vd., Nature 315:338-340 (1985); Kollias vd., Cell 46:89-94 (1986)), beyindeki oligodendrosit hücrelerinde aktif olan

miyelin bazik proteini geni kontrol bölgesi (Readhead vd., Cell 48:703-712 (1987)), iskelet kasında aktif olan miyozin hafif zinciri-2 geni kontrol bölgesi (Shani, Nature 314:283-286 (1985)) ve hipotalamustaki gonadotroplarda aktif olan gonadotrofik serbest bırakan hormon geni kontrol bölgesi (Mason vd., Science 234:1372-1378 (1986)).

- 5 Özel bir düzenlemede, bir arzu edilen protein veya bunun bir alanı, fragmanı, türevi veya homologunu kodlayan nükleik asitlere işlevsel olarak bağlı bir destekleyici, bir veya daha fazla kopya orijinali ve isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla seçilebilir işaret (ör., bir antibiyotik direnci geni) içeren bir vektör kullanılır. *E.coli* hücrelerinin transformasyonu için örnek plazmid vektörlerine, örneğin, pQE ekspresyon vektörleri (Qiagen, Valencia,
- 10 CA'dan temin edilebilir; bkz., ayrıca sistemi açıklayan Qiagen tarafından yayınlanmış literatür) dahildir. pQE vektörleri rekombinant proteinlerin *E. coli*'de sıkı bir şekilde düzenlenen, yüksek seviyeli ekspresyonunu sağlamak için bir faj T5 destekleyicisi (*E. coli* RNA polimerazı tarafından ayırt edilir) ve bir ikili lac operatör baskılama modülü, verimli translasyon için bir sentetik ribozom bağlama bölgesi (RBS II), bir 6XHis etiketi
- 15 kodlama dizisi,  $t_0$  ve T1 transkripsiyon sonlandırıcıları, ColE1 kopya orijinali ve ampisilin direnci kazandırmak için bir beta-laktamaz geni içerir. pQE vektörleri rekombinant proteinin N- veya C-ucuna bir 6xHis etiketinin yerleştirilmesini sağlar. Bu tip plazmidlere üç okuma çerçevesinin tümü için birden fazla klonlama bölgesi sağlayan ve N-ucu 6xHis etiketli proteinlerin ekspresyonunu sağlayan pQE 32, pQE 30 ve pQE 31
- 20 dahildir. *E.coli* hücrelerinin transformasyonu için diğer örnek plazmid vektörlerine, örneğin, pET ekspresyon vektörleri dahildir (bkz., ABD patenti 4,952,496; NOVAGEN, Madison, WI'dan temin edilebilir; bkz., ayrıca sistemi açıklayan Novagen tarafından yayınlanmış literatür). Bu tip plazmidlere T7lac destekleyicisi, T7 sonlandırıcısı, tetiklenebilen *E. coli* lac operatörü ve lac baskılama geni içeren pET 11a; T7
- 25 destekleyicisi, T7 sonlandırıcısı ve *E. coli* ompT salgı sinyali içeren pET 12a-c; ve bir His kolonu ile saflaştırmada kullanım için bir His-Tag™ öncü dizisi ve kolon üzerinde saflaştırmadan sonra bölünmeye izin veren bir trombin bölme bölgesi, T7-lac destekleyici bölgesi ve T7 sonlandırıcısı içeren pET 15b ve pET19b (Novagen, Madison, WI) dahildir.
- Memeli hücresi ekspresyonu için örnek bir vektör, HZ24 ekspresyon vektörüdür. HZ24
- 30 ekspresyon vektörü, pCI vektör omurgasından türetilmiştir (Promega). Bu, Beta-laktamaz direnci geni (AmpR) kodlayan DNA, bir F1 kopya orijinali, bir Sitomegalovirüs ani-

erken geliştirici/destekleyici bölgesi (CMV) ve bir SV40 geç poliadenilasyon sinyali (SV40) içerir. Ekspresyon vektörü ayrıca ECMV virüsünden (Clontech) bir dahili ribozom giriş bölgesine (IRES) ve fare dihidrofolat redüktaz (DHFR) genine sahiptir.

## 2. Ekspresyon

5 Çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidleri dahil hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidleri *in vivo* ve *in vitro* usuller dahil teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir usulle üretilebilir. Arzu edilen proteinler örneğin uygulama ve tedavi için gereken proteinlerin gerekli miktarlarını ve formlarını üretmek için uygun herhangi bir organizmada eksprese edilebilir. Ekspresyon konaklarına *E. coli*, maya, bitkiler, böcek  
10 hücreleri, insan hücresi hatları ve transgenik memeliler dahil memeli hücreleri gibi prokaryotik ve ökaryotik organizmalar dahildir. Ekspresyon konakları protein üretim seviyelerinin yanı sıra eksprese edilmiş proteinler üzerinde mevcut olan translasyon sonrası modifikasyonların tipleri bakımında farklı olabilir. Ekspresyon konağı seçimi bu ve yasal ve güvenlik hususları, üretim maliyetleri ve saflaştırma ihtiyacı ve usulleri gibi  
15 başka faktörlere göre yapılabilir.

Proteinlerin ekspresyonu için birçok ekspresyon vektörü mevcuttur ve teknikte uzman kişilerce bilinmektedir. Ekspresyon vektörü seçimi konak ekspresyon sistemi seçimine bağlıdır. Genel olarak, ekspresyon vektörleri transkripsiyon destekleyicileri ve isteğe bağlı olarak geliştiriciler, translasyon sinyalleri ve transkripsiyon ve translasyon  
20 sonlandırma sinyalleri içerebilir. Stabil transformasyon için kullanılan ekspresyon vektörleri transforme edilmiş hücrelerin seçimi ve idamesine olanak sağlayan bir seçilebilir işarete sahiptir. Bazı durumlarda, vektörün kopya sayısını çoğaltmak için bir kopya orijinali kullanılabilir.

Hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidleri ayrıca  
25 protein füzyonları olarak kullanılabilir veya eksprese edilebilir. Örneğin, bir enzime ek fonksiyonellik kazandırmak için bir enzim füzyonu oluşturulabilir. Enzim füzyon proteinlerinin örneklerine, sınırlayıcı olmaksızın, bir sinyal dizisi, örneğin lokalizasyonu için bir etiket, ör., bir his<sub>6</sub> etiketi veya bir myc etiketi veya bir saflaştırma etiketinin füzyonları, örneğin bir GST füzyonu ve protein salgılanmasını ve/veya membrana  
30 bağlanmasını yönlendirmek için bir dizinin füzyonları dahildir.

### a. Prokaryotik Hücreler

Prokaryotlar, özellikle *E. coli*, büyük miktarda proteinin üretilmesi için bir sistem sağlar. *E. coli* transformasyonu teknikte uzman kişilerce iyi bilinen basit ve hızlı bir tekniktir. *E. coli* için ekspresyon vektörleri tetiklenebilir destekleyiciler içerebilir, bu destekleyiciler

5 yüksek seviyelerde protein ekspresyonu tetiklemek için ve konak hücreler için bir miktar toksik olan proteinleri eksprese etmek için uygundur. Tetiklenebilen destekleyicilerin örneklerine lac destekleyicisi, trp destekleyicisi, hibrit tac destekleyicisi, T7 ve SP6 RNA destekleyicileri ve sıcaklıkla düzenlenen  $\lambda$ PL destekleyicisi dahildir.

Proteinler, örneğin burada sağlananların herhangi biri, *E. coli*'nin sitoplazmik ortamında

10 eksprese edilebilir. Sitoplazma bir indirgeyici ortamdır ve bazı moleküller için bu çözünmeyen inklüzyon cisimciklerinin oluşmasına yol açabilir. Proteinleri tekrar çözündürmek için indirgeyici maddeler, ditiotreitol ve  $\beta$ -merkaptoetanol ve denatüre ediciler, ör., guanidin-HCl ve üre kullanılabilir. Bir alternatif yaklaşım, bir oksitleyici ortam ve şaperonin benzeri ve disülfid izomerazları sağlayan ve çözünebilir protein

15 üretimi sağlayabilen bakterilerin periplazmik boşluğunda proteinlerin ekspresyonudur. Tipik olarak, eksprese edilecek proteine proteini periplazmaya yönlendiren bir öncü dizi birleştirilir. Öncü daha sonra periplazma içinde sinyal peptidazları tarafından uzaklaştırılır. Örnek periplazmaya yönlendirici öncü dizilere pektat liyaz geninden pelB öncüsü ve alkalın fosfataz geninden türetilen öncü dahildir. Bazı durumlarda, periplazmik

20 ekspresyon eksprese edilen proteinin kültür ortamına sızmasına olanak sağlar. Proteinlerin salgılanması kültür üstte kalan fazından hızlı ve basit saflaştırmaya olanak sağlar. Salgılanmayan proteinler ozmotik lizis ile periplazmadan elde edilebilir. Sitoplazmada ekspresyona benzer şekilde, bazı durumlarda, proteinler çözünmez hale gelebilir ve çözündürme ve tekrar katlamaya yardımcı olmak için denatüre ediciler ve

25 indirgeyici maddeler kullanılabilir. Tetikleme ve büyüme sıcaklığı da ekspresyon seviyelerini ve çözünebilirliği etkileyebilir, tipik olarak 25°C ila 37°C arasındaki sıcaklıklar kullanılır. Tipik olarak, bakteriler glikosillenmiş proteinler üretir. Dolayısıyla, görev yapmak için proteinler glikosilasyon gerektirdiği takdirde, glikosilasyon konak hücrelerden saflaştırmadan sonra *in vitro* olarak eklenebilir.

### b. Maya Hücreleri

*Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis* ve *Pichia pastoris* gibi mayalar burada açıklananlar gibi proteinlerin üretimi için kullanılabilen iyi bilinen maya ekspresyon konaklarıdır. Maya epizomal kopyalama vektörleri ile veya homolog rekombinasyonla stabil kromozom entegrasyonu ile transforme edilebilir. Tipik olarak, tetiklenebilen destekleyiciler gen ekspresyonunu düzenlemek için kullanılır. Bu tip destekleyicilerin örneklerine GAL1, GAL7 ve GAL5 ve metalotionein destekleyicileri, örneğin CUP1, AOX1 veya diğer *Pichia* veya diğer maya destekleyicileri dahildir. Ekspresyon vektörleri genellikle transforme edilen DNA'nın seçimi ve idamesi için LEU2, TRP1, HIS3 ve URA3 gibi bir seçilebilir işaret içerir. Mayada eksprese edilen proteinler çoğunlukla çözünebilir. Bip ve protein disülfid izomerazı gibi şaperonlarla birlikte ekspresyon, ekspresyon seviyelerini ve çözünürlüğü geliştirebilir. Ek olarak, mayada eksprese edilen proteinler *Saccharomyces cerevisiae*'den maya eşleştirme tipi alfa-faktörü salgılama sinyali gibi salgılama sinyali peptid füzyonları ve Aga2p eşleştirme yapışma reseptörü veya *Arxula adenivorans* glükoamilaz gibi maya hücresi yüzeyi proteinleri ile füzyonlar kullanılarak salgılama için yönlendirilebilir. Bir proteaz bölme bölgesi, örneğin, Kex-2 proteaz, salgı sürecinden çıktıkça birleştirilmiş dizileri eksprese edilmiş polipeptidlerden ayırmak için işlenebilir. Maya ayrıca Asn-X-Ser/Thr motiflerinde glikosillenebilir.

### 20 c. Böcek Hücreleri

Böcek hücreleri, özellikle bir baculovirüs ekspresyonu kullanıldığında, hiyaluronidaz polipeptidleri gibi polipeptidleri eksprese etmek için uygundur. Böcek hücreleri yüksek seviyelerde protein eksprese edebilir ve daha büyük ökaryotlar tarafından kullanılan translasyon sonrası modifikasyonların çoğunu yapabilir. Baculovirüs güvenliği arttıran ve ökaryotik ekspresyonla ilişkili yasal hususları azaltan bir sınırlayıcı konak aralığına sahiptir. Tipik ekspresyon vektörleri baculovirüs polihedrin destekleyicisi gibi yüksek seviyede ekspresyon için bir destekleyici kullanılır. Yaygın olarak kullanılan baculovirüs sistemlerine *Autographa californica* çekirdek polihedroz virüsü (AcNPV) ve *Bombyx mori* çekirdek polihedroz virüsü (BmNPV) gibi baculovirüsler ve *Spodoptera frugiperda*, *Pseudaletia unipuncta* (A7S) ve *Danaus plexippus*'tan (DpN1) türetilen Sf9 gibi bir böcek hücresi hattı dahildir. Yüksek seviyede ekspresyon için, eksprese edilecek olan

molekülün nükleotid dizisi virüsün polihedrin başlatma kodonunun hemen devamına birleştirilir. Memeli salgılama sinyalleri böcek hücrelerinde tam olarak işlenir ve eksprese edilen proteinin kültür ortamına salgılanması için kullanılabilir. Ek olarak, lines *Pseudaletia unipuncta* (A7S) ve *Danaus plexippus* (DpN1) hücre hatları memeli hücreleri sistemlerine benzer glikosilasyon düzenleri olan proteinler üretir.

Böcek hücrelerindeki bir alternatif ekspresyon sisteminde stabil bir şekilde transforme edilmiş hücreler kullanılır. Ekspresyon için Schneider 2 (S2) ve Kc hücreleri (*Drosophila melanogaster*) ve C7 hücreleri (*Aedes albopictus*) gibi hücre hatları kullanılabilir. *Drosophila* metalotionein destekleyicisi kadmiyum veya bakır ile ağır metal tetiklemesi varlığında yüksek ekspresyon seviyeleri tetiklemek için kullanılabilir. Ekspresyon vektörleri tipik olarak neomisin ve higromisin gibi seçilebilir işaretler kullanılarak idame ettirilir.

#### **d. Memeli Hücreleri**

Memeli ekspresyon sistemleri çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidleri gibi hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidlerini kapsayan proteinleri eksprese etmek için kullanılabilir. Ekspresyon yapıları memeli hücrelerine adenovirüs gibi viral enfeksiyonla veya lipozomlar, kalsiyum fosfat, DEAE-dekstran gibi doğrudan DNA transferi ile ve elektroporasyon ve mikroenjeksiyon gibi fiziksel yollarla transfer edilebilir. Memeli hücreleri için ekspresyon vektörleri tipik olarak bir mRNA kapama bölgesi, bir TATA kutusu, bir translasyon başlatma dizisi (Kozak uyum dizisi) ve poliadenilasyon elemanları içerir. Bir seçilebilir işaret gibi bir başka genle bisistronik ekspresyon sağlamak için IRES elemanları da eklenebilir. Bu tip vektörler genellikle yüksek seviyede ekspresyon için transkripsiyon destekleyici-geliştiricileri, örneğin SV40 destekleyici-geliştiricisi, insan sitomegalovirüs (CVM) destekleyicisi ve Raus sarkom virüsünün (RSV) uzun uç tekrarını içerir. Bu destekleyici-geliştiriciler birçok hücre tipinde aktiftir. Ekspresyon için doku ve hücre tipi destekleyicileri ve geliştirici bölgeleri de kullanılabilir. Örnek destekleyici/geliştirici bölgelerine, sınırlayıcı olmaksızın, elastaz I, insülin, immüoglobülin, fare meme tümörü virüsü, albümin, alfa fetoprotein, alfa 1 antitripsin, beta-globin, miyelin bazik proteini, miyozin hafif zinciri 2 ve gonadotropik serbest bırakma hormonu gen kontrolü gibi genlerdeki dahildir. Ekspresyon yapısı içeren hücreleri seçmek ve idame ettirmek için seçilebilir işaretler kullanılabilir. Seçilebilir

işaret genlerinin örneklerine, sınırlayıcı olmaksızın, higromisin B fosfotransferaz, adenosin deaminaz, ksantin-guanin fosforibosil transferaz, aminoglikosid fosfotransferaz, dihidrofolat reduktaz (DHFR) ve timidin kinaz dahildir. Örneğin, ekspresyon sadece DHFR genini eksprese eden hücreleri seçmek için metotreksat  
5 varlığında gerçekleştirilebilir. TCR- $\zeta$  ve Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$  gibi hücre yüzeyi sinyal molekülleri ile füzyon hücre yüzeyi üzerinde bir aktif durumda proteinlerin ekspresyonunu yönlendirebilir.

Memeli ekspresyonu için fare, sıçan, insan, maymun, tavuk ve hamster hücreleri dahil, birçok hücre hattı mevcuttur. Örnek hücre hatlarına, sınırlayıcı olmaksızın, CHO,  
10 Balb/3T3, HeLa, MT2, fare NS0 (salgılamayan) ve diğer miyelom hücresi hatları, hibridom ve heterohibridom hücresi hatları, lenfositler, fibroblastlar, Sp2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 2B8 ve HKB hücreleri dahildir. Salgılanan proteinlerin hücre kültürü ortamlarından saflaştırılmasını kolaylaştıran serumsuz ortamlara uyarlanmış hücre hatları da mevcuttur. Örneklere CHO-S hücreleri (Invitrogen, Carlsbad, CA, kat  
15 no. 11619-012) ve serumsuz EBNA-1 hücresi hattı (Pham vd., (2003) Biotechnol. Bioeng. 84:332-342) dahildir. Maksimum ekspresyon için optimize edilmiş özel ortamlarda büyüyecek şekilde uyarlanan hücre hatları da mevcuttur. Örneğin, DG44 CHO hücreleri kimyasal olarak hazırlanmış hayvan ürünü içermeyen bir ortam içinde süspansiyon kültürü içinde büyüyecek şekilde uyarlanmıştır.

#### 20 e. Bitkiler

Transgenik bitki hücreleri ve bitkiler burada açıklananlar gibi proteinleri eksprese etmek için kullanılabilir. Ekspresyon yapıları bitkilere tipik olarak mikro-mermi bombardımanı ve PEG-aracılığıyla protoplastlara transfer gibi doğrudan DNA transferi ve agrobakteri aracılığıyla transformasyonla transfer edilir. Ekspresyon vektörleri destekleyici ve  
25 geliştirici dizileri, transkripsiyon sonlandırma elemanları ve translasyon kontrol elemanları içerebilir. Ekspresyon vektörleri ve transformasyon teknikleri genellikle *Arabidopsis* ve tütün gibi çift çenekli konaklar ve mısır ve pirinç gibi tek çenekli konaklar halinde bölünür. Ekspresyon için kullanılan bitki destekleyicilerinin örneklerine karnabahar mozaik virüsü destekleyicisi, nopalin sentetaz destekleyicisi, riboz bifosfat  
30 karboksilaz destekleyici ve ubiquitin UBQ3 destekleyicileri dahildir. Transforme edilmiş hücrelerin seçimi ve idame ettirilmesi için, higromisin, fosfomanoz izomeraz ve neomisin

fosfotransferaz gibi seçilebilir işaretler kullanılır. Transforme edilmiş bitki hücreleri kültür içinde hücreler, agregalar (kalus dokusu) olarak idame ettirilebilir veya tam bitkiler halinde yenilenebilir. Transgenik bitki hücrelerine ayrıca hiyalüronidaz polipeptidlerini üretecek şekilde işlenmiş suyosunları dahildir. Bitkiler memeli hücrelerinden farklı  
5 glikosilasyon düzenlerine sahip olduğundan, bu durum bu konaklarda üretilen protein seçimini etkileyebilir.

### 3. Saflaştırma Teknikleri

Konak hücrelerden hiyalüronan parçalayan enzim polipeptidleri (ör., çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidleri) veya diğer proteinler dahil polipeptidlerin saflaştırılmasına  
10 yönelik usul seçilen konak hücrelere ve ekspresyon sistemlerine bağlıdır. Salgılanan moleküller için, proteinler genellikle hücreler uzaklaştırıldıktan sonra kültür ortamlarından saflaştırılır. Hücre-içi ekspresyon için, hücreler parçalanabilir ve proteinler ekstraktan saflaştırılabilir. Ekspresyon için transgenik bitkiler ve hayvanlar gibi transgenik organizmalar kullanıldığında, bir parçalanmış hücre ekstraktı yapmak için  
15 başlangıç malzemesi olarak dokular veya organlar kullanılabilir. Ek olarak, transgenik hayvan üretimi polipeptidlerin toplanabilen süt veya yumurtalarda üretilmesini içerebilir ve gerektiği takdirde proteinler teknikteki standart usuller kullanılarak ekstrakte edilebilir ve ayrıca saflaştırılabilir.

Çözünebilen hiyalüronidaz polipeptidleri gibi proteinler, sınırlayıcı olmaksızın, SDS-  
20 PAGE, boyut tasnifi ve boyut ayırma kromatografisi, amonyum sülfat çöktürme ve iyon değiştirme kromatografisi, örneğin anyon değiştirme kromatografisi dahil, teknikte bilinen standart protein saflaştırma teknikleri kullanılarak saflaştırılabilir. Terkiplerin etkinliğini ve saflığını geliştirmek için afinite saflaştırma teknikleri de kullanılabilir. Örneğin, afinite saflaştırmasında hiyalüronidaz enzimlerine bağlanan antikorlar, reseptörler ve diğer moleküller kullanılabilir. Ekspresyon yapıları ayrıca bir proteine bir  
25 myc epitopu, GST füzyonu veya His<sub>6</sub> gibi bir afinite etiketi ekleneceği ve sırasıyla myc antikor, glutatyon reçinesi ve Ni-reçinesi ile afiniteyle saflaştırılacağı şekilde işlenebilir. Saflık, jel elektroforezi ve boyama ve spektrofotometrik teknikler dahil, teknikte bilinen herhangi bir usulle değerlendirilebilir. Burada sağlanan saflaştırılmış rHuPH20  
30 bileşimlerinin özgül aktivitesi tipik olarak en az 70,000 ila 100,000 Birim/mg, örneğin,



yaklaşık 120,000 Birim/mg'dir. Özgül aktivite modifikasyonla, örneğin bir polimerle modifikasyonla değişebilir.

#### 4. Hiyalüronan Parçalayan Enzim Polipeptidlerinin PEG'lenmesi

Başlıca olarak polietilen glikol (PEG) biyo-uyumlu, toksik olmayan, suda çözünebilen, tipik olarak immünojenik olmayan bir polimer olduğundan, PEG biyo-malzemelerde, biyoteknolojide ve tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhao ve Harris, ACS Symposium Series 680: 458-72, 1997). İlaç iletimi alanında, PEG türevleri yaygın olarak immünojenisiteyi, proteolizi ve böbreklerle vücuttan temizlenmeyi azaltmak ve çözünürlüğü arttırmak için proteinlere kovalent bağlanarak (yani "PEG'leme") kullanılmaktadır (Zalipsky, Adv. Drug Del. Rev. 16:157-82, 1995). Benzer şekilde, çözünürlüğü arttırmak, toksisiteyi azaltmak ve biyo-dağılımı değiştirmek için PEG düşük molekül ağırlıklı, nispeten hidrofobik ilaçlara bağlanmaktadır. Tipik olarak, PEG'lenmiş ilaçlar çözeltiler olarak enjekte edilir.

Yakından ilişkili bir uygulama, parçalanabilen, çözünebilen ilaç taşıyıcılarının tasarımında kullanılanla büyük ölçüde aynı kimya parçalanabilen jellerin tasarımında da kullanılabilmişinden, ilaç iletiminde kullanılmak üzere çapraz bağlanmış PEG ağları veya formülasyonlarının sentezidir (Sawhney vd., Macromolecules 26: 581-87, 1993). Ayrıca iki tamamlayıcı polimerin çözeltilerinin karıştırılmasıyla makromoleküller arası kompleksler oluşturulabildiği bilinmektedir. Bu tip kompleksler genel olarak ilgili polimerler arasındaki elektrostatik etkileşimlerle (polianyon-polikasyon) ve/veya hidrojen bağlarıyla (poliasit-polibaz) ve/veya bir sulu çevre içinde polimerler arasındaki hidrofobik etkileşimlerle stabilize edilir (Krupers vd., Eur. Polym J. 32:785-790, 1996). Örneğin, poliakrilik asit (PAAc) ve polietilen oksit (PEO) çözeltilerinin uygun koşullar altında karıştırılması büyük ölçüde hidrojen bağlanmasına dayanan komplekslerin oluşmasını sağlar. Fizyolojik koşullarda bu komplekslerin ayrılması serbest ilaçların (yani, PEG'lenmemiş) iletimi için kullanılmaktadır. Ek olarak, hem homopolimerler ve hem de kopolimerlerden tamamlayıcı polimerlerin kompleksleri oluşturulmaktadır.

PEG'leme için çeşitli tepkime maddeleri teknikte açıklanmaktadır. Bu tip tepkime maddelerine, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: N-hidroksisüksinimidil (NHS) aktifleştirilmiş PEG, süksinimidil mPEG, mPEG<sub>2</sub>-N-hidroksisüksinimid, mPEG

süksinimidil alfa-metilbütanoat, mPEG süksinimidil propionat, mPEG süksinimidil bütanoat, mPEG karboksimetil 3-hidroksibütanoik asit süksinimidil ester, homobifonksiyonel PEG-süksinimidil propionat, homobifonksiyonel PEG propionaldehit, homobifonksiyonel PEG bütiraldehit, PEG maleimid, PEG hidrazid, p-  
 5 nitrofenil-karbonat PEG, mPEG-benzotriazol karbonat, propionaldehit PEG, mPEG bütiraldehit, dallanmış mPEG<sub>2</sub> bütiraldehit, mPEG asetil, mPEG piperidon, mPEG metilketon, mPEG "birleştiricisiz" maleimid, mPEG vinil sülfon, mPEG tiol, mPEG ortopiridiltioester, mPEG ortopiridil disülfid, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, vinilsülfon PEG-NHS, akrilat PEG-NHS, floresein PEG-NHS ve biyotin PEG-NHS  
 10 (bkz., ör., Monfardini vd., *Bioconjugate Chem.* 6:62-69, 1995; Veronese vd., *J. Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,324, 844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990, 237; U.S. 6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S. 6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US  
 20 2004/0235734; WO0500360; U.S. 2005/0114037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 1064951; EP 0822199; WO 01076640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; ve WO 0187925).

Bir örnekte, polietilen glikol yaklaşık 3 kD ila yaklaşık 50 kD ve tipik olarak yaklaşık 5 kD ila yaklaşık 30 kD arasında değişen bir molekül ağırlığına sahiptir. PEG'in ilaca  
 25 kovalent bağlanması ("PEG'leme" olarak bilinmektedir) bilinen kimyasal sentez teknikleriyle gerçekleştirilebilir. Örneğin, proteinin PEG'lenmesi NHS-aktifleştirilmiş PEG'in proteinle uygun tepkime koşulları altında tepkimeye sokulmasıyla gerçekleştirilebilir.

PEG'leme için çeşitli tepkimeler açıklanmış olmasına rağmen, en genel olarak  
 30 uygulanabilenler yönlülük kazandırır, hafif tepkime koşulları kullanır ve toksik katalizörleri veya yan ürünleri uzaklaştırmak için müteakiben aşırı işlemler gerektirmez.

Örneğin, monometoksi PEG (mPEG) sadece bir reaktif uç hidroksile sahiptir ve dolayısıyla bunun kullanımı elde edilen PEG-protein ürünü karışımının heterojenliğini bir miktar sınırlar. Türetilen PEG'nin nükleofilik saldırıya daha duyarlı hale gelmesini sağlamak amacıyla, etkili protein PEG'lemesi elde etmek için, polimerin uç metoksi grubunun karşısındaki ucundaki hidroksil grubunun aktifleşmesi genel olarak gereklidir. Saldıran nükleofil genellikle bir lizil kalıntısının epsilon-amino grubudur, ancak lokal koşullar elverişli olduğu takdirde başka aminler de (ör., histidindeki N-ucu alfa-amini veya halka aminleri) tepkimeye girebilir. Tek bir lizin veya sistein kalıntısı içeren proteinlerde daha yönlendirilmiş bir bağlantı mümkündür. Son belirtilen kalıntı tirole özel modifikasyon için PEG-maleimid ile hedef alınabilir. Alternatif olarak, PEG hidrazid periyodatla oksitlenmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim ile tepkimeye sokulabilir ve NaCNBH<sub>3</sub> varlığında indirgenebilir. Özellikle, PEG'lenmiş CMP şekerleri uygun glikosil-transferazlar varlığında bir hiyalüronan parçalayan enzim ile tepkimeye sokulabilir. Bir teknik, çeşitli sayıdaki polimerik molekülün söz konusu polipeptide bağlandığı "PEG'leme" tekniğidir. Bu teknik kullanıldığında, bağışıklık sistemi polipeptidin yüzeyi üzerindeki antikorların oluşmasından sorumlu olan epitoplara ayırt etmede zorluk yaşar, böylece bağışıklık tepkisi azaltılır. Belirli bir fizyolojik etki elde etmek için insan vücudunun dolaşım sistemine doğrudan uygulanan polipeptidler için (yani farmasötik maddeler), tipik potansiyel bağışıklık tepkisi bir IgG ve/veya IgM tepkisiyken, solunum sistemi aracılığıyla ciğerlere çekilen polipeptidler (yani endüstriyel polipeptid) potansiyel olarak bir IgE tepkisine (yani alerjik tepki) neden olabilir. Azalan bağışıklık tepkisini açıklayan teorilerden biri polimerik molekül(ler)in polipeptidin yüzeyi üzerindeki antikor oluşmasına yol açan bağışıklık tepkisinden sorumlu olan epitop(lar)a siper olmasıdır. Bir başka teori veya en azından bir kısmi faktör, konjüge ne kadar ağırsa, oluşan bağışıklık tepkisinin o kadar az olmasıdır.

Tipik olarak, PEG'lenmiş hiyalüronidazlar dahil burada sağlanan PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimleri yapmak için, PEG parçaları polipeptidlere kovalent birleştirme aracılığıyla konjüge edilir. PEG'leme tekniklerine, sınırlayıcı olmaksızın, özel birleştiriciler ve bağlama kimyaları (bkz., ör., Roberts vd., Adv. Drug Deliv. Rev. 54:459-476, 2002), birden fazla PEG parçasının tek bir konjügasyon bölgesine bağlanması (örneğin, dallanmış PEG'ler kullanılarak; bkz., ör., Guiotto vd., Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:177-180, 2002), bölgeye özel PEG'leme ve/veya mono-PEG'leme (bkz., ör., Chapman

vd., Nature Biotech. 17:780-783, 1999) ve bölgeye yönelik enzimsel PEG'leme (bkz., ör., Sato, Adv. Drug Deliv. Rev., 54:487-504, 2002) dahildir. Teknikte açıklanan usuller ve teknikler tek bir protein molekülüne bağlı 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 veya 10'dan fazla PEG veya PEG türevine sahip olan proteinler üretebilir (bkz., ör., U.S. 2006/0104968).

- 5 Bir PEG'leme örneği olarak, PEG'lenmiş hiyalüronidazlar gibi PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimlerin yapımına yönelik bir örnek usulde, PEG parçalarını, tipik olarak sülfonimidil PEG'leri, rHuPH20'ye konjüğe etmek için PEG aldehitler, süksinimidler ve karbonatların her biri uygulanmaktadır. Örneğin, rHuPH20 müteakiben verilenler dahil örnek süksinimidil monoPEG (mPEG) maddeleriyle konjüğe edilmiştir: mPEG-  
10 Süksinimidil Propionatlar (mPEG-SPA), mPEG-Süksinimidil Bütanoatlar (mPEG-SBA) ve ("dallanmış" PEG'leri bağlamak için) mPEG2-N-Hidroksilsüksinimid. Bu PEG'lenmiş süksinimidil esterler PEG grubu ve aktifleştirilmiş çapraz bağlayıcı arasında farklı uzunlukta karbon omurgaları ve bir tekli veya dallanmış PEG grubu içerir. Bu farklar, örneğin, farklı tepkime kinetikleri sağlamak ve potansiyel olarak konjügasyon işlemi  
15 sırasında rHuPH20'ye PEG bağlanması için kullanılabilen bölgeleri sınırlamak için kullanılabilir.

Doğrusal veya dallanmış PEG'ler içeren süksinimidil PEG'ler (yukarıdaki gibi) rHuPH20'ye konjüğe edilebilir. PEG'ler hiyalüronidaz başına ortalama yaklaşık üç ila altı veya üç ila altı arasında PEG molekülüne sahip olan moleküller içeren rHuPH20'leri  
20 tekrarlanabilir şekilde oluşturmak için kullanılabilir. Bu tip PEG'lenmiş rHuPH20 bileşimleri yaklaşık 25,000 veya 30,000 Birim/mg protein hiyalüronidaz aktiviteli özgül aktiviteye sahip olan ve hemen hemen hiç PEG'lenmemiş rHuPH20 içermeyen (%5'ten az PEG'lenmemiş) bileşimler elde edilecek şekilde kolayca saflaştırılabilir.

Çeşitli PEG tepkime maddeleri kullanılarak, örnek hiyalüronan parçalayan enzim  
25 versiyonları, özellikle insan rekombinant hiyalüronidazları (ör., rHuPH20), örneğin, mPEG-SBA (30 kD), mPEG-SMB (30 kD) ve mPEG2-NHS (40 kD) ve mPEG2-NHS (60 kD) bazlı dallanmış versiyonlar kullanılarak hazırlanabilir. PEG'lenmiş rHuPH20 versiyonları aşağıdaki tepkime maddelerinin her biri kullanılarak NHS kimyalarının yanı sıra karbonatlar ve aldehitler kullanılarak oluşturulmaktadır: mPEG2-NHS-40K  
30 dallanmış, mPEG-NHS-10K dallanmış, mPEG-NHS-20K dallanmış, mPEG2-NHS-60K dallanmış; mPEG-SBA-5K, mPEG-SBA-20K, mPEG-SBA-30K; mPEG-SMB-20K,

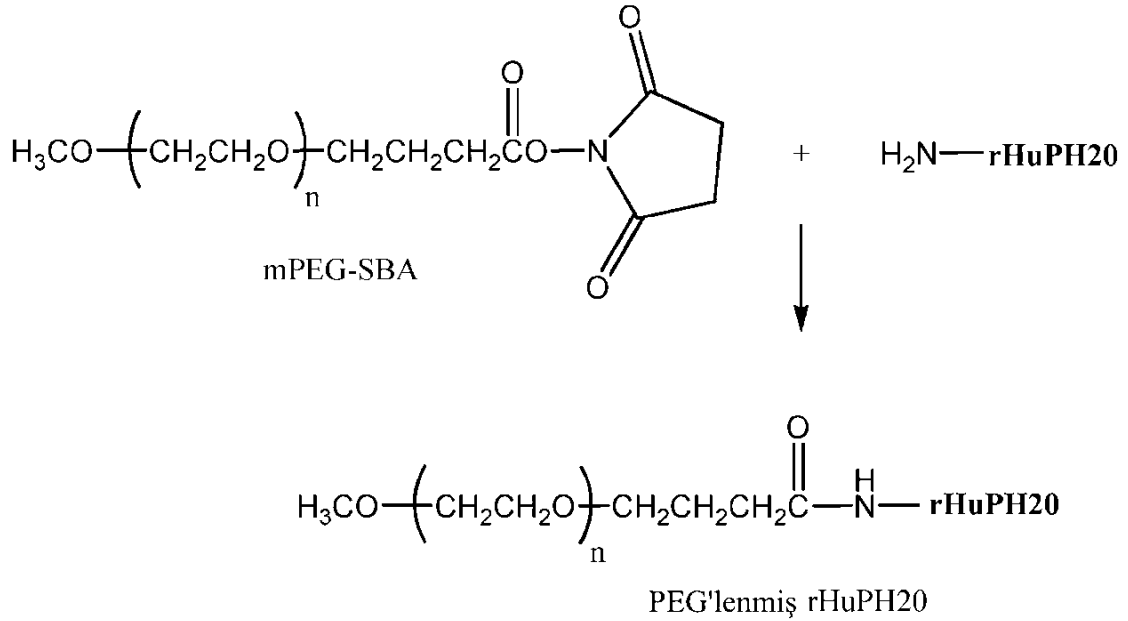
mPEG-SMB-30K; mPEG-bütiraldehit; mPEG-SPA-20K, mPEG-SPA-30K; ve PEG-NHS-5K-biyotin. PEG'lenmiş hiyalüronidazlar ayrıca, Dow Chemical Corporation'ın bir bölümü olan Dowpharma'dan p-nitrofenil-karbonat PEG (30 kDa) ve propionaldehit PEG (30 kDa) ile PEG'lenmiş hiyalüronidazlar dahil, Dowpharma'dan temin edilebilen PEG

5 tepkime maddeleri kullanılarak hazırlanmaktadır.

Bir örnekte, PEG'leme mPEG-SBA'nın örneğin mPEG-SBA-30K'nın (molekül ağırlığı yaklaşık 30 kDa) veya bir başka PEG bütanoik asit türevinin süksinimidil esterinin bir çözünebilen hiyalüronidaza konjüge edilmesini içerir. mPEG-SBA-30K gibi PEG bütanoik asit türevinin süksinimidil esterleri proteinlerin amino gruplarına kolayca

10 bağlanır. Örneğin, aşağıda Şema 1'de gösterildiği gibi, m-PEG-SBA-30K ve rHuPH20'nin (yaklaşık 60 KDa boyutunda) kovalent konjügasyonu rHuPH20 ve mPEG arasında stabil amid bağları sağlar.

### Şema 1



15

Tipik olarak, mPEG-SBA-30K veya bir başka PEG hiyalüronan parçalayan enzime, bazı durumlarda bir hiyalüronidaza, uygun bir tampon, ör., pH 6.8'de 130 mM NaCl /10 mM HEPES veya pH 7'de 70 mM fosfat tamponu içinde 10:1 PEG:polipeptid mol oranında eklenir, ardından ör., steril filtreleme ile sterilize edilir ve örneğin karıştırılarak gece

boyunca 4°C'de soğuk bir odada konjügasyona devam edilir. Bir örnekte, konjüğe edilmiş PEG-hiyalüronan parçalayan enzim yoğunlaştırılır ve tampon değiştirilir.

mPEG-SBA-30K gibi PEG bütanoik asit türevlerinin süksinimidil esterlerinin bağlanmasına yönelik başka usuller teknikte bilinmektedir (bkz., ör., U.S. 5,672,662; U.S. 6,737,505; ve U.S. 2004/0235734). Örneğin, bir hiyalüronan parçalayan enzim (ör., bir hiyalüronidaz) gibi bir polipeptid, bir NHS aktifleştirilmiş PEG türevine bir borat tamponu (0.1 M, pH 8.0) içinde 4°C'de bir saat süreyle tepkimeyle bağlanabilir. Elde edilen PEG'lenmiş protein ultra-filtrasyonla saflaştırılabilir. Alternatif olarak, bir büyükbaş hayvan alkalın fosfatazının PEG'lenmesi fosfatazın mPEG-SBA ile 0.2 M sodyum fosfat ve 0.5 M NaCl (pH 7.5) içeren bir tampon içinde 4°C'de 30 dakika karıştırılmasıyla gerçekleştirilebilir. Tepkimemiş PEG ultra-filtrasyonla uzaklaştırılabilir. Bir başka usulde polipeptid mPEG-SBA ile, pH'yi 7.2-9'a yükseltmek için trietilamin eklenen deiyonize su içinde tepkimeye sokulur. Oluşan karışım oda sıcaklığında birkaç saat karıştırılarak PEG'leme tamamlanır.

Örneğin hayvandan türetilen hiyalüronidazlar ve bakteriyel hiyalüronan parçalayan enzimler dahil hiyalüronan parçalayan polipeptidlerin PEG'lenmesine yönelik usuller teknikte uzman kişilerce bilinmektedir. Bkz., örneğin, büyükbaş hayvan testisi hiyalürodinazı ve kondroitin ABC liyazın PEG'lenmesini açıklayan Avrupa Patenti No. EP 0400472. Ayrıca ABD Yayını No. 2006014968'de insan PH20'sinden türetilen bir insan hiyalüronidazının PEG'lenmesi açıklanmaktadır. Örneğin, PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzim genel olarak molekül başına en az 3 PEG parçası içerir. Örneğin, hiyalüronan parçalayan enzim 5:1 ila 9:1 arasında, örneğin, 7:1'lik bir PEG:protein mol oranına sahip olabilir.

### **E. Farmasötik Bileşimler ve Formülasyonlar**

Burada bir anti-hiyalüronan maddesi ve bir tümör-güdümlü taksan formülasyonunun bileşimleri veya kombinasyonları sağlanmaktadır. Örneğin, burada bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan formülasyonunun bileşimleri veya kombinasyonları sağlanmaktadır. Taksan formülasyonu bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimlerle birlikte formüle edilebilir veya birlikte uygulanabilir. Örneğin, bu tip kombinasyonlar ve

bileşimler burada açıklandığı gibi katı tümörler dahil kanserlerin tedavisinde kullanılabilir. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim, ayrı ayrı uygulanan ayrı bileşimlerin bir kombinasyonu olarak sağlanabilir. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim ve taksan aynı bileşimde sağlanır ve birlikte uygulanabilir. Bileşimler veya bileşimlerin kombinasyonu parenteral uygulama için (yani, sistemik uygulama için) formüle edilebilir. Örneğin, bileşimler veya bileşimlerin kombinasyonu subkutan uygulama veya intravenöz uygulama için formüle edilebilir.

Burada ayrıca kanser tedavisi için bir başka kemoterapi maddesi olan bir üçüncü madde, örneğin bir nükleosid analogu veya bir başka antimetabolit (ör., gempitabin veya türevi veya bir başka nükleosid analogu) içeren kombinasyonlar ve bileşimler sağlanmaktadır. Bu tip maddelerin örnekleri yukarıda ve tarifname içinde açıklanmaktadır. Ek kemoterapi maddesi, örneğin bir nükleosid analogu, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimlerle ve/veya bir tümör-güdümlü taksan içeren bileşimlerle birlikte formüle edilebilir veya birlikte uygulanabilir. Örneğin, ek kemoterapi maddesi, örneğin bir nükleosid analogu, bir anti-hiyalüronan maddesi, ör., bir hiyalüronan parçalayan enzim ve taksanın kombinasyonları veya bileşimlerinden ayrı bir bileşim olarak sağlanabilir. Bazı örneklerde, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim ve taksanın biri veya her ikisiyle birlikte formüle edilir. Örneğin, nükleosid analogu bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzimle birlikte formüle edilir ve bir tümör-güdümlü taksan bir ayrı bileşim olarak sağlanır. Bir başka örnekte, nükleosid analogu bir tümör-güdümlü taksanla birlikte formüle edilir ve bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim bir ayrı bileşim olarak sağlanır. Bir başka örnek olarak, nükleosid analogu, anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-güdümlü taksan aynı bileşim içinde birlikte formüle edilir. Bileşimler veya bileşimlerin kombinasyonu parenteral uygulama için (yani, sistemik uygulama için) formüle edilebilir. Örneğin, bileşimler veya bileşimlerin kombinasyonu subkutan uygulama veya intravenöz uygulama için formüle edilebilir.

Bileşimler tek bir dozaj uygulaması veya birden fazla dozaj uygulaması için formüle edilebilir. Maddeler doğrudan uygulama için formüle edilebilir. Bileşimler bir sıvı veya liyofilize edilmiş formülasyon olarak sağlanabilir.

Bileşikler ağız yoluyla uygulama için uygun farmasötik terkipler, örneğin çözeltiler, süspansiyonlar, tabletler, dağılabilen tabletler, haplar, kapsüller, tozlar, uzun süreli salınımlı formülasyonlar ve iksirlerin yanı sıra transdermal yakı terkipleri ve kuru toz inhalatörleri halinde formüle edilebilir. Tipik olarak, bileşikler teknikte iyi bilinen teknikler ve prosedürler kullanılarak farmasötik bileşimler halinde formüle edilir (bkz., 5 ör., Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Dördüncü baskı, 1985, 126). Genel olarak, formülasyon şekli uygulama yolunun bir fonksiyonudur. Bileşimler birlikte formüle edilebilir veya ayrı bileşimler olarak sağlanabilir.

Genel olarak, bileşimler liyofilize veya sıvı formda formüle edilir. Bileşimler liyofilize formda sağlandıklarında, kullanımdan hem önce uygun bir tampon, örneğin bir steril salin 10 çözeltisi ile hazırlanabilir. Bileşimler birlikte veya ayrı olarak sağlanabilir. Buradaki amaçlar doğrultusunda, bu tip bileşimler tipik olarak ayrı olarak sağlanır. Anti-hiyalüronan maddesi, örneğin çözünebilir hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzim, tümör-güdümlü taksan ve/veya ayrıca kemoterapi maddesi birlikte, arka arkaya 15 veya aralıklı olarak uygulama için ayrı bileşimler halinde paketlenir. Kombinasyonlar bir kit olarak paketlenir.

Bileşimler intramüsküler, intravenöz, intradermal, intralezyonal, intraperitoneal enjeksiyon, subkutan, intratümöral, epidural, nazal, ağız yoluyla, vajinal, rektal, topikal, lokal, otik, inhalasyonla, bukkal (ör., dilaltı) ve transdermal uygulama veya herhangi bir 20 yol dahil olmak üzere teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir yolla uygulamaya yönelik olarak formüle edilebilir. Diğer uygulama şekilleri de kapsamaktadır. Uygulama, tedavi bölgesine bağlı olarak, lokal, topikal veya sistemik olabilir. Tedaviye ihtiyacı olan bir alana lokal uygulama, örneğin, sınırlayıcı olmaksızın, ameliyat sırasında lokal infüzyon, topikal uygulama, ör., ameliyattan sonra bir yara sargısıyla birlikte, 25 enjeksiyon, bir kateter, bir fitil veya bir implant aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Bileşimler ayrıca sırayla, fasıllı olarak veya aynı bileşim içinde başka biyolojik olarak aktif maddelerle uygulanabilir. Uygulama ayrıca kontrollü salınımlı formülasyonlar ve örneğin bir pompa aracılığıyla aygıt kontrollü salınım dahil kontrollü salınımlı sistemler içerebilir.

30 Belirli bir durum için en uygun yol hastalığın türü, hastalığın ilerleyişi, hastalığın ciddiyeti ve kullanılan özel bileşim gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Buradaki amaçlar



doğrultusunda, bir anti-hiyalüronan maddesi, tipik olarak bir hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir çözünebilen hiyalüronidaz, tümör-güdümlü taksan ve/veya ek kemoterapi maddesi plazmada farmasötik olarak uygun bir miktar veya seviyenin mevcut olacağı şekilde uygulanır. Örneğin, bileşimler sistemik olarak, örneğin, intravenöz uygulama aracılığıyla uygulanır. Subkutan usuller de kullanılabilir, ancak intravenöz usullere kıyasla eşdeğer biyoyararlanım sağlamak için uzun absorpsiyon süreleri gerekli olabilir. Maddeler, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim, tümör-güdümlü taksan ve/veya bir ek kemoterapi maddesi (ör., nükleosid analogu) farklı uygulama yollarıyla uygulanabilir. Farmasötik bileşimler her bir uygulama yolu için uygun dozaj formları halinde formüle edilebilir.

Uygulama usulleri hiyalüronan parçalayan enzimlerin, ör. çözünebilen hiyalüronidazların ve diğer moleküllerin antijenik ve immünojenik tepkiler aracılığıyla proteolitik parçalanma ve immünolojik müdahale gibi parçalayıcı süreçlere daha az maruz kalmasını sağlamak için kullanılabilir. Bu tip usullerin örneklerine tedavi bölgesine lokal uygulama veya anti-hiyalüronan maddesinin kesintisiz infüzyonu dahildir.

### 1. Formülasyonlar

Farmasötik olarak uygun bileşimler hayvanlarda ve insanlarda kullanım için bir yasal merci veya bir başka mercinin onayları ışığında, genel olarak kabul edilmiş farmakopelere göre hazırlanır. Bileşimler çözeltiler, süspansiyonlar, emülsiyon, tabletler, haplar, kapsüller, tozlar ve uzun süreli salınımlı formülasyonlar formunda olabilir. Bir bileşim trigliseridler gibi geleneksel bağlayıcılar ve taşıyıcılarla bir fitil olarak formüle edilebilir. Ağız yoluyla uygulamaya yönelik formülasyon farmasötik kalitede manitol, laktoz, nişasta, magnezyum stearat, sodyum sakarin, selüloz, magnezyum karbonat ve bu tip başka maddeler gibi standart taşıyıcılar içerebilir. Formülasyon uygulama şekline uygun olmalıdır.

Farmasötik bileşimler bir enzim veya aktifleştiriciyle birlikte uygulanan bir seyreltici, ek madde, yardımcı madde veya araç gibi taşıyıcılar içerebilir. Uygun farmasötik taşıyıcıların örnekleri E.W. Martin tarafından "Remington's Pharmaceutical Sciences"ta açıklanmaktadır. Bu tip bileşimler, hastaya uygun uygulama formunu sağlayacak şekilde, uygun bir miktarda taşıyıcı ile birlikte, genellikle saflaştırılmış formda, bileşiğin terapötik

olarak etkili bir miktarını içerir. Bu tip farmasötik taşıyıcılar steril sıvılar, örneğin, su ve yağlar, örneğin, petrol bazlı, hayvansal, bitkisel veya sentetik yağlar, örneğin fıstık yağı, soya fasulyesi yağı, mineral yağı ve susam yağı olabilir. Farmasötik bileşim intravenöz olarak uygulandığında, su bir tipik taşıyıcıdır. Özellikle enjekte edilebilen çözeltiler için, 5 sıvı taşıyıcılar olarak salin çözeltileri ve sulu dekstroz ve gliserol çözeltileri de kullanılabilir. Bileşimler bir aktif bileşenle birlikte şunları içerebilir: laktoz, sükroz, dikalsiyum fosfat veya karboksimetilselüloz gibi bir seyreltici; magnezyum stearat, kalsiyum stearat ve talk gibi bir kayganlaştırıcı; ve nişasta, doğal gomlar, ör., gom akasya, jelatin, glükoz, melas, polvinilpirolidin, selülozlar ve bunların türevleri, povidon, 10 krosppovidonlar ve teknikte uzman kişilerce bilinen bu tip diğer birleştiriciler gibi bir birleştirici. Uygun farmasötik yardımcı maddelere nişasta, glükoz, laktoz, sükroz, jelatin, malt, pirinç, un, kireç taşı, silis jel, sodyum stearat, gliserol monostearat, talk, sodyum klorür, kurutulmuş yağsız süt, gliserol, propilen, glikol, su ve etanol dahildir. Bir bileşim, arzu edildiği takdirde, ayrıca küçük miktarlarda ıslatıcı veya emülsiyonlaştırıcı maddeler 15 veya pH tamponlama maddeleri, örneğin, asetat, sodyum sitrat, siklodekstrin türevleri, sorbitan monolaurat, trietanolamin sodyum asetat, trietanolamin oleat ve bu tip diğer maddeleri içerebilir.

Bir örnekte, farmasötik terkip örneğin çözeltiler, şuruplar veya süspansiyonlar gibi sıvı formda olabilir. Bu tip sıvı terkipler süspansiyonlaştırıcı maddeler (ör., sorbitol şurubu, 20 selüloz türevleri veya hidrojenlenmiş yenilebilir yağlar); emülsiyonlaştırıcı maddeler (ör., lesitin veya akasya); susuz araçlar (ör., badem yağı, yağlı esterler veya fraksiyonlarına ayrılmış bitkisel yağlar); ve koruyucu maddeler (ör., metil veya propil-p-hidroksibenzoatlar veya sorbik asit) gibi farmasötik olarak uygun katkı maddeleriyle geleneksel yollarla hazırlanabilir. Bir başka örnekte, farmasötik terkipler kullanılmadan 25 önce su veya bir başka uygun araçla hazırlanan liyofilize edilmiş formda sunulabilir.

Farmasötik ve terapötik olarak aktif bileşikler ve bunların türevleri tipik olarak birim dozaj formları veya çoklu dozaj formları halinde formüle edilir ve uygulanır. Her bir birim doz, gereken farmasötik taşıyıcı, araç veya seyrelticiyle birlikte, terapötik olarak aktif bileşiğin arzu edilen terapötik etkiyi oluşturmak için yeterli olan önceden belirlenmiş 30 bir miktarını içerir. Birin dozaj formlarına, sınırlayıcı olmaksızın, tabletler, kapsüller, haplar, tozlar, granüller, steril parenteral çözeltiler veya süspansiyonlar ve ağız yoluyla

uygulanen çözeltiler veya süspansiyonlar ve bileşikleri veya bunların farmasötik olarak uygun türevlerini uygun miktarlarda içeren yağ su emülsiyonları dahildir. Birim doz formları ampuller ve şırıngalar ve ayrı ayrı ambalajlanmış tabletler veya kapsüller içinde olabilir. Birim doz formları bölümler veya bunların birden fazlası şeklinde uygulanabilir.

- 5 Bir çoklu doz formu ayrılmış birim doz formunda uygulanmak üzere tek bir kap içinde ambalajlanmış birden fazla özdeş birim dozaj formudur. Çoklu doz formlarının örneklerine, küçük şişeler, tablet veya kapsül şişeleri veya yarım litrelik veya galonluk şişeler dahildir. Dolayısıyla, çoklu doz formu ambalaj içinde ayrı olmayan birden fazla birim dozdur. Genel olarak, %0.005 ila %100 arasında aktif bileşen ve kalan kısmında
- 10 toksik olmayan taşıyıcı içeren dozaj formları veya bileşimler hazırlanabilir.

Farmasötik bileşim her bir uygulama yolu için uygun dozaj formları halinde formüle edilebilir.

#### **a. Enjekte edilebilen bileşimler, çözeltiler ve emülsiyonlar**

- Genel olarak subkutan, intramüsküler, intratümöral, intravenöz veya intradermal
- 15 enjeksiyonla karakterize edilen parenteral uygulama burada kapsamaktadır. Enjekte edilebilen bileşimler sıvı çözeltiler veya süspansiyonlar, enjeksiyondan önce sıvı içinde çözelti veya süspansiyon için uygun katı formlarda veya emülsiyonlar gibi geleneksel formlarda hazırlanabilir. Uygun yardımcı maddeler, örneğin, su, salin, dekstroz, gliserol veya etanoldür. Ek olarak, arzu edildiği takdirde, uygulanacak olan farmasötik bileşimler
- 20 ayrıca pH tamponlama maddeleri, metal iyon tuzları veya bu tip diğer tamponlar gibi bir çözücü formunda bir aktifleştirici içerebilir. Farmasötik bileşimler ayrıca küçük miktarlarda toksik olmayan ek maddeler, örneğin, ıslatıcı veya emülsiyon haline getirici maddeler, pH tamponlama maddeleri, stabilizatörler, çözünürlük arttırıcılar ve bu tip
- 25 başka maddeler, örneğin, sodyum asetat, sorbitan monolaurat, trietanolamin oleat ve siklodekstrinler içerebilir. Sabit bir dozaj seviyesinin korunacağı şekilde bir yavaş salımlı veya uzun süreli salımlı sistem (bkz., ör., ABD Pat. No. 3,710,795) uygulaması da burada kapsamaktadır. Bu tip parenteral bileşimlerde yer alan aktif bileşik yüzdesi önemli ölçüde bileşimin özel türüne, bileşiğin aktivitesine ve hastanın ihtiyaçlarına bağlıdır.

Örneğin, bir polimer-konjüge edilmiş hiyalüronan-parçalayan enzimin, örneğin burada sağlanan bir polimer-konjüge edilmiş çözünebilen hiyalüronidazın bir standart stabilize edilmiş formülasyonu EDTA, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, histidin, laktoz, albümin, Pluronic® F68, TWEEN® ve/veya diğer deterjan veya benzer maddelerin bir veya daha fazlası ile formüle edilir. Örneğin, burada sağlanan bileşimler bir veya daha fazla pH tamponu (örneğin, histidin, fosfat veya diğer tamponlar) veya asidik tampon (örneğin asetat, sitrat, piruvat, Gly-HCl, süksinat, laktat, maleat veya diğer tamponlar), toniklik modifiye edici (örneğin, bir amino asit, polialkol, NaCl, trehaloz, diğer tuzlar ve/veya şekerler), stabilizatör, şelatlama maddesi, örneğin etilendiamintetraasetik asit, etilendiamintetraasetat veya kalsiyum EDTA, oksijen toplayıcı, örneğin metionin, askorbik asit/askorbat, sitrik asit/sitrat veya albümin ve/veya bir koruyucu, örneğin bir aromatik halka içeren koruyucu (ör. fenol veya kresol) içerebilir. Bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimler için yararlı olan örnek stabilizatörlere deterjanlar, örneğin polisorbattar ve proteinler, örneğin insan serum albümini dahildir. Buradaki bileşimlerde yararlı olan örnek serum albümin konsantrasyonlarına 0.1 mg/mL ila 1 mg/mL, örneğin en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 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 veya 1 mg/mL dahildir, ancak daha yüksek veya düşük olabilir. Polisorbattar da bileşimlerde, örneğin, yaklaşık %0.001 ila %0.1, örneğin en az yaklaşık veya en az veya yaklaşık %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 veya %0.1 konsantrasyonsa mevcut olabilir. Bir metal şelatlama maddesi de, örneğin kalsiyum EDTA (CaEDTA), örneğin, yaklaşık 0.02 mM ila 20 mM, örneğin en az yaklaşık veya en az veya yaklaşık 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 veya daha yüksek konsantrasyonlarda mevcut olabilir. Bileşimlerin pH'si ve ozmolaritesi, bileşimin arzu edilen aktivitesi ve stabilitesi için koşulları optimize edecek şekilde teknikte uzman kişilerce ayarlanabilir. Bazı örneklerde, burada sağlanan bileşimlerin ozmolaritesi 100 mOsm/kg ila 500 mOsm/kg arasında, örneğin en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 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 veya daha yüksektir ve pH'si yaklaşık 6 ila 8, örneğin 6 ila 7.4 arasında, örneğin yaklaşık 6, 6.2, 6.4, 6.6, 6.8, 7, 7.2, 7.4, 7.6, 7.8 veya 8'dir.

Genel olarak, bir hiyalüronan parçalayan enzim içeren formülasyonlarda NaCl, örneğin, yaklaşık 100 mM ila 150 mM veya daha yüksek bir miktarda sağlanır. Örneğin, bir örnek formülasyon yaklaşık 10 mM histidin ve/veya yaklaşık 130 mM NaCl içerebilir. Bazı formülasyonlar ek olarak veya alternatif olarak örneğin yaklaşık 13 mg/ml miktarda laktoz içerebilir. Ek olarak, formülasyonda, sınırlayıcı olmaksızın, tiomersal dahil, bir anti-bakteriyel veya anti-fungal madde mevcut olabilir. Formülasyonlar ayrıca Albümin, Pluronic® F68, TWEEN® ve/veya bir başka deterjan içerebilir. Formülasyonlar yaklaşık 6.0 ila 7.4, örneğin 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 veya 7.4 olan bir pH'de, genellikle yaklaşık 6.5 olan bir pH'de sağlanır. Buradaki kullanım için bir modifiye edilmiş çözünebilir hiyalüronidazın konsantre formülasyonları genellikle uygun tuz konsantrasyonunu korumak için uygulamadan önce bir salin çözeltisi veya bir başka tuz tamponlu çözelti içinde seyreltilir.

Enjekte edilebilir bileşimler lokal veya sistemik uygulama için tasarlanır. Buradaki amaçlar doğrultusunda, toplanan veya aşırı hiyalüronanla ilişkili etkilenmiş interstisyuma doğrudan uygulama için lokal uygulama arzu edilir. Parenteral uygulamaya yönelik terkiplere enjeksiyona hazır steril çözeltiler, hipodermik tabletler dahil, kullanımdan hemen önce bir çözücüyle birleştirilerek hazırlanan liyofilize tozlar gibi steril kuru çözünebilir ürünler, enjeksiyona hazır steril süspansiyonlar, kullanımdan hemen önce bir araçla birleştirilerek hazırlanan steril kuru çözünmeyen ürünler ve steril emülsiyonlar dahildir. Çözeltiler sulu veya susuz olabilir. İntravenöz olarak uygulandığında, uygun taşıyıcılara fizyolojik salin veya fosfat tamponlu salin (PBS) ve glukoz, polietilen glikol ve polipropilen glikol ve bunların karışımları gibi koyulaştırıcı ve çözünürleştirici maddeler içeren çözeltiler dahildir.

Parenteral terkiplerde kullanılan farmasötik olarak uygun taşıyıcılara sulu araçlar, susuz araçlar, antimikrobiyal maddeler, izotonik maddeler, tamponlar, antioksidanlar, lokal anestetikler, süspansiyonlaştırıcı ve dağıtıcı maddeler, emülsiyonlaştırıcı maddeler, tecrit edici veya şelatlayıcı maddeler ve diğer farmasötik olarak uygun maddeler dahildir. Sulu araçların örneklerine Sodyum Klorür Enjeksiyonu, Ringers Enjeksiyonu, İzotonik

Dekstroz Enjeksiyonu, Steril Su Enjeksiyonu, Dekstroz ve Laktatlı Ringers Enjeksiyonu dahildir. Sulu olmayan parenteral araçların örneklerine bitkisel menşeli sabit yağlar, pamuk çekirdeği yağı, mısır yağı, susam yağı ve fıstık yağı dahildir. Fenoller veya kresoller, cıvalı maddeler, benzil alkol, klorobütanol, metil ve propil p-hidroksibenzoik asit esterler, timerosal, benzalkonyum klorür ve benzetonyum klorür dahil antimikrobiyal maddeler çok-doza kaplar için ambalajlanmış parenteral terkiplere bakteriyostatik veya fungistatik konsantrasyonlarda eklenebilir. İzotonik maddelere sodyum klorür ve dekstroz dahildir. Tamponlara fosfat ve sitrat dahildir. Antioksidanlara sodyum bisülfat dahildir. Lokal anestetiklere prokain hidroklorür dahildir. Süspansiyonlaştırıcı ve dağıtıcı maddelere sodyum karboksimetilselüloz, hidroksipropil metilselüloz ve polivinilpirolidon dahildir. Emülsiyonlaştırıcı maddelere Polisorbitat 80 (TWEEN 80) dahildir. Metal iyonları için tecrit edici veya şelatlayıcı madde EDTA içerir. Farmasötik taşıyıcılara ayrıca suyla karışabilen araçlar için etil alkol, polietilen glikol ve propilen glikol ve pH ayarlaması için sodyum hidroksit, hidroklorik asit, sitrik asit veya laktik asit dahildir.

İntravenöz olarak uygulandığında, uygun taşıyıcılara fizyolojik salin veya fosfat tamponlu salin (PBS) ve glükoz, polietilen glikol ve polipropilen glikol ve bunların karışımları gibi koyulaştırıcı ve çözünürleştirici maddeler içeren çözeltiler dahildir.

Farmasötik olarak aktif bileşiğin konsantrasyonu bir enjeksiyonun arzu edilen farmakolojik etkiyi üretmek için etkili bir miktarı sağlayacağı şekilde ayarlanır. Tam doz teknikte bilindiği gibi hasta veya hayvanın yaşı, kilosu ve durumuna bağlıdır. Birim doz parenteral terkipler bir ampul, bir şişe veya bir iğne içeren bir şırınga içinde ambalajlanır. Farmasötik olarak aktif bileşiği içeren sıvı çözelti veya hazırlanmış toz terkinin hacmi tedavi edilen hastalığın ve paket için seçilen özel mamul ürünün bir fonksiyonudur. Parenteral uygulamaya yönelik tüm terkipler bilindiği ve teknikte uygulandığı gibi steril olmalıdır.

#### **b. Liyofilize tozlar**

Burada uygulama için çözeltiler, emülsiyonlar ve başka karışımlar şeklinde uygulama sırasında hazırlanan liyofilize tozlar caziptir. Bunlar ayrıca katılar veya jeller olarak da

hazırlanabilir ve formüle edilebilir. Liyofilize tozlar yukarıda açıklanan çözeltilerin herhangi birinden hazırlanabilir.

Steril liyofilize tozu hazırlamak için bir hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir çözünebilir hiyalüronidaz olan bir anti-hiyalüronan maddesi bileşiği ve/veya ikinci maddenin bir tampon çözeltisi içinde çözülür. Tampon çözeltisi toz veya tozdan hazırlanan kullanım için hazırlanmış çözeltinin stabilitesini veya bir başka farmakolojik bileşenini geliştiren bir yardımcı madde içerebilir. Teknikte uzman kişilerce bilinen standart koşullar altında çözeltinin müteakiben steril olarak süzülmesi ve ardından liyofilize edilmesiyle arzu edilen formülasyon elde edilir. Kısaca, liyofilize tozu hazırlamak için, dekstroz, sorbitol, fruktoz, mısır şurubu, ksilitol, gliserin, glükoz, sükroz veya bir başka uygun madde gibi bir yardımcı maddenin sitrat, sodyum, potasyum fosfat veya teknikte uzman kişilerce bilinen bu tip bir başka tampon gibi uygun bir tampon içinde çözülür. Daha sonra oluşan karışıma seçilen bir enzim eklenir ve çözümlene kadar karıştırılır. Oluşan karışım toprakları uzaklaştırmak ve steril olmasını sağlamak için steril bir şekilde süzülür veya işlenir ve liyofilizasyon için şişelere dağıtılır. Her bir şişe bileşiğin tek bir dozajını (1 mg - 1 g, genel olarak 1-100 mg, örneğin 1-5 mg) veya birden fazla dozajını içerir. Liyofilize toz yaklaşık 4 C ila oda sıcaklığı gibi uygun koşullar altında saklanabilir.

Bu liyofilize tozun bir tampon çözeltisi ile kullanım için hazırlanmasıyla parenteral uygulamada kullanım için bir formülasyon elde edilir. Tam miktar tedavi edilen endikasyona ve seçilen bileşiğe bağlıdır. Bu tip bir miktar deneme yoluyla belirlenebilir.

### **c. Topikal uygulama**

Topikal karışımlar lokal ve sistemik uygulama için açıklandığı gibi hazırlanır. Oluşan karışım bir çözelti, süspansiyon, emülsiyon veya benzerleri olabilir ve topikal uygulama için uygun kremler, jeller, merhemler, emülsiyonlar, çözeltiler, iksirler, losyonlar, süspansiyonlar, tentürler, macunlar, köpükler, aerosoller, yıkamalar, spreyleyler, fitiller, bandajlar, dermal yakılar veya herhangi bir başka formülasyon halinde formüle edilir.

Bileşikler veya bunların farmasötik olarak uygun türevleri örneğin inhalasyon gibi topikal uygulama için aerosoller olarak formüle edilebilir (bkz., enflamatuvar hastalıklar, özellikle astım tedavisi için uygun bir steroidin iletimi için aerosollerin açıklandığı ABD

Pat. No. 4,044,126, 4,414,209 ve 4,364,923). Solunum sistemine uygulamaya yönelik olan bu formülasyonlar bir püskürtücü için bir aerosol veya çözelti formunda veya tek başına veya laktoz gibi bir inert taşıyıcı ile kombinasyon halinde insüflasyon için bir mikro-ince toz halinde olabilir. Bu tip bir durumda, formülasyondaki tanecikler tipik olarak 50 mikrondan küçük, tercihen 10 mikrondan küçük çaplara sahiptir.

Bileşikler cilde ve göz gibi muköz membranlara topikal uygulama gibi lokal veya topikal uygulama için, jeller, kremler veya losyonlar halinde ve göze uygulama için veya intrasisternal veya intraspinal uygulama için de formüle edilebilir. Topikal uygulama transdermal iletimin yanı sıra göz, mukoza veya inhalasyon terapilerine yönelik uygulamayı da kapsar. Aktif bileşiğin tek başına veya başka farmasötik olarak uygun yardımcı maddelerle kombinasyon halindeki nazal çözeltileri de uygulanabilir.

Transdermal uygulama için uygun formülasyonlar sağlanmaktadır. Bunlar alıcının epidermisi ile uzun bir süre boyunca yakın temas halinde kalacak şekilde uyarlanan ayrı ayrı yakılar gibi herhangi bir uygun biçimde sağlanabilir. Bu tip yakılar, aktif bileşiği, aktif bileşiğe göre örneğin, 0.1 ila 0.2 M konsantrasyonda isteğe bağlı olarak tamponlanmış bir sulu çözelti içinde içerir. Transdermal uygulama için uygun formülasyonlar ayrıca iyontoforezle iletilebilir (bkz., ör., Pharmaceutical Research 3 (6): 318 (1986)) ve tipik olarak aktif bileşiğin isteğe bağlı olarak tamponlanmış bir sulu çözeltisi formunda olabilir.

#### 20 **d. Diğer uygulama yollarına yönelik bileşimler**

Tedavi edilen rahatsızlığa bağlı olarak, topikal uygulama, transdermal yakılar, ağız yoluyla veya rektal uygulama gibi başka uygulama yolları da burada kapsamaktadır. Örneğin, rektal uygulama için farmasötik dozaj formları sistemik etki için rektal fitiller, kapsüller ve tabletlerdir. Rektal fitillere rektuma yerleştirilen, vücut sıcaklığında eriyerek veya yumuşayarak bir veya daha fazla farmasötik olarak veya terapötik olarak aktif bileşeni serbest bırakan katı cisimler dahildir. Rektal fitillerde kullanılan farmasötik olarak uygun maddeler bazlar veya araçlar ve erime noktasını yükselten maddelerdir. Bazların örneklerine kakao yağı (teobroma yağı), gliserin-jelatin, carbowax (polioksietilen glikol) ve yağ asitlerinin mono-, di- veya trigliseridlerinin uygun karışımları dahildir. Çeşitli bazların kombinasyonları da kullanılabilir. Fitillerin erime



noktasını yükselten maddelere ispermeçet yağı ve balmumu dahildir. Rektal fitiller sıkıştırma usulü ve kalıplama ile hazırlanabilir. Bir rektal fitilin tipik ağırlığı yaklaşık 2 ila 3 gm'dir. Rektal uygulamaya yönelik tabletler ve kapsüller aynı farmasötik olarak uygun madde kullanılarak ve ağız yoluyla uygulamaya yönelik formülasyonlar için  
5 olanlarla aynı usullerle imal edilir.

Rektal uygulama için uygun formülasyonlar birim doz fitiller halinde sağlanabilir. Bunlar, aktif bileşiğin bir veya daha fazla geleneksel katı taşıyıcı, örneğin kakao yağıyla karıştırılması ve daha sonra oluşan karışımın şekillendirilmesiyle hazırlanabilir.

Farmasötik bileşimler, ağız yoluyla uygulama için, örneğin bağlayıcı maddeler (ör.,  
10 jelatinleştirilmiş mısır nişastası, polivinil piroolidon veya hidroksipropil metilselüloz); dolgu maddeleri (ör., laktoz, mikrokristal selüloz veya kalsiyum hidrojen fosfat); kayganlaştırıcılar (ör., magnezyum stearat, talk veya silis); dağıtıcı maddeler (ör., patates nişastası veya sodyum nişasta glikolat); veya ıslatıcı maddeler (ör., sodyum lauril sülfat) gibi farmasötik olarak uygun yardımcı maddelerle geleneksel yollarla hazırlanan tabletler  
15 veya kapsüller formunda olabilir. Tabletler teknikte iyi bilinen usullerle kaplanabilir.

Bukkal (dilaltı) uygulama için uygun formülasyonlara, örneğin, aktif bileşiği bir aromalı baz, genellikle sükroz ve akasya veya kitre içinde içeren kare pastiller; ve bileşiği jelatin ve gliserin veya sükroz veya akasya gibi bir inert baz içinde içeren pastiller dahildir.

Farmasötik bileşimler ayrıca kontrollü salınım formülasyonları ve/veya iletim araçlarıyla  
20 da uygulanabilir (bkz., ör., ABD Pat. No. 3,536,809; 3,598,123; 3,630,200; 3,845,770; 3,847,770; 3,916,899; 4,008,719; 4,687,660; 4,769,027; 5,059,595; 5,073,543; 5,120,548; 5,354,556; 5,591,767; 5,639,476; 5,674,533 ve 5,733,566).

Çeşitli iletim sistemleri, ör., lipozomlar içinde kapsülleme, mikro-tanecikler, mikro-kapsüller, bileşiği eksprese edebilen rekombinant hücreler, reseptör aracılığıyla endositoz  
25 ve retrovirüs iletim sistemleri gibi bir çözünebilen hiyalüronidaz veya başka madde kodlayan nükleik asit moleküllerinin iletimi bilinmektedir ve seçilen bileşimleri uygulamak için kullanılabilir.

Dolayısıyla, bazı düzenlemelerde, buradaki bileşimlerin uygulanmasında lipozomlar ve/veya nano-tanecikler de kullanılabilir. Lipozomlar bir sulu ortam içinde dağıtılan  
30 fosfolipidlerden oluşturulur ve kendiliğinden çok katmanlı eşmerkezli çift katmanlı

veziküller (ayrıca çok katmanlı veziküller (MLV'ler) olarak adlandırılır) oluşur. MLV'ler genellikle 25 nm ila 4 µm arasında çapa sahiptir. MLV'lerin sonikasyona tabi tutulması çekirdeğinde bir sulu çözelti içeren 200 ila 500 angström arasında çapa sahip küçük tek katmanlı veziküllerin (SUV'ler) oluşmasını sağlar.

- 5 Fosfolipidler, su içinde dağıtıldıklarında, lipid/su mol oranına bağlı olarak, lipozomlardan başka çeşitli yapılar oluşturabilir. Düşük oranlarda, lipozomlar oluşur. Lipozomların fiziksel özellikleri pH, iyonik kuvvet ve iki değerlikli katyonların mevcudiyetine bağlıdır. Lipozomlar iyonik ve polar maddelere karşı düşük geçirgenlik sergileyebilir, ancak yüksek sıcaklıklarda geçirgenliklerini belirgin bir şekilde değiştiren bir faz geçişine maruz kalırlar. Faz geçişi jel durumu olarak bilinen sıkı paketlenmiş, düzenli bir yapıdan, 10 akışkan durumu olarak bilinen gevşek paketlenmiş, daha az düzenli bir yapıya doğru bir değişim içerir. Bu, bir karakteristik faz-geçiş sıcaklığında gerçekleşir ve iyonlara, şekerlere ve ilaçlara karşı geçirgenlikte bir artış sağlar.

Lipozomlar hücrelerle farklı mekanizmalar aracılığıyla etkileşir: makrofajlar ve 15 nötrofiller gibi retikuloendotelial sistemdeki fagositik hücrelerle endositoz; özgün olmayan zayıf hidrofobik veya elektrostatik kuvvetlerle veya hücre yüzeyi bileşenleriyle özgün etkileşimlerle hücre yüzeyine adsorpsiyon; lipozomun lipid ikili katmanının plazma membranına eklenmesiyle, eşzamanlı olarak lipozom içeriklerinin sitoplazmaya salınmasıyla, plazma hücresi membranıyla füzyon; ve lipozom içerikleriyle herhangi bir 20 ilişki olmaksızın lipozom lipidlerinin hücrenel veya hücre-içi membranlara transferi veya tersi. Lipozom formülasyonunun değiştirilmesi aktif olan mekanizmayı değiştirebilir, ancak aynı anda birden fazla mekanizma aktif olabilir. Nano-kapsüller genellikle bileşikleri stabil ve tekrarlanabilen bir şekilde hapseder. Hücre-içi aşırı polimer yüklenmesinden dolayı yan etkileri önlemek için, bu tip ultra-küçük tanecikler (0.1 µm 25 civarında boyutlu) *in vivo* olarak parçalanabilen polimerler kullanılarak tasarlanmalıdır. Bu şartları sağlayan biyolojik olarak parçalanabilen polialkil-siyanoakrilat nano-tanecikleri burada kullanım için kapsanmaktadır ve bu tip tanecikler kolayca yapılabilir.

## 2. Formülasyon Miktarları

Bileşimler tek bir dozaj uygulaması veya birden fazla dozaj uygulaması için formüle 30 edilebilir. Maddeler doğrudan uygulama için formüle edilebilir.

Anti-hiyalüronan maddesinin bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim gibi bir hiyalüronan parçalayan enzim olduğu burada sağlanan bileşimler veya bileşim kombinasyonlarında, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim doğrudan uygulama için yaklaşık 0.5 µg ila 50 mg, örneğin 100 µg ila 1 mg, 1 mg ila 20 mg, 100 µg  
5 ila 5 mg, 0.5 µg ila 1450 µg, 1 µg ila 1000 µg, 5 µg ila 1250 µg, 10 µg ila 750 µg, 50 µg ila 500 µg, 0.5 µg ila 500 µg veya 500 µg ila 1450 µg arasında bir miktarda formüle edilir. Örneğin, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim doğrudan uygulama için doz başına yaklaşık 15 Birim (U) veya 150 Birim (U) ila 60,000 Birim, 300 U ila 30,000 U, 500 U ila 25,000 U, 500 U ila 10,000 U, 150 U ila 15,000 U, 150 U  
10 ila 5000 U, 500 U ila 1000 U, 5000 U ila 45,000 U 10,000 U ila 50,000 U veya 20,000 U ila 60,000 U arasında bir miktarda, örneğin en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 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; veya 50,000 U miktarında formüle edilir.

15 Polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim yaklaşık 50 U/mL ila 15,000 U/mL, örneğin 10 U/mL ila 500 U/mL, 1000 U/mL ila 15,000 U/mL, 100 U/mL ila 5,000 U/mL, 500 U/mL ila 5,000 U/mL veya 100 U/mL ila 400 U/mL, örneğin en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 50 U/mL, 100 U/mL, 150 U/mL, 200 U/mL, 400 U/mL, 500 U/mL, 1000 U/mL, 2000 Birim/mL, 3000 U/mL, 4000 U/mL, 5000 U/mL, 6000 U/mL,  
20 7000 U/mL, 8000 U/mL, 9000 U/mL, 10,000 U/mL, 11,000 U/mL, 12,000 U/mL veya 12,800 U/mL'lik bir stok çözelti olarak sağlanabilir. Bileşimin hacmi 0.5 mL ila 1000 mL, örneğin 0.5 mL ila 100 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 500 mL, 1 mL ila 10 mL, örneğin en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 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 veya daha yüksek  
25 olabilir. Bileşim genel olarak, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin yaklaşık 50 mL'den daha yüksek hacimlerde uygulanmayacağı ve tipik olarak 5-30 mL'lik bir hacimde, genellikle en fazla 10 mL olan bir hacimde uygulanacağı şekilde formüle edilir. Daha yüksek hacimler için, infüzyon süresi daha yüksek hacmin iletimini sağlayacak şekilde uyarlanabilir. Örneğin, infüzyon süresi en az 1 dakika, 5 dakika,  
30 10 dakika, 20 dakika, 30 dakika, 40 dakika, 50 dakika, 1 saat veya daha uzun olabilir.

Burada sağlanan bileşim veya bileşim kombinasyonlarında, bir albümine bağlı taksan, örneğin albümine bağlı paklitaksel gibi tümör-güdümlü taksan, taksanın doğrudan

uygulanması için, yaklaşık 10 mg ila 1000 mg, örneğin 20 mg ila 500 mg, 10 mg ila 250 mg, 75 mg ila 400 mg, 100 mg ila 200 mg, 150 mg ila 400 mg, 200 mg ila 800 mg, 50 mg ila 200 mg veya 50 mg ila 150 mg arasında bir miktarda formüle edilir. Bileşim sonradan uygulama için hazırlanan bir liyofilize form halinde veya bir sıvı formülasyon halinde sağlanabilir. Örneğin, bir sıvı formülasyonu uygulamaya hazırlamak için su veya %0.9 sodyum klorür veya bir başka fizyolojik çözelti kullanılabilir. Uygulama için hazırlandığında veya bir sıvı formülasyon halinde sağlandığında, bileşim tümör-güdümlü taksan formülasyonunda yaklaşık 0.01 mg/mL ila 100 mg/mL, örneğin 1 mg/mL ila 50 mg/ml, 2.5 mg/mL ila 25 mg/mL, 5 mg/mL ila 15 mg/mL veya 10 mg/mL ila 100 mg/mL arasında, örneğin en az veya yaklaşık en az 5 mg/mL taksan içeren bir stok çözelti olarak sağlanabilir. Bileşimin hacmi 0.5 mL ila 1000 mL, örneğin 0.5 mL ila 100 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 500 mL, 1 mL ila 10 mL, örneğin en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 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 veya daha yüksek olabilir. Tüm şişe içeriği uygulama için çekilebilir veya birden fazla uygulama için birden fazla dozaj halinde bölünebilir. Daha yüksek hacimler için, infüzyon süresi daha yüksek hacmin iletimini sağlayacak şekilde uyarlanabilir. Örneğin, infüzyon süresi en az 1 dakika, 5 dakika, 10 dakika, 20 dakika, 30 dakika, 40 dakika, 50 dakika, 1 saat veya daha uzun olabilir. Anlaşılacağı gibi, taksan formülasyonları taşıyıcılar, polimerler, lipidler ve başka yardımcı maddeler dahil başka bileşenler içerebilir. Yukarıda sağlanan dozajlar aktif bileşen olan taksan bileşenine göreler.

Örneğin, bir albümine bağlı paklitaksel olan Abraxane®, paklitakselin boyutu yaklaşık 130 nm olan stabil tanecikler oluşturacak şekilde sadece albüminle kompleks oluşturduğu çözücüsüz bir paklitaksel formülasyonu halinde formüle edilir. Her bir 50 mL'lik Abraxane® şişesi bir steril, liyofilize macun halinde 100 mg paklitaksel ve yaklaşık 900 mg insan albümini içerir. Her bir şişe 5 mg/mL paklitaksel içeren bir süspansiyon oluşturacak şekilde 20 mL %0.9 Sodyum Klorür Enjeksiyonu, USP, ile uygulama için hazırlanacak şekilde sağlanır. Uygulama için hazırlanmış Abraxane süspansiyonu intravenöz olarak 30 dakika içinde önerilen 260 mg/m<sup>2</sup>'lik dozda infüzyonla uygulanır.

Burada sağlanan bileşim veya bileşim kombinasyonlarında, nükleosid analogu, örneğin gempitabin veya bunun bir türevi, doğrudan uygulama için, yaklaşık 100 mg ila 5000 mg,

örneğin 500 mg ila 5000 mg, 500 mg ila 2500 mg, 1000 mg ila 2500 mg, 2000 mg ila 5000 mg veya 1500 mg ila 2500 mg arasında, genellikle en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg veya 1000 mg arasında bir miktarda formüle edilir. Bileşim sonradan uygulama için hazırlanan bir liyofilize form halinde veya bir sıvı formülasyon halinde sağlanabilir. 5 Örneğin, bir sıvı formülasyonu uygulamaya hazırlamak için su veya %0.9 sodyum klorür veya bir başka fizyolojik çözelti kullanılabilir. Uygulama için hazırlandığında veya bir sıvı formülasyon halinde sağlandığında, tamamlanmamış çözülmeyi en aza indirmek için, bileşim yaklaşık 1 mg/mL ila 500 mg/mL, örneğin 5 mg/mL ila 100 mg/mL, 10 mg/mL 10 ila 50 mg/mL, 25 mg/mL ila 200 mg/mL veya 20 mg/mL ila 100 mg/mL arasında, örneğin en az veya yaklaşık en az 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL veya 40 mg/mL ve genellikle en fazla 40 mg/mL bir nükleosid analogu içeren bir stok çözelti olarak sağlanabilir. Bileşimin hacmi 0.5 mL ila 1000 mL, örneğin 0.5 mL ila 100 mL, 0.5 mL ila 10 mL, 1 mL ila 500 mL, 1 mL ila 10 mL, örneğin en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 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 veya daha yüksek olabilir. Tüm şişe içeriği uygulama için çekilebilir veya birden fazla uygulama için birden fazla dozaj halinde bölünebilir. Daha yüksek hacimler için, infüzyon süresi daha yüksek hacmin iletimini sağlayacak şekilde uyarlanabilir. Örneğin, infüzyon süresi en az 1 dakika, 20 5 dakika, 10 dakika, 20 dakika, 30 dakika, 40 dakika, 50 dakika, 1 saat veya daha uzun olabilir. Uygulama için ilacın bir miktarı çekildiğinde, formülasyon arzu edildiği takdirde su, salin (ör., %0.9) veya bir başka fizyolojik çözelti içinde ayrıca seyreltilebilir. Anlaşılacağı gibi, bir nükleosid analogunun (ör., gempitabin veya bir türev) formülasyonları taşıyıcılar, polimerler, lipidler ve başka yardımcı maddeler dahil başka bileşenler içerebilir. Yukarıda sağlanan dozajlar aktif bileşen olan nükleosid analogu 25 bileşenine göredir.

Örneğin, enjeksiyonluk gempitabin olan Gemzar®, şişe başına 200 mg veya 1000 mg aktif madde içeren bir liyofilize formülasyon olarak sağlanmaktadır. Her bir şişe, 40 mg/mL gempitabin içeren bir süspansiyon (liyofilize edilmiş tozun kapladığı hacim 30 hesaba katılarak, uygulama için hazırlanan konsantrasyon yaklaşık 38 mg/mL olabilir) oluşturmak için, sırasıyla 5 mL veya 25 mL %0.9 Sodyum Klorür Enjeksiyonu, USP, ile

uygulama için hazırlanacak şekilde sağlanır. Uygulamadan önce, uygun miktarda ilaç %0.9 sodyum klorür veya bir başka fizyolojik çözelti ile ayrıca seyreltilebilir.

### 3. Paketleme ve Mamul Ürünler

5 Ayrıca, paketleme malzemeleri, burada sağlanan herhangi bir farmasötik bileşim veya kombinasyon ve bileşimler ve kombinasyonların stromal tümör kanserleri veya katı tümör kanserleri gibi kanserlerin tedavisi için kullanılacağını gösteren bir etiket içeren mamul ürünler sağlanmaktadır. Örnek mamul ürünler, tek hazneli veya çift hazneli kaplar dahil, kaplardır.

10 Kaplara, sınırlayıcı olmaksızın, tüpler, şişeler ve şırıngalar dahildir. Kaplar ayrıca subkutan uygulama için bir iğne içerebilir.

Bir örnekte, mamul ürün anti-hiyalüronan maddesi, örneğin polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan içeren ve başka madde veya tedavi içermeyen bir farmasötik bileşim içerir. Bir başka örnekte, mamul ürün anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, 15 tümör-güdümlü taksan ve bir başka kemoterapi maddesi (ör., nükleosid analogu) içeren farmasötik bileşimler içerir. Bu örnekte, maddeler mamul ürünler olarak paketlenmek üzere birlikte veya ayrı ayrı bir şekilde sağlanabilir.

Burada sağlanan mamul ürünler ambalajlama malzemeleri içerir. Farmasötik ürünlerin ambalajlanmasında kullanıma yönelik ambalajlama malzemeleri teknikte uzman kişilerce 20 iyi bilinmektedir. Bkz., örneğin, ABD Pat. No. 5,323,907, 5,052,558 ve 5,033,252. Farmasötik paketleme malzemelerinin örneklerine, sınırlayıcı olmaksızın, blister paketleri, şişeler, tüpler, inhalatörler, pompalar, keseler, küçük şişeler, kaplar, şırıngalar, şişeler ve seçilen formülasyon ve öngörülen uygulama ve tedavi şekli için uygun herhangi bir paketleme malzemesi dahildir.

25 Paket seçimi maddelere ve bu tip bileşimlerin birlikte mi yoksa ayrı ayrı mı paketleneneğine bağlıdır. Genel olarak, paketleme, içinde barındırdığı bileşimler için reaktif değildir. Bazı örneklerde, bileşenlerin bazıları bir karışım olarak paketlenabilir. Bazı örneklerde, tüm bileşenler ayrı ayrı paketlenir. Dolayısıyla, örneğin, bileşenler, uygulamadan hemen önce karıştırıldığında, birlikte doğrudan uygulanabilen ayrı ayrı

bileşimler olarak paketlenebilir. Alternatif olarak, bileşenler ayrı ayrı uygulama için ayrı ayrı bileşimler olarak paketlenebilir.

Bileşenler bir kap içinde paketlenabilir. Bileşenler aynı kap içinde ayrı ayrı bir şekilde paketlenabilir. Genel olarak, bu tip kapların örneklerine polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimi içeren bir kapalı, sınırlı boşluğa ve diğer bileşenleri veya bileşeni içeren bir ayrı kapalı veya sınırlı boşluğa sahip olanlar dahildir, böylece müteakip alanlar kolayca çıkarılabilen bir membranla ayrılır ve bu membranın çıkarılması bileşenlerin karışmasına veya bileşenlerin ayrı ayrı bir şekilde uygulanmasına olanak sağlar. Maddeler uygulamadan önce diğer bileşenlerden ayrıldığı sürece, herhangi bir kap veya bir başka mamul ürün kapsamaktadır. Uygun düzenlemeler için, bkz., ABD Pat. No. 3,539,794 ve 5,171,081'de açıklanan kaplar.

Mamul ürünler dahil seçilen bileşimler kitler olarak da sağlanabilir. Kitler burada açıklanan bir farmasötik bileşim ve bir mamul ürün olarak sağlanan bir uygulama ögesi içerebilir. Kit isteğe bağlı olarak dozajlar, doz uygulama rejimleri ve uygulama şekilleri için talimatlarını içeren uygulama talimatları içerebilir. Kitler ayrıca burada açıklanan bir farmasötik bileşim ve teşhis için bir öge içerebilir.

## **F. AKTİVİTE, BİYOYARARLANIM VE FARMAKOKİNETİLERİ DEĞERLENDİRME USULLERİ**

Buradaki bileşimlerdeki maddelerin özellikleri ve aktiviteleri değerlendirilebilir. Özellikler ve aktiviteler biyolojik aktivitelerle ve/veya tümörjenik aktivitelerle ilgili olabilir. Analizler *in vitro* veya *in vivo* olarak gerçekleştirilebilir. Bu tip analizler, sınırlayıcı olmaksızın, doku veya tümör biyopsilerinde hiyalüronan veya plazmada çözünebilir hiyalüronan miktarlarının ölçümünü, kan veya idrardaki hiyalüronan katabolitlerinin ölçümlerini, plazmada hiyalüronidaz aktivitesinin ölçümlerini veya tümörlerdeki interstisyel sıvı basıncı, vasküler hacim veya su içeriği ölçümlerini içerebilir. Analizler doz ve uygulama şekli etkileri dahil, maddelerin etkilerini değerlendirmek için kullanılabilir.

## 1. *In Vitro* Analizler

### a. Bir Hiyalüronan Parçalayan Enzimin Hiyalüronidaz Aktivitesi

Hiyalüronan parçalayan enzimin aktivitesi teknikte iyi bilinen usuller kullanılarak değerlendirilebilir. Örneğin, hiyalüronidaz için USP XXII analizi aktiviteyi dolaylı olarak, enzimin hiyalüronik asit veya hiyalüronan (HA) ile 30 dakika süreyle 37 °C'de tepkimeye girmesine izin verildikten sonra tepkimemiş HA miktarını ölçerek belirler (USP XXII-NF XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, MD). Herhangi bir hiyalüronidazın aktivitesinin, birim cinsinden, belirlenmesine yönelik bir analizde bir Hiyalüronidaz Referans Standardı (USP) veya Ulusal İlaç Rehberi (NF) Standart Hiyalüronidaz çözeltisi kullanılabilir. Bir örnekte, aktivite bir mikro-bulanıklık analizi kullanılarak ölçülür. Bu, hiyalüronik asit serum albüminine bağlandığında bir çözünmeyen çökelti oluşmasına dayanır. Aktivite, hiyalüronidazın belirli bir zaman periyodu (ör., 10 dakika) boyunca sodyum hiyalüronat (hiyalüronik asit) ile enkübe edilmesi ve daha sonra sindirilmemiş sodyum hiyalüronatın asitleştirilmiş serum albümini eklenerek çöktürülmesiyle ölçülür. Oluşan numunenin bulanıklığı bir ek gelişme periyodundan sonra 640 nm'de ölçülür. Sodyum hiyaluronat substratı üzerinde hiyalüronidaz aktivitesinden kaynaklanan bulanıklıktaki azalma hiyalüronidaz enzimi aktivitesinin bir ölçüsüdür. Bir başka örnekte, hiyalüronidaz aktivitesi, hiyalüronidazla enkübasyondan sonra kalıntı biyotinlenmiş hiyalüronik asidin ölçüldüğü bir mikrotitre analizi kullanılarak ölçülür (bkz., ör., Frost ve Stern (1997) Anal. Biochem. 251:263-269, ABD Pat. Yayın No. 20050260186). Hiyalüronik asitteki glükuronik asit kalıntıları üzerindeki serbest karboksil grupları biyotinlenir ve biyotinlenmiş hiyalüronik asit substratı kovalent olarak bir mikrotitre plakasına bağlanır. Hiyalüronidazla enkübasyondan sonra, kalıntı biyotinlenmiş hiyalüronik asit substratı bir avidin-peroksidaz tepkimesi kullanılarak tespit edilir ve bilinen aktiviteye sahip hiyalüronidaz standartlarıyla tepkimeden sonra elde edilenle karşılaştırılır. Teknikte hiyalüronidaz aktivitesini ölçmek için başka analizler de bilinmektedir ve bunlar buradaki usullerde kullanılabilir (bkz., ör., Delpech vd., (1995) Anal. Biochem. 229:35-41; Takahashi vd., (2003) Anal. Biochem. 322:257-263).

Bir modifiye edilmiş çözünebilen hiyalüronidaz (ör., PEG'lenmiş rHuPH20) gibi bir hiyalüronan parçalayan enzimin bir yayıcı veya dağıtıcı madde olarak görev yapma



kabiliyeti de değerlendirilebilir. Örneğin, tüysüz farelerin her bir yanındaki yan deriye örneğin subkutan veya intradermal olarak, bir hiyalüronan parçalayan enzimle veya bu olmadan tripan mavi boyası enjekte edilebilir. Daha sonra boya alanının örneğin bir mikro-kumpasla ölçülmesiyle hiyalüronan parçalayan enzimin bir yayıcı madde olarak görev yapma kabiliyeti belirlenir (bkz., ör., ABD Yayınlanmış Patenti No. 20060104968). Bir hiyalüronidaz gibi bir hiyalüronan parçalayan enzimin bir kemoterapi maddesi gibi bir başka maddeyle birlikte uygulanmasının bu maddenin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri üzerindeki etkisi de *in vivo* olarak örneğin yukarıda açıklandığı ve aşağıda Örnek 1'de gösterildiği gibi bir klinik deneme ortamında hayvan modeli ve/veya insan hastalar kullanılarak değerlendirilebilir. Bir hiyalüronidaz olmayan bir hiyalüronan parçalayan enzimin fonksiyonel aktivitesi bu analizlerin herhangi biri kullanılarak bir hiyalüronidazla karşılaştırılabilir. Bu, bir hiyalüronan parçalayan enzimin fonksiyonel olarak eşdeğer bir miktarının belirlenmesiyle gerçekleştirilebilir. Örneğin, bir hiyalüronan parçalayan enzimin bir yayıcı veya dağıtıcı madde olarak görev yapma kabiliyeti fare yan derisine tripan mavisıyla enjekte edilmesiyle (ör., subkutan veya intradermal olarak) değerlendirilebilir ve aynı yayılma miktarını elde etmek için gereken miktar, örneğin, 100 birim bir Hiyalüronidaz Referans Standardı olarak belirlenebilir. Dolayısıyla, gereken hiyalüronan parçalayan enzim miktarı fonksiyonel olarak 100 hiyalüronidaz birimine eşittir. Örneğin bir tümörde, bir modifiye edilmiş hiyalüronidaz gibi bir modifiye edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin hidrolük iletkenliği (K) de, bir modifiye edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim terkininin aktivitesini değerlendirmek için ölçülebilir.

Peg'lenmiş hiyalüronidaz dahil bir modifiye edilmiş hiyalüronidaz gibi bir modifiye edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin yukarıda açıklanan hiyalüronanla ilişkili hastalıklar ve rahatsızlıklarla ilişkili işaretlerin herhangi biri veya daha fazlasını veya herhangi bir başka ilişkili işaret veya fenotipi etkileme kabiliyeti yukarıda açıklanan analizlerin herhangi biri veya daha fazlası kullanılarak değerlendirilebilir. Örneğin, bir modifiye edilmiş hiyalüronidaz gibi bir modifiye edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin hiyalüronan seviyelerini veya içeriğini, haloların oluşması veya boyutunu, interstisyel sıvı basıncını, su içeriğini ve/veya damar hacmini azaltma kabiliyeti yukarıdaki *in vitro*, *ex vivo* ve/veya *in vivo* analizlerin herhangi biri veya daha fazlası kullanılarak değerlendirilebilir. Bir örnekte, bir modifiye edilmiş hiyalüronidaz bir tümörü olan bir

hastaya veya uygun bir hayvan modeline uygulanabilir ve hiyalüronan seviyeleri, haloların oluşması ve boyutu, interstisyel sıvı basıncı, su içeriği ve/veya damar hacmi üzerindeki etki değerlendirilebilir ve modifiye edilmiş hiyalüronidaz uygulanmamış olan hastalar veya hayvan modelleriyle karşılaştırılabilir. Bazı örneklerde, modifiye edilmiş  
5 hiyalüronidaz bir kemoterapi maddesi gibi bir başka maddeyle uygulanabilir.

HA sentezi veya parçalanması üzerindeki etkiler dahil hiyalüronidaz aktivitesini değerlendirmek için çeşitli başka analizler teknikte uzman kişilerce bilinmektedir ve bunlara sınırlayıcı olmaksızın burada açıklananlar veya teknikte bilinenler, örneğin, hiyalüronan parçalanmasını ölçen *in vitro* analizler (bkz., ör., Frost ve Stern (1997) Anal. Biochem. 251:263-269), örneğin bir HA bağlayıcı protein veya bir başka anti-HA tepkime maddesi kullanarak HA için doku veya başka numunelerin boyanması (bkz., ör., Nishida vd. (1999) J. Biol. Chem., 274:21893-21899), tanecik ayırma analizi (Nishida vd., 1999; Morohashi vd. (2006) Biochem Biophys. Res. Comm., 345:1454-1459); bir *has* geni için HAS mRNA ekspresyonunun ölçülmesi veya değerlendirilmesi (Nishida  
10 vd., 1999) dahildir.

#### **b. Taksan Aktivitesi**

Tübülün birleşmesini inhibe etmek için arzu edilen bir biyolojik aktiviteye sahip olanları belirlemek için bileşikler test etmek için standart fizyolojik, farmakolojik ve biyokimyasal prosedürler mevcuttur. Sitotoksiste ve tübülün polimerizasyonu gibi  
20 biyolojik aktiviteyi değerlendirmek için *in vitro* ve *in vivo* analizler kullanılabilir (bkz., ör., Hidaka vd. (2012) Biosci. Biotechnol. Biochem., 76:349-352).

Örneğin, burada sağlanan taksan bileşikler bir mikrotübül stabilizasyonu analizinde test edilebilir (Barron vd., (2003) Anal. Biochem., 315:49-56). Tübülün birleşmesi veya bunun inhibisyonu bir absorbans veya floresan biçiminde bir tübülün polimerizasyonu analizinde  
25 izlenebilir. Örneğin, bir optik yoğunluk bazlı tübülün polimerizasyonu analizi kullanılabilir, çünkü bir mikrotübül polimerinin konsantrasyonu mikrotübülleri tarafından saçılan ışık miktarıyla orantılıdır. Bu tip bir analizin örneği Tübülün polimerizasyonu HTS Analizidir (Katalog No. BK004P veya BK006P; Cytoskeleton, Denver, CO). Mikrotübüllere bir floresan raportörün eklenmesi sayesinde  
30 polimerizasyonun floresan artışıyla izlendiği bir floresan bazlı analiz de kullanılabilir

(Katalog No. BK011P, Cytoskeleton, Denver). Bu tip analizlerde, t b lin paklitaksel, vinblastin veya doseletaksel gibi bir taksan bileŒiđi ile enkübe edilebilir ve polimerizasyon zaman içinde  l ulebilir. Örneğin, bir floresan analizinde, 360 nm'de uyarma ve 420 nm'de emisyonla floresandaki deđiŒimler izlenerek polimerizasyon 5  l ulebilir. T b lin birleŒimi ayrıca yaklaŒık olarak 350 nm'deki görünen absorpsiyona eŒit olan ıŒık saçılmasıyla da izlenebilir. Analizde, topaklaŒmayı önlemek için genellikle b y kbaŒ hayvan serum albümini (BSA) kullanılır. Ayrıca, sinyal:gürültü oranını arttırmak için bir t b lin polimerizasyonu arttırıcısı olan gliserol kullanılmaz. Bir kontrol olarak, mikrotübül destabilize edici ilaç olan, t b lini stabilize eden ve 10 depolimerizasyonu etkilemeyen vinblastin kullanılır.

### c. Antikanser Aktivitesi

Hiyalüronan parçalayan enzim, tümör-güdümlü taksan ve/veya diğer kemoterapi maddesi ( r., nükleosid analoğu) dahil burada açıklanan bileŒikler ve maddelerin ve bunların formülasyonlarının antikanser aktivitesi, örneğin, bir kanser h creti kültürünün türevle 15 enkübe edilmesi ve daha sonra kültürdeki hücre büyümesi inhibisyonunun değerlendirilmesiyle *in vitro* olarak incelenebilir. Bu tip testler için uygun hücelere fare P388 lösemi, B16 melanom ve Lewis akciğer kanseri hücrelerini yanı sıra insan meme MCF7, yumurtalık OVCAR-3, A549 akciğer kanseri hücreleri, MX-1 (insan meme tümörü h creti), HT29 (kolon kanseri h creti hattı), HepG2 (karaciğer kanseri h creti 20 hattı) ve HCT116 (kolon kanseri h creti hatları) dahildir.

### 2. *In Vivo* Hayvan Modelleri

Burada sağlanan bileŒimler veya kombinasyonların hiyalüronan seviyesi veya içeriği, interstisyal sıvı basıncı, su içeriği, damar hacmi ve tümör boyutu, hacmi ve büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için hayvan modelleri kullanılabilir. Ek olarak, 25 bileŒimler veya kombinasyonların farmakokinetiklerini veya tolere edilebilirliğini değerlendirmek için hayvan modelleri kullanılabilir.

Hayvan modellerine, sınırlayıcı olmaksızın, fareler, sıçanlar, tavŒanlar, köpekler, gine domuzları ve insan olmayan primat modelleri, örneğin *sinomolgus* maymunları veya rhesus makakları dahildir. Hayvan modellerine genetik modellerin yanı sıra ksenogref 30 modelleri dahildir. Örneğin, ksenogref modellerine, maddelerin test edilmesinden önce,

uygun test hayvanlarında, ör., tüysüz farelerde tümörlerin oluşturulabildiği modeller dahildir. Bazı örneklerde, bağışıklık eksikliği olan farelere, örneğin tüysüz fareler veya SCID farelerine bu kanserin bir hayvan modelini oluşturmak için örneğin bir hiyalüronanla ilişkili kanserden bir tümör hücresi hattı nakledilir. Hiyalüronanla ilişkili

5 kanserlerden olanlar dahil örnek hücre hatlarına, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: PC3 prostat karsinom hücreleri, BxPC-3 pankreas adenokarsinom hücreleri, MDA-MB-231 meme karsinom hücreleri, MCF-7 meme tümörü hücreleri, BT474 meme tümörü hücreleri, Tramp C2 prostat tümörü hücreleri ve Mat-LyLu prostat kanseri hücreleri ve burada açıklanan hiyalüronanla ilişkili olan, ör., yüksek seviyelerde hiyalüronan içeren

10 diğer hücre hatları. Bir örnek pankreas kanseri hayvan tümör modeli BxPC-3 pankreas adenokarsinom hücreleri kullanılarak hayvanlarda tümörlerin oluşturulmasını içerir (bkz., ör. Von Hoff vd. (2011) J. Clin. Oncol., 29:4548-54).

Hayvanlardaki, tümör oluşumuna neden olacak şekilde bir veya daha fazla genin çıkarıldığı genetik modeller de kullanılabilir. Bu tip genetik olarak işlenmiş fare modelleri

15 (GEMM) hastalığın moleküler ve klinik özelliklerini sergileyebilir. Örneğin, bir örnek pankreas kanseri genetik modeli endojen mutantların, *Kras* ve *Trp53* alelleri, pankreasa özel ekspresyonunu içerir, bu da bir fenotip eksikliği sergileyen mutant fareler oluşturur (KPC fareleri olarak adlandırılır; LSL-*Kras*<sup>G12D</sup>, LSL-*Trp53*<sup>R172H</sup>, Pdx-1-Cre). KPC farelerinde nükleosid analogu gempitabine karşı direnç dahil insan hastalığına benzer

20 özellikler sergileyen birincil pankreas tümörleri oluşur (bkz., ör., Frese vd. (2012) Cancer Discovery, 2:260-269).

Burada sağlanan bileşimler veya kombinasyonlar hastalık üzerindeki etkileri değerlendirmek için farelere uygulanabilir. Örneğin, hiyalüronan seviyeleri değerlendirilebilir veya ölçülebilir. Bir başka örnekte, tümör büyümesi veya tümör

25 hücresi inhibisyonu üzerindeki etkiler değerlendirilebilir. Örneğin, ED<sub>50</sub> değerleri, yani, hayvanda tümör büyümesini %50 inhibe etmek için gereken madde miktarı belirlenebilir. Hayatta kalma oranları da belirlenebilir.

### 3. Farmakokinetikler ve tolere edilebilirlik

Burada sağlanan kombinasyonlar ve bileşimlerin etkisini değerlendirmek için,

30 farmakokinetik ve tolere edilebilirlik çalışmaları hayvan modelleri kullanılarak

gerçekleştirilebilir veya hastalarla klinik çalışmalar sırasında gerçekleştirilebilir. Hayvan modellerine, sınırlayıcı olmaksızın, fareler, sıçanlar, tavşanlar, köpekler, gine domuzları ve insan olmayan primat modelleri, örneğin sinomolgus maymunları veya rhesus makakları dahildir. Bazı örneklerde, farmakokinetik ve tolere edilebilirlik çalışmaları sağlıklı hayvanlar kullanılarak gerçekleştirilir. Bazı örneklerde, çalışmalar kanserin hayvan modelleri gibi buradaki bir kombinasyon veya bileşimle terapisi düşünülen bir hastalığın hayvan modelleri kullanılarak gerçekleştirilir.

Burada sağlanan kombinasyonlar veya bileşimlerin farmakokinetik özellikleri uygulamadan sonra müteakiben verilenler gibi parametrelerin ölçülmesiyle değerlendirilebilir: maksimum (en yüksek) kemoterapi maddesi konsantrasyonu ( $C_{maks}$ ), tepe noktası zamanı (yani, maksimum kemoterapi maddesi konsantrasyonunun gerçekleştiği zaman;  $T_{maks}$ ), minimum kemoterapi maddesi konsantrasyonu (yani, kemoterapi maddesi dozları arasındaki minimum konsantrasyon;  $C_{min}$ ), eliminasyon yarılanma süresi ( $T_{1/2}$ ) ve eğrinin altındaki alan (yani, zamana karşı konsantrasyon grafiğiyle oluşturulan eğrinin altındaki alan). Kemoterapi maddesinin subkutan olarak uygulandığı durumlarda, maddenin mutlak biyoyararlanımı subkutan uygulamadan sonra kemoterapi maddesinin eğrisinin altındaki alanın ( $AUC_{sc}$ ) intravenöz uygulamadan sonra kemoterapi maddesinin AUC'si ( $AUC_{iv}$ ) ile karşılaştırılmasıyla belirlenir. Mutlak biyoyararlanım (F),  $F = ([AUC]_{sc} \times doz_{sc}) / ([AUC]_{iv} \times doz_{iv})$  formülü kullanılarak hesaplanabilir. Subkutan uygulamadan sonra plazmadaki kemoterapi maddesi konsantrasyonu, kan numunelerinde kemoterapi maddesinin konsantrasyonunun değerlendirilmesi için uygun teknikte bilinen herhangi bir usul kullanılarak ölçülebilir.

Birlikte uygulanan maddenin (ör., nükleosid analogu) yüksek veya düşük konsantrasyonlarının etkisini değerlendirmek için, farmakokinetik çalışmalarda doz aralıkları ve farklı doz uygulama sıklığı uygulanabilir. Biyoyararlanım gibi subkutan olarak uygulanan kemoterapi maddesinin farmakokinetik özellikleri ayrıca polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksan ile birlikte uygulanarak veya bunlar olmadan değerlendirilebilir. Örneğin, köpeklere, ör., tazılara, polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksan ile kombinasyon halinde veya tek başına bir veya daha fazla uygulama yolu kullanılarak bir kemoterapi maddesi (ör., gemsitabin gibi nükleosid analogu) uygulanabilir. Bu tip

çalışmalar, bir hiyalüronidaz gibi bir anti-hiyalüronan maddesiyle birlikte uygulamanın kemoterapi maddelerinin biyoyararlanım gibi farmakokinetik özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için gerçekleştirilebilir.

Güvenlik ve tolere edilebilirliği değerlendirme çalışmaları da teknikte bilinmektedir ve burada kullanılabilir. Buradaki kombinasyon ve bileşimlerin uygulanmasının ardından, her türlü olumsuz reaksiyonun gelişimi izlenebilir. Olumsuz reaksiyonlara, sınırlayıcı olmaksızın, enjeksiyon bölgesi reaksiyonları, örneğin ödem veya şişme, baş ağrısı, ateş, yorgunluk, üşüme, ateş basması, baş dönmesi, ürtiker, hırıltı veya göğüs sıkışması, bulantı, kusma, ürperme, sırt ağrısı, göğüs ağrısı, kas krampları, nöbetler veya kasılmalar, kan basıncı değişiklikleri ve anafilaktik veya ciddi aşırı-duyarlılık tepkileri dahildir. Tipik olarak, kemoterapi maddesi ve/veya anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın dozdaki yüksek veya düşük konsantrasyonlarının etkisini değerlendirmek için, güvenlik ve tolere edilebilirlik çalışmalarında doz aralıkları ve farklı doz uygulama sıklığı uygulanabilir.

## 15 **G. KOMBİNASYON TERAPİSİ USULLERİ VE KULLANIMLARI**

Burada sağlanan kombinasyonlar ve bileşimler kanserleri ve özellikle katı tümör kanserlerinin tedavisine yönelik terapi usullerinde kullanılabilir. Usullerde, bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim (ör., bir hiyalüronidaz, örneğin bir PH20, ör., PEGPH20) ve bir taksan formülasyonunun (ör., bir albümine bağlı taksan formülasyonu) bir kombinasyon terapisi bir katı tümörü olan bir hastaya uygulanır. Bazı örneklerde, bir başka nükleosid analogu madde ve özellikle katı tümörler için bir tedavi olan ve/veya deaminasyonla inhibisyona duyarlı olan bir nükleosid analogu madde (ör., gemitabin veya bunun türevi) de uygulanabilir. Burada olduğu gibi, bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve bir taksan formülasyonu ile bir kombinasyon rejiminde, bir nükleosid analogunun intratümör miktarı ve dolayısıyla sitotoksik etkileri, nükleosid analogunun maddelerin sadece biriyle (yani, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim veya taksan formülasyonu) birlikte uygulandığındaki etkilerden çok daha yüksektir. Örneğin, etkiler sinerjistik olabilir. Burada sağlanan kombinasyon terapisinde gözlemlenen nükleosid analogu intratümör aktivitesi miktarı ve seviyesi, mevcut tedavi

rejimlerini aşan yüksek etkinlik ve hayatta kalma dahil, mevcut terapilerle şimdiye kadar elde edilemeyen sonuçlar sağlar.

### 1. Kanserler

Bir anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, taksan formülasyonu ve/veya bir nükleosid analogunun kombinasyon terapisi kanser hücreleri, neoplazmalar, tümörler ve metastazların tedavisi için kullanılabilir. Burada sağlanan kombinasyon terapisi anti-tümör etkinliği sergiler ve tümör büyümesinde bir yavaşlama veya azalma, tümör hacminde bir düşüş ve bazı vakalarda tümörün eliminasyonu veya yok edilmesini sağlar. Kombinasyon terapisi, bir tekli veya ikili kombinasyon terapisi olarak aynı maddelerle tedavi edilen hastalara kıyasla, hastaların hayatta kalma süresinde artış sağlar. Tedavisi zor olan pankreas kanseri gibi kanserler için kombinasyon terapisi mevcut usullere kıyasla önemli faydalar sağlar.

Örneğin, kombinasyon terapisi akciğer ve bronş, meme, kolon ve rektum, böbrek, mide, özafagus, karaciğer ve intrahepatik safra kanalı, idrar kesesi, beyin ve diğer sinir sistemi, baş ve boyun, ağız boşluğu ve gırtlak, serviks, uterine corpus, tiroit, yumurtalık, testis, prostat, habis melanom, kolanjiyokarsinom, timom, melanom olmayan deri kanserlerindeki gibi bir katı tümörün yanı sıra hematolojik tümörleri ve/veya habislikleri, örneğin çocukluk lösemisi ve lenfomları, multipl miyelom, Hodgkin hastalığı, lenfositik ve kütanöz menşeli lenfomlar, akut ve kronik lösemi, örneğin akut lenfoblastik, akut miyelositik veya kronik miyelositik lösemi, plazma hücresi neoplazması, lenfoid neoplazması ve AIDS ile ilişkili kanserleri tedavi etmek için kullanılabilir. Tipik olarak, kombinasyon terapisi katı tümörlerin, örneğin katı tümörlü stroma kanserlerinin tedavisi için kullanılır. Örnek tümörlere, örneğin, pankreas tümörleri, yumurtalık tümörleri, akciğer tümörleri, kolon tümörleri, prostat tümörleri, serviks tümörleri ve meme tümörleri dahildir.

Kanserler, özellikle, bir hiyalüronan parçalayan enzim gibi bir anti-hiyalüronan maddesiyle hedefleme için uygun olan hiyalüronan bakımından zengin kanserler olabilir. Çeşitli hiyalüronan bakımından zengin kanserler belirlenmiştir. Hiyalüronan bakımından zengin tümörlere, sınırlayıcı olmaksızın, prostat, meme, kolon, yumurtalık, mide, baş ve boyun ve diğer tümörler ve kanserler dahildir. Bazı durumlarda, hiyalüronan seviyeleri

kötü prognozla, örneğin düşük hayatta kalma oranı ve/veya nüksetme olmadan hayatta kalma oranı, metastazlar, anjiyogenez, diğer dokulara/alanlara saldıran kanser hücresi ve diğer kötü prognoz göstergeleriyle korelasyon gösterir. Bu tip korelasyon, örneğin, yumurtalık kanseri, SCC, ISC, prostat kanseri, akciğer kanseri, örneğin küçük hücreli  
 5 olmayan akciğer kanseri (NSCLC), meme kanseri, kolon kanseri ve pankreas kanseri dahil hiyalüronan bakımından zengin türevlerde gözlemlenmektedir (bkz., örneğin Anttila vd., (2000) *Cancer Research*, 60:150-155; Karvinen vd., (2003) *British Journal of Dermatology*, 148:86-94; Lipponen vd., (2001) *Eur. Journal of Cancer*, 849-856; Pirinen vd., (2001) *Int. J. Cancer*: 95: 12-17; Auvinen vd., (2000) *American Journal of Pathology*,  
 10 156(2):529-536; Ropponen vd., (1998) *Cancer Research*, 58: 342-347). Dolayısıyla, hiyalüronan bakımından zengin kanserler, kanserin bir veya daha fazla semptomunu tedavi etmek için, bir hiyalüronidaz gibi bir anti-hiyalüronan maddesi uygulanarak tedavi edilebilir.

Hiyalüronan bakımından zengin kanserleri tedavi etme örneklerinde, bir hiyalüronan  
 15 parçalayan enzim gibi anti-hiyalüronan maddesi kendi başına bir terapötik madde olarak görev yapabilir ve/veya diğer birlikte uygulanan veya kombinasyon terapilerinin aktivitesini geliştirebilir. Örneğin, hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzimler, tümörlere enjekte edildiklerinde doğrudan antikarsinojenik etkilere sahiptir. Hiyalüronidaz farelere nakledilen tümörlerin büyümesini önler (De Maeyer vd., (1992)  
 20 *Int. J. Cancer* 51:657-660) ve karsinojenlere maruz kalındığında tümör oluşmasını inhibe eder (Pawlowski vd. (1979) *Int. J. Cancer* 23:105-109). Hiyalüronidaz beyin kanserinin (gliyomlar) tedavisinde tek terapötik madde olarak etkilidir (bkz., Uluslararası Pat. Yayını WO198802261).

Hiyalüronidazlar dahil hiyalüronan parçalayan enzimler gibi anti-hiyalüronan maddeleri  
 25 ayrıca kemoterapi maddelerinin tümörlere iletimini arttırmak için de kullanılabilir. Hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin, bir veya daha fazla başka kemoterapi maddesi veya başka anti-kanser maddesi veya tedavi (ör., bir taksan formülasyonu ile tedavi ve/veya bir nükleosid analoguyla tedavi) ile kombinasyon halinde, eşzamanlı olarak veya bunlardan önce, uygulanabilir. Bazı durumlarda, enzimler geleneksel kemoterapiye  
 30 dirençli olan tümörlerin duyarlılığını arttırabilir. Örneğin, rHuPH20 gibi hiyalüronidazlar dahil hiyalüronan parçalayan enzimler bir hastaya tümör bölgesi çevresindeki difüzyonu



arttırmak (ör., tümör bölgesinde ve civarında kemoterapi maddelerinin dolaşımını ve/veya konsantrasyonunu arttırmak için), örneğin hiyalüronik asit parçalamayla tümör hücreleri hareketliliğini inhibe etmek ve/veya tümör hücreleri apoptoz eşiğini düşürmek için etkili bir miktarda uygulanabilir. Bu, tümör hücrelerini/hücrelerini, tümör hücrelerinin kemoterapi maddelerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği bir anoikis durumuna getirebilir. Bir hiyalüronidaz gibi bir hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanması ayrıca önceden kemoterapi dirençli olan pankreas, mide, kolon, yumurtalık ve meme tümörlerinde tedaviye cevap verme tetikleyebilir (Baumgartner vd. (1988) Reg. Cancer Treat. 1:55-58; Zanker vd. (1986) Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 27:390). Bir hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzim tipik olarak kemoterapi veya diğer anti-kanser maddelerinin katı tümörlere nüfuz etmesini artırır, böylece hastalığı tedavi eder.

### **Tedavi İçin Hastaların Seçimi**

Usuller, tedavi için bir hiyalüronanla ilişkili tümör veya kanseri olan hastaların seçilmesi için aşamalar içerir. Bu tip usullere, bir hastanın bir hiyalüronanla ilişkili hastalığı olduğuna dair, hastanın bir hiyalüronan parçalayan enzim gibi bir anti-hiyalüronan maddesiyle tedaviye cevap verme olasılığı olduğuna dair ve/veya bir doku, hücre veya sıvı gibi hastanın bir numunesinin yüksek hiyalüronan ekspresyonu içerdiğine dair herhangi bir işaret dahil, hiyalüronanla ilişkili hastalık işaretlerinin tespit edilmesine yönelik usuller dahildir. İşaretlerin tespit edilmesine yönelik örnek analizler aşağıda açıklanmaktadır ve bunlara bir hastanın bir numunesindeki HA seviyesi ve/veya nispi HA seviyelerinin ölçülmesine yönelik analizler, hiyalüronan parçalayan enzimlerin hastanın bir numunesi üzerindeki etkilerinin analiz edilmesine yönelik analizler ve düşük hiyalüronidaz ekspresyonu veya aktivitesi, yüksek interstisyel sıvı basıncı, damar hacmi ve su içeriği gibi belirli hiyalüronanla ilişkili hastalık/rahatsızlıklarla tipik olarak ilişkili olan okumaların ölçülmesine yönelik analizler dahildir. Genel olarak, hastaların numunelerindeki proteinlerin ve/veya nükleik asitlerin tespitine veya *in vitro* olarak tedavinin hücreler/dokular üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesine yönelik herhangi bir bilinen analiz kullanılabilir.

Burada sağlanan usullerde tedavi için seçilen hastalara, hastalığı veya rahatsızlığı olmayan hastalara kıyasla veya normal dokulara yüksek, anormal veya birikmiş HA ekspresyonu olmayan numunelere kıyasla, yüksek, anormal veya birikmiş hiyalüronan

seviyeleri olan hastalar dahildir. Bir hastanın herhangi bir numunesi veya dokusu test edilebilir ve bir normal numune veya dokuyla karşılaştırılabilir. Hiyalüronan seviyeleri herhangi bir kaynaktan, örneğin bir doku (ör., biyopsiyle), tümör, hücreler veya kan, serum, idrar veya diğer vücut sıvılarından ölçülebilir. Örneğin, burada açıklandığı gibi, 5 katı tümörlerdeki HA birikmesi profilleri genel olarak hücre çevresinde (periselüler) veya stromal olarak sınıflandırılmaktadır. Yüksek plazma HA seviyeleri Wilm tümörü, mezotelyom ve karaciğer metastazları olan hastalarda en belirgin şekilde gözlemlenmektedir. Dolayısıyla, hastalığa veya rahatsızlığa bağlı olarak, hiyalüronan seviyeleri için farklı bir numune ölçülebilir. Numune seçimi teknikte uzman kişilerin bilgi 10 seviyesi dahilindedir.

Hiyalüronidaz substratı seviyelerini ölçmek için kullanılan analiz hastalık veya rahatsızlığın bir fonksiyonudur ve özel hastalık veya rahatsızlığa göre seçilebilir. Teknikte uzman kişiler, sınırlayıcı olmaksızın, imminohistokimya usulleri ve ELISA usulleri dahil, hiyalüronan tespit edilmesine yönelik usullere aşinadır.

15 Bir örnekte, işaretleri tespit etme aşaması, örneğin, hastanın bir hiyalüronan parçalayan enzimle tedavi için uygun olan bir hiyalüronanla ilişkili rahatsızlık veya hastalığa sahip olup olmadığını belirlemek için, bir hastanın tedavi edilmesinden önce gerçekleştirilir. Bu örnekte, işaret tespit edildiği takdirde (ör., hastanın bir hücre, doku veya sıvısının yüksek hiyalüronan ekspresyonu içerdiği veya hiyalüronan parçalayan enzime cevap 20 verdiği belirlendiği takdirde), hastaya bir hiyalüronan parçalayan enzimin uygulandığı bir tedavi aşaması gerçekleştirilir. Bir örnekte, işaret tespit edilmediğinde (ör., hastanın bir hücre, doku veya sıvısının normal veya yüksek olmayan hiyalüronan ekspresyonu içerdiği veya hiyalüronan parçalayan enzime cevap vermediği belirlendiği takdirde), bir başka tedavi seçeneği seçilebilir.

25 Bir başka örnekte, işaretleri tespit etme aşaması, örneğin, anti-hiyalüronan maddesiyle tedavinin hastalık veya rahatsızlığın tedavisi üzerinde bir etkiye sahip olup olmadığını belirlemek için bir hastanın tedavisinden sonra veya hastanın tedavi süreci sırasında (ör., hiyalüronan parçalayan enzim (ör., çözünebilen modifiye edilmiş hiyalüronidaz) gibi anti-hiyalüronan maddesiyle tedavi (bir birlikte uygulanan maddeyle veya bu olmadan)) 30 gerçekleştirilir. Bu tip bir örnekte, işaret tespit edilmediği veya tedavi öncesindeki miktar/seviyeye kıyasla veya bir başka numuneye kıyasla düşük olan bir miktar veya nispi

seviyede tespit edildiği takdirde, tedaviye devam edilir, bir tur daha tedavi gerçekleştirilir veya bir başka tedavi, bir kombinasyon terapisi başlatılır. Bu tip bir başka örnekte, işaret tedavi öncesindekiyle veya bir başka örnekle aynı seviyede tespit edildiği takdirde, bir başka tedavi seçeneği seçilebilir.

- 5 Hiyalüronanla ilişkili hastalıklar ve rahatsızlıkların işaretlerin tespit edilmesine yönelik analizlere bir hastanın bir dokusu, hücresi ve/veya vücut sıvısındaki, örneğin bir tümördeki hiyalüronan ve/veya hiyalüronidaz ekspresyonu miktarının (ör., nispi miktar) ölçülmesine yönelik analizler dahildir. Bu tip analizlere, örneğin hasta numunelerinde HA ekspresyonu, Hiyalüronan sentaz 1 (HAS1) ekspresyonu, Hiyalüronan sentaz 2 (HAS2) 10 ekspresyonu, Hiyalüronan sentaz 3 (HAS3) ekspresyonu, HALO'ların (hiyalüronan dahil proteoglikanlar bakımından zengin olan hücre çevresindeki matris bölgeleri) mevcudiyeti ve hiyalüronidazlar gibi hiyalüronan parçalayan enzimlerin mevcudiyetini tespit edebilen analizler dahildir.

Protein ve nükleik asit seviyelerinin tespit edilmesine yönelik analizler teknikte iyi 15 bilinmektedir ve hiyalüronan, hiyalüronan sentaz veya diğer protein ve/veya nükleik asit ekspresyonlarını ölçmek için buradaki usullerde kullanılabilir. Bu tip analizlere, sınırlayıcı olmaksızın, ELISA, SDS-PAGE, Western Blot, PCR, RT-PCR, immünohistokimya, histoloji ve akış sitometrisi dahildir. Örneğin, doku veya numunedeki hiyalüronan mevcudiyeti veya miktarını belirlemek için, bir hastanın bir 20 numunesi, örneğin bir doku numunesi (ör., bir hasta veya hayvan modelinin bir tümörünün bir biyopsisi veya bir stroma numunesi), bir sıvı (ör., kan, idrar, plazma, tükürük veya bir başka numune), bir hücre veya hücre numunesi veya ekstraktı veya bir başka numune, örneğin, histolojik boyama, örneğin sabitlenmiş veya dondurulmuş doku kesitlerinde immünohistokimya (IHC), immünofloresan hücre boyama, pull-down 25 analizleri ve akış sitometrisi kullanılarak anti-HA antikorları veya HA bağlayıcı proteinlerle boyanabilir. Bir başka örnekte, numune, ör., biyopsi, HA mRNA miktarını değerlendirmek için RT-PCR ile analiz edilebilir.

Kanserde hiyalüronan ekspresyonunun tespitine yönelik bilinen usullere, sınırlayıcı olmaksızın, mesane kanseri olan hastaların idrar veya mesane dokusu ekstraktlarındaki 30 HA seviyelerinin ölçülmesine yönelik Lokeshwar vd., (1997) *Cancer Res.* 57: 773-777'de açıklanan ELISA benzeri analiz dahildir. Analiz için, idrar veya ekstraktlar mikro-

gözenekli plakalar üzerine kaplanır (bir standart olarak kullanılan göbek bağı HA'sı da kaplanır), ardından burada açıklananlar gibi bir işaretlenmiş (ör., biyotinlenmiş) HA bağlayıcı protein ile enkübe edilir (ör., 16 saat oda sıcaklığı), yıkanır ve gözeneklere bağlanan HA-bağlayıcı proteinin miktarı bir avidin-biyotin tespit maddesi substratı kullanılarak tayin edilir. Bu tip usuller teknikte iyi bilinmektedir. Bir örnekte, HA-ilişkili mesane kanseri olan bir hastanın idrarı normal hastaların (sağlıklı denekler veya başka gastro-üriner hastalıkları veya rahatsızlıkları olan hastalar) idrar/ekstraktlarına kıyasla 2-9 kat yüksek olan HA seviyelerine sahip olmuştur; dolayısıyla idrardaki HA seviyeleri normal deneklere kıyasla yüksek olduğu, ör., normal deneklere kıyasla yaklaşık 2 kat ila yaklaşık 9 kat, ör., yaklaşık 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 veya 9 kat yüksek olduğu takdirde işaret tespit edilir.

Bir başka örnekte, tümör hücrelerindeki *in vitro* hiyalüronan ekspresyonu ve üretimini yukarıda açıklanan usullerin herhangi biri kullanılarak değerlendirilebilir. Benzer şekilde, hücreler tarafından *in vitro*, *ex vivo* veya *in vivo* hiyalüronan sentaz üretimi (ör., HAS1, HAS2 veya HAS3) ve/veya ekspresyonu da, örneğin, ELISA, SDS-PAGE, Western Blot, PCR, RT-PCR, immünohistokimya, histoloji veya akış sitometrisi ile değerlendirilebilir.

Bir başka örnekte, kan veya plazma gibi hastanın bir numunesindeki hiyalüronidaz aktivitesi miktarı örneğin bir bulanıklık analiziyle belirlenir.

Bir başka örnekte, bir hastadan bir hücre veya bir başka doku, ör., bir tümör hücresi izole edilir ve örneğin tedaviye cevap olarak tümör hücreleri gibi hücreler veya dokuların büyümesi, proliferasyonu ve/veya hayatta kalma sürelerini ölçmek için bir klonojenik analiz veya herhangi bir başka analiz kullanılarak hiyalüronan parçalayan enzimle *in vitro* tedaviye hücre veya dokunun cevap verip vermediğini belirlemek için bir çalışmada kullanılır. Örneğin, bir hastanın kanser hücreleri bir hücre-dışı matris veya protein karışımı, örneğin Matrigel® (BD Biosciences) markasıyla satılan karışımın yüzeyi üzerine ekilir. Bu örnekte, hiyalüronanla ilişkili işaret hücre veya dokunun hiyalüronan parçalayan enzim uygulamasına duyarlılığıdır. Bu örnekte, hücrelerin proliferasyonu, büyümesi veya hayatta kalma süresi gibi herhangi bir özelliği hiyalüronan parçalayan enzim eklenmesiyle inhibe edildiği veya bloke edildiği takdirde, hastanın hiyalüronan parçalayan enzim içeren bileşimlerle tedavi için uygun olabileceği belirlenir.

Hiyalüronan ekspresyonu seviyelerinin belirlenmesine yönelik analizlere ek olarak, tedavi için bir hasta seçmek ve/veya tedavi etkinliği ve/veya süresini değerlendirmek için başka analizler kullanılabilir. İnterstisyel sıvı basıncı (IFP) uygun bir prob veya araç kullanılarak ölçülebilir. Örneğin, kanser dokuları veya ilgili diğer dokulardaki IFP'yi 5 ölçmek için dönüştürücü uçlu bir kateter kullanılabilir. İç boşluğundan kateterin geçirildiği bir cerrahi iğne daha sonra tümörün merkezine yerleştirilir. Kateter bu konumda tutulurken iğne geri çekilir. Daha sonra uygun bir veri alma birimi kullanılarak IFP (mmHg) ölçülebilir (Ozerdem vd. (2005) *Microvasc. Res.* 70:116-120). Diğer IFP ölçme usullerine iğne-içi-fitil usulü dahildir (Fadnes vd. (1977) *Microvasc. Res.* 14:27-10 36).

Damar hacmi örneğin ultrasonla görüntüleme kullanılarak ölçülebilir. Bu usulde, tespit edilen güçlü ultrason dalgası yansımaları sağlamak için hiper-ekolu mikro-kabarcıklar kullanılır. Bir hasta veya hayvan modeline örneğin intravenöz olarak enjekte edildiğinde mikro-kabarcıklar boyutları sayesinde damar boşluğu boyunca hareket eder. Doku su 15 içeriğini, örneğin tümör dokusu su içeriğini değerlendirme analizleri de teknikte bilinmektedir. Örneğin, bir tümörün numuneleri alınabilir, blotlanabilir, tartılabilir ve hızla dondurulduktan sonra liyofilize edilebilir. Daha sonra su ağırlığı doku ıslak ağırlığı/kuru (yani liyofilize edilmiş) ağırlığı şeklinde rapor edilir.

Bir tümör hücrelerinin *in vitro* olarak hücre çevresi matrisleri (halolar) oluşturma kabiliyeti 20 bir tanecik ayırma analizi kullanılarak değerlendirilebilir. Küçük tanecikler (formalinle sabitlenmiş kırmızı kan hücreleri) örneğin bir büyük topaklaşan kondroitin sülfat proteoglikanı olan agrekan varlığında düşük yoğunluklu tümör hücresi kültürlerine eklenebilir. Tanecikler çöktükten sonra, kültürlerin 400x büyütme ile izlenmesiyle tümör hücreleri tarafından herhangi bir halo oluşturulup oluşturulmadığı belirlenebilir. Bu, 25 hücrelerin çevresindeki taneciklerin çıkarıldığı alanlar olarak görselleştirilebilir.

Tespit usullerinin herhangi biri için, işaret (ör., HA ekspresyonu, hiyalüronan parçalayan enzime cevap verme, HA-sentaz ekspresyonu veya hiyalüronidaz aktivitesi) tipik olarak, işaretin tespitinin okumanın kontrol numunesine kıyasla yüksek veya düşük olduğunun belirlenmesini içereceği şekilde, bir kontrol numunesiyle karşılaştırılır.

Örneğin, kontrol numunesi bir başka doku, hücre veya vücut sıvısı, örneğin bir normal doku, hücre veya vücut sıvısı, örneğin test edilen numuneye benzer olan, ancak farklı bir

hastadan, örneğin normal olan (yani, bir hastalık veya rahatsızlığı olmayan veya test edilen hastadaki hastalık veya rahatsızlık tipine sahip olmayan) bir hastadan, örneğin bir hiyalüronanla ilişkili hastalık veya rahatsızlığı olmayan bir hastadan izole edilen bir doku, hücre veya vücut sıvısı veya benzer bir hastalık veya rahatsızlığa sahip olan, ancak hastalığı o kadar ciddi olmayan ve/veya hiyalüronanla ilişkili olmayan veya nispeten daha az hiyalüronan eksprese eden ve dolayısıyla daha düşük bir seviyede hiyalüronanla ilişkili olan bir başka hastadan bir benzer doku olabilir. Örneğin, test edilen hücre, doku veya sıvı bir kanseri olan bir hastadan olduğunda, kanseri daha az ciddi olan, örneğin bir erken aşamada, farklılaşmış veya bir başka tip kanseri olan bir hastanın bir dokusu, hücresi veya sıvısı ile karşılaştırılabilir. Bir başka örnekte, kontrol numunesi bilinen bir miktarda veya nispi miktarda HA içeren bir sıvı, doku, ekstrakt (ör., hücre veya çekirdek ekstraktı), nükleik asit veya peptid terkibi, hücre hattı, biyopsi, standart veya bir başka numune, örneğin nispeten düşük seviyelerde HA eksprese ettiği bilinen bir tümör hücresi hattı, örneğin HCT 116 hücre hattı, HT29 hücre hattı, NCI H460 hücre hattı, DU145 hücre hattı, Capan-1 hücre hattı ve bu tip hücre hatları kullanılarak oluşturulan tümör modellerindeki tümörler gibi düşük seviyelerde HA eksprese eden burada açıklanan örnek tümör hücresi hatları gibi bir numune olabilir.

Anlaşılabileceği gibi, özel değişim, örneğin, HA'daki artış veya azalma kullanılan analize bağlıdır. Örneğin, bir ELISA'da, belirli bir dalga boyundaki absorbanstaki veya protein miktarındaki artış veya azalma miktarı (ör., bir standart eğri kullanılarak belirlenen) bir kontrole göre ifade edilebilir. RT-PCR gibi bir PCR analizinde, örneğin standartlar kullanılarak teknikte uzman kişilerce bilinen usuller kullanılarak kontrol ekspresyon seviyeleriyle kıyaslanabilir (ör., değişim oranı olarak ifade edilir).

Örneğin, bir hastanın bir numunesindeki hiyalüronan miktarı test edildiğinde, işaretin tespiti hastanın numunesindeki (ör., kanserli hücre, doku veya sıvı) HA miktarının önceki paragrafta açıklanan bir kontrol numunesi gibi bir kontrol numunesine kıyasla yüksek olduğunun belirlenmesi olabilir. Bir örnekte, bilinen bir miktarda veya nispi miktarda HA içeren bir sıvı, doku, ekstrakt (ör., hücre veya çekirdek ekstraktı), nükleik asit veya peptid terkibi, hücre hattı, biyopsi, standart veya bir başka numune, örneğin nispeten düşük seviyelerde HA eksprese ettiği bilinen bir tümör hücresi hattı, örneğin HCT 116 hücre hattı, HT29 hücre hattı, NCI H460 hücre hattı, DU145 hücre hattı, Capan-1 hücre hattı ve

bu tip hücre hatları kullanılarak oluşturulan tümör modellerindeki tümörler gibi düşük seviyelerde HA eksprese eden burada açıklanan örnek tümör hücresi hatları gibi bir numune olabilen kontrol numunesine kıyasla doku, hücre veya sıvıdaki HA miktarı yaklaşık 0.5-kat, 1-kat, 2-kat, 3-kat, 4-kat, 5-kat, 6-kat, 7-kat, 8-kat, 9-kat, 10-kat, 11-kat, 12-kat, 13-kat, 14-kat, 15-kat, 20-kat veya daha yüksek oranda yüksek olduğu takdirde, kanserin hiyalüronan bakımından zengin bir kanser olduğu belirlenir.

Ek olarak, bu tip usullerde, hücreyle ilişkili hiyalüronan seviyesi düşük, orta veya yüksek şeklinde puanlanabilir. Örneğin, tümör alanının %30, %35, %40, %50, %60, %70, %75, %80, %85, %90 veya daha fazlası kalıcı HA sinyali sergilediği takdirde, HA ekspresyonu yüksek veya orta kabul edilir. Tipik olarak, en azından orta ila yüksek HA'sı olan hastaların tedavisi burada kapsamaktadır.

## 2. Dozaj ve Uygulama

Bir anti-hiyalüronan maddesi, örneğin bir hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksan içeren burada sağlanan kombinasyon terapisi ve isteğe bağlı olarak bir nükleosid analoguyla ek kombinasyon terapötik olarak yararlı bir etki uygulamak için yeterli bir miktarda uygulanır. Tipik olarak, aktif maddeler tedavi edilen hastada istenmeyen yan etkiler oluşturmayan veya yukarıdaki maddelerin biriyle tekli tedavi için gereken dozajlar ve miktarlara kıyasla gözlemlenen yan etkileri en aza indiren veya azaltan bir miktarda uygulanır. Örneğin, burada açıklandığı gibi, bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve bir tümör-güdümlü taksanın kombinasyon terapisinin birlikte uygulanan bir nükleosid analogu, ör., bir gemitabin için yüksek tümör-içi iletim ve yüksek tümör-içi yarılanma ömrü sağladığı bulunmuştur. Dolayısıyla, bilinen teknikteki usuller (ör., gemitabin mono-terapisi veya bir başka maddeyle birlikte ikili terapi) kullanılarak uygulanan bir nükleosid analogunun miktarlarına kıyasla burada sağlanan kombinasyon terapisinde uygulanabilen bir nükleosid analogunun (ör., gemitabin) miktarı düşerken, hemen hemen aynı veya daha iyi terapötik etkinlik elde edilir. Uygulanan daha düşük dozaj sayesinde, nükleosid analogu (ör., gemitabin) uygulamasıyla ilişkili yan etkiler, örneğin bağışıklık bastırılması veya miyelo-bastırılması, azalır, en aza indirilir veya önlenir.

Teknikte uzman kişiler bir hastaya uygulanacak olan anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, tümör-güdümlü taksan ve isteğe bağlı olarak bir nükleosid analogu dahil aktif maddelerin tam miktarlarını belirleyebilir. Örneğin, bu tip maddeler ve kanserler ve katı tümörler gibi hastalıkları ve rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanımları teknikte iyi bilinmektedir. Dolayısıyla, bu tip maddelerin bir bileşim veya kombinasyon terapisindeki dozajları bu madde için belirli bir uygulama şekli altındaki standart doz uygulama rejimlerine göre seçilebilir.

Anlaşılacağı gibi tam doz ve tedavi süresi tedavi edilen doku veya tümörün bir fonksiyonudur ve bilinen test protokolleri kullanılarak veya *in vivo* veya *in vitro* test verilerinden ekstrapolasyonla deney yoluyla belirlenebilir ve/veya özel maddenin bilinen doz uygulama rejimlerinden belirlenebilir. Konsantrasyonlarının ve dozaj değerlerinin tedavi edilen bireyin yaşı, bireyin ağırlığı, uygulama şekli ve/veya hastalığın kapsamı veya ciddiyeti ve uzman tıbbi personel tarafından dikkate alınan diğer faktörlere göre değişebildiği belirtilmelidir. Genel olarak, dozaj rejimleri toksisiteyi sınırlayacak şekilde seçilir. İlgili doktorun toksisite veya kemik iliği, karaciğer veya böbrek veya başka doku fonksiyonu bozukluklarından dolayı terapiyi nasıl ve ne zaman sonlandıracağını, ara vereceğini veya daha düşük dozaja ayarlayacağını bileceği belirtilmelidir. Buna karşılık, ilgili doktor ayrıca klinik cevap yeterli olmadığı takdirde nasıl ve ne zaman tedaviyi daha yüksek seviyelere ayarlayacağını bilecektir (toksik yan etkiler hariç). Yine anlaşılacağı gibi, herhangi bir özel hasta için, özel dozaj rejimleri hastanın ihtiyacına ve uygulama yapan kişinin veya bileşimlerin uygulanmasını denetleyen kişinin profesyonel kanaatine göre zaman içinde ayarlanmalıdır ve burada verilen konsantrasyon aralıkları sadece örnek olarak verilmektedir ve bunların kapsamını ve uygulamasını kısıtlayıcı nitelikte değildir.

Örneğin, bir hiyalüronidaz, örneğin bir PH20 (ör., PEGPH20) gibi polimere konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim tümörle ilişkili hiyalüronanı parçalamak veya bölmek için terapötik olarak etkili bir miktarda uygulanır. Bir kanser veya katı tümör, örneğin bir HA bakımından zengin tümör gibi bir hastalık veya rahatsızlığın tedavisi için uygulanacak olan bir çözünebilir hiyalüronidaz gibi bir hiyalüronan parçalayan enzimin miktarı standart klinik tekniklerle belirlenebilir. Ek olarak, en uygun dozaj aralıklarının belirlenmesine yardımcı olması için *in vitro* analizler ve hayvan modelleri kullanılabilir. Deney yoluyla belirlenebilen tam dozaj özel enzime, uygulama şekline, tedavi edilecek



olan hastalığın tipine ve hastalığın ciddiyetine bağlı olabilir. Örnek dozaj aralığı yaklaşık 50 Birim ila 50,000,000 Birim bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronan parçalayan enzim veya bir polimere konjüğe edilmiş bir başka hiyalüronan parçalayan enzimin fonksiyonel olarak eşdeğer bir miktarıdır. Anlaşılacağı gibi, bir birim aktivite bir standart 5 aktivite, örneğin hiyalüronidaz aktivitesinin analiz edildiği bir mikro-bulanıklık analizinde ölçülen bir aktivite halinde normalleştirilir.

Dolayısıyla, örneğin, bir PEG gibi bir polimere konjüğe edilmiş bir hiyalüronidaz, örneğin bir PH20 gibi bir hiyalüronan parçalayan enzim yaklaşık 10 ila 50,000,000 Birim, 10 ila 40,000,000 Birim, 10 ila 36,000,000 Birim, 10 ila 12,000,000 Birim, 10 ila 10 1,200,000 Birim, 10 ila 1,000,000 Birim, 10 ila 500,000 Birim, 100 ila 100,000 Birim, 500 ila 50,000 Birim, 1000 ila 10,000 Birim, 5000 ila 7500 Birim, 5000 Birim ila 50,000 Birim veya 1,000 ila 10,000 Birim miktarında uygulanabilir. Genel olarak, bir polimere-konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim bir hastaya yaklaşık 0.01 µg/kg ila 25 mg/kg, örneğin 0.0005 mg/kg (0.5 µg/kg) ila 25 mg/kg, 0.5 µg /kg ila 10 mg/kg, 15 0.02 mg/kg ila 1.5 mg/kg, 0.01 µg/kg ila 15 µg/kg, 0.05 µg/kg ila 10 µg/kg, 0.75 µg/kg ila 7.5 µg/kg veya 1.0 µg/kg ila 3.0 µg/kg arasında bir miktarda uygulanır. Polimere-konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ağırlığı tipik olarak yaklaşık 70 kg ila 75 kg olan bir ortalama yetişkin insan hastaya en az veya yaklaşık en az 0.0005 mg/kg (hastanın), 0.0006 mg/kg, 0.0007 mg/kg, 0.0008 mg/kg, 0.0009 mg/kg, 0.001 mg/kg, 20 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, 25 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, 30 23 mg/kg, 24 mg/kg, 25 mg/kg veya daha yüksek bir dozajda uygulanabilir.

Burada sağlanan bir PEG'lenmiş hiyaluronidaz (ör., PEGPH20) gibi bir polimere-konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim uygulama yapılan hastanın kütleesine göre yaklaşık 1 Birim/kg ila 800,000 Birim/kg, örneğin 10 ila 800,000 Birim/kg, 10 ila 750,000 Birim/kg, 10 ila 700,000 Birim/kg, 10 ila 650,000 Birim/kg, 10 ila 600,000 Birim/kg, 10 ila 550,000 Birim/kg, 10 ila 500,000 Birim/kg, 10 ila 450,000 Birim/kg, 10 ila 400,000 Birim/kg, 10 ila 350,000 Birim/kg, 10 ila 320,000 Birim/kg, 10 ila 300,000 Birim/kg, 10 ila 280,000 Birim/kg, 10 ila 260,000 Birim/kg, 10 ila 240,000 Birim/kg, 10 ila 220,000 Birim/kg, 10 ila 200,000 Birim/kg, 10 ila 180,000 Birim/kg, 10 ila 160,000 Birim/kg, 10 ila 140,000 Birim/kg, 10 ila 120,000 Birim/kg, 10 ila 100,000 Birim/kg, 10 ila 80,000 Birim/kg, 10 ila 70,000 Birim/kg, 10 ila 60,000 Birim/kg, 10 ila 50,000 Birim/kg, 10 ila 40,000 Birim/kg, 10 ila 30,000 Birim/kg, 10 ila 20,000 Birim/kg, 10 ila 15,000 Birim/kg, 10 ila 12,800 Birim/kg, 10 ila 10,000 Birim/kg, 10 ila 9,000 Birim/kg, 10 ila 8,000 Birim/kg, 10 ila 7,000 Birim/kg, 10 ila 6,000 Birim/kg, 10 ila 5,000 Birim/kg, 10 ila 4,000 Birim/kg, 10 ila 3,000 Birim/kg, 10 ila 2,000 Birim/kg, 10 ila 1,000 Birim/kg, 10 ila 900 Birim/kg, 10 ila 800 Birim/kg, 10 ila 700 Birim/kg, 10 ila 500 Birim/kg, 10 ila 400 Birim/kg, 10 ila 300 Birim/kg, 10 ila 200 Birim/kg, 10 ila 100 Birim/kg, 16 ila 600,000 Birim/kg, 16 ila 500,000 Birim/kg, 16 ila 400,000 Birim/kg, 16 ila 350,000 Birim/kg, 16 ila 320,000 Birim/kg, 16 ila 160,000 Birim/kg, 16 ila 80,000 Birim/kg, 16 ila 40,000 Birim/kg, 16 ila 20,000 Birim/kg, 16 ila 16,000 Birim/kg, 16 ila 12,800 Birim/kg, 16 ila 10,000 Birim/kg, 16 ila 5,000 Birim/kg, 16 ila 4,000 Birim/kg, 16 ila 3,000 Birim/kg, 16 ila 2,000 Birim/kg, 16 ila 1,000 Birim/kg, 16 ila 900 Birim/kg, 16 ila 800 Birim/kg, 16 ila 700 Birim/kg, 16 ila 500 Birim/kg, 16 ila 400 Birim/kg, 16 ila 300 Birim/kg, 16 ila 200 Birim/kg, 16 ila 100 Birim/kg, 160 ila 12,800 Birim/kg, 160 ila 8,000 Birim/kg, 160 ila 6,000 Birim/kg, 160 ila 4,000 Birim/kg, 160 ila 2,000 Birim/kg, 160 ila 1,000 Birim/kg, 160 ila 500 Birim/kg, 500 ila 5000 Birim/kg, 1000 ila 100,000 Birim/kg veya 1000 ila 10,000 Birim/kg arasında bir miktarda uygulanabilir. Bazı örneklere, bir polimere-konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir PEG'lenmiş hiyaluronidaz (ör., PEGPH20) gibi bir hiyalüronan parçalayan enzim yaklaşık 1 Birim/kg ila 1000 Birim/kg, 1 Birim/kg ila 500 Birim/kg veya 10 Birim/kg ila 50 Birim/kg miktarında uygulanabilir.

Genel olarak, PEG'lenmiş hiyaluronidazın özgül ağırlığı yaklaşık 10,000 U/mg ila 80,000 U/mg, örneğin 20,000 U/mg ila 60,000 U/mg veya 18,000 U/mg ila 45,000 U/mg olduğu

durumda, genel olarak hastanın kütlesine göre yaklaşık 1 Birim/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 veya daha yüksek bir miktar uygulanır. Örneğin, 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 veya daha fazlası uygulanır.

Buradaki örneklerde, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan tümör-içi iletim sağlamak için yeterli terapötik olarak etkili bir miktarda uygulanır. Bazı örneklerde, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan tedavinin olmadığı duruma kıyasla tümör-içi deaminaz (ör., sitidin deaminaz) protein seviyelerini düşürmek, örneğin seviyeleri en az veya yaklaşık en az %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha yüksek oranda düşürmek veya azaltmak için terapötik olarak etkili bir miktarda uygulanır. Özel örneklerde, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan tedavinin olmadığı duruma kıyasla bir birlikte uygulanan nükleosid analogunun (ör., gempitabin veya türevi) tümör-içi seviyesini arttırmak için terapötik olarak etkili bir miktarda uygulanır. Örneğin, tümör-içi gempitabin en az veya yaklaşık en az %10, %20, %30, %40, %50, %60, %70, %80, %90 veya daha yüksek oranda arttırılır. Bir kanser veya katı tümör, örneğin bir HA bakımından zengin tümör gibi bir hastalık veya rahatsızlığın tedavisi için uygulanacak olan bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksanın miktarı standart klinik tekniklerle belirlenebilir. Ek olarak, en uygun dozaj aralıklarının belirlenmesine yardımcı olması için *in vitro* analizler ve hayvan modelleri kullanılabilir. Deney yoluyla belirlenebilen tam dozaj özel taksana, özel formülasyona (ör., nanotanecek veya lipozom

formülasyonu), uygulama şekline, tedavi edilecek olan hastalığın tipine ve hastalığın ciddiyetine bağlı olabilir.

- Tipik olarak, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan bir hastaya hastanın vücut yüzey alanına (BSA; m<sup>2</sup>) göre yaklaşık 1 mg/m<sup>2</sup> ila 1000 mg/m<sup>2</sup> arasında, örneğin 10 mg/m<sup>2</sup> ila 500 mg/m<sup>2</sup>, 50 mg/m<sup>2</sup> ila 400 mg/m<sup>2</sup>, 25 mg/m<sup>2</sup> ila 300 mg/m<sup>2</sup> arasında ve genel olarak en az veya yaklaşık en az 20 mg/m<sup>2</sup>, 30 mg/m<sup>2</sup>, 40 mg/m<sup>2</sup>, 50 mg/m<sup>2</sup>, 60 mg/m<sup>2</sup>, 70 mg/m<sup>2</sup>, 80 mg/m<sup>2</sup>, 90 mg/m<sup>2</sup>, 100 mg/m<sup>2</sup>, 150 mg/m<sup>2</sup>, 200 mg/m<sup>2</sup>, 250 mg/m<sup>2</sup>, 300 mg/m<sup>2</sup> oranında uygulanır. Bazı durumlarda, mevcut formülasyonlar veya dozaj rejimlerine kıyasla hastalara bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksanın düşük dozajları uygulanabilir. Örneğin, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan bir hastaya en az veya yaklaşık en az 50 mg/m<sup>2</sup> veya 100 mg/m<sup>2</sup>, ancak 260 mg/m<sup>2</sup>, 200 mg/m<sup>2</sup> veya 150 mg/m<sup>2</sup>'den daha düşük bir miktarda uygulanır. Bazı örneklerde, uygulama başına uygulanan dozaj mevcut dozajlar ve dozaj rejimleri ile aynıdır, ancak dozaj programı uygulama döngüsü başına daha düşük bir miktarda nükleosid analogunun uygulanacağı şekilde azaltılır. Bazı durumlarda, mevcut formülasyonlar veya dozaj rejimlerine kıyasla hastalara bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksanın daha yüksek dozajları uygulanabilir. Örneğin, bir albümine bağlı taksan (ör., albümine bağlı paklitaksel) gibi bir tümör-güdümlü taksan bir hastaya en az veya yaklaşık en az 300 mg/m<sup>2</sup>, örneğin 300 mg/m<sup>2</sup> ila 1000 mg/m<sup>2</sup> arasında bir miktarda uygulanır. Teknikte uzman kişiler mg/kg cinsinden olan karşılık gelen dozajları bir hastanın boyu ve kilosuna göre dönüştürebilir veya belirleyebilir. Örneğin, BSA (boy (cm) x ağırlık (kg)/3600)<sup>1/2</sup> formülüyle belirlenir. Bir ortalama yetişkinin BSA'sı 1.73 m<sup>2</sup>'dir.
- Buradaki örneklerde, kombinasyon terapisi isteğe bağlı olarak ayrıca bir nükleosid analogunun (ör., bir gemsitabin veya türevi veya bir başka analog) uygulanmasını içerir. Gemisitabin, tümör-içi iletim sağlamak için yeterli terapötik olarak etkili bir miktarda uygulanır. Özel örneklerde, nükleosid analogu (ör., bir gemsitabin veya türevi veya bir başka analog) buradaki kombinasyon terapisinde, tek başına uygulandığındaki tümör-içi seviyeye kıyasla en az 1.5-kat, 2-kat, 3-kat, 4-kat, 5-kat, 10-kat veya daha yüksek bir oranda artan bir tümör-içi seviye elde edilecek bir miktarda birlikte uygulanır. Bir kanser

veya katı tümör, örneğin bir HA bakımından zengin tümör gibi bir hastalık veya rahatsızlığın tedavisi için uygulanacak olan bir nükleosid analogu (ör., bir gemitabin veya bunun türevi veya burada açıklanan bir başka analog) miktarı standart klinik tekniklerle belirlenebilir. Ek olarak, en uygun dozaj aralıklarının belirlenmesine yardımcı  
5 olması için *in vitro* analizler ve hayvan modelleri kullanılabilir. Deney yoluyla belirlenebilen tam dozaj özel nükleosid analoguna, özel formülasyona, uygulama şekline, tedavi edilecek olan hastalığın tipine ve hastalığın ciddiyetine bağlı olabilir.

Tipik olarak, bir nükleosid analogu (ör., gemitabin veya bunun türevi veya bir başka analog) bir hastaya hastanın vücut yüzey alanına (BSA; m<sup>2</sup>) göre yaklaşık 100 mg/m<sup>2</sup> ila  
10 2500 mg/m<sup>2</sup> arasında, örneğin yaklaşık 500 mg/m<sup>2</sup> ila 2000 mg/m<sup>2</sup>, 750 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup>, 1000 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup> veya 500 mg/m<sup>2</sup> ila 1500 mg/m<sup>2</sup> arasında ve genellikle en az veya yaklaşık en az veya yaklaşık 500 mg/m<sup>2</sup>, 600 mg/m<sup>2</sup>, 700 mg/m<sup>2</sup>, 800 mg/m<sup>2</sup>, 900 mg/m<sup>2</sup>, 1000 mg/m<sup>2</sup>, 1250 mg/m<sup>2</sup>, 1500 mg/m<sup>2</sup>, 1750 mg/m<sup>2</sup>, 2000 mg/m<sup>2</sup> veya daha yüksek bir miktarda uygulanır. Bazı durumlarda, mevcut  
15 formülasyonlar veya dozaj rejimlerine kıyasla hastalara bir nükleosid analogunun (ör., gemitabin veya bunun türevi veya bir başka analog) daha düşük dozajları uygulanabilir. Örneğin, bir nükleosid analogu (ör., gemitabin veya bunun türevi veya bir başka analog) bir hastaya en az veya yaklaşık en az 200 mg/m<sup>2</sup> veya 500 mg/m<sup>2</sup>, ancak 1000 mg/m<sup>2</sup> veya 1250 mg/m<sup>2</sup>'den daha düşük bir miktarda uygulanır. Bazı durumlarda, uygulama  
20 başına uygulanan dozaj mevcut dozajlar ve dozaj rejimleri ile aynıdır, ancak dozaj programı uygulama döngüsü başına daha düşük bir miktarda nükleosid analogunun uygulanacağı şekilde azaltılır. Teknikte uzman kişiler mg/kg cinsinden olan karşılık gelen dozajları belirleyebilir.

Burada sağlanan maddeler intravenöz, subkutan, intratümöral, intradermal, ağız yoluyla  
25 veya başka uygulama yollarıyla uygulanabilir. Özel yol uygulanan maddeler arasında farklılık gösterebilir veya aynı olabilir. Örneğin, maddelerin bir veya daha fazlası veya tümü subkutan olarak uygulanabilir. Özel örneklerde, burada bir polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin subkutan olarak uygulanması kapsamaktadır. Bu tip örneklerde, polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, bir eşzamanlı  
30 intravenöz dozaj rejimi olarak benzer tümör aktivitesi sağlamak için kan akışında 1-8 saat, örneğin 1-2 saat enzim biyoyararlanımı elde edilmesine olanak sağlayan bir dozaj

rejiminde uygulanır. Buradaki örneklerde, tümör-güdümlü taksan ve/veya nükleosid analogu da subkutan olarak uygulanabilir. Bir veya daha fazla maddenin özel subkutan formülasyonu veya birlikte formülasyonu, maddenin yeterli biyoyararlanımının sağlanacağı ve enjeksiyon bölgesi reaksiyonlarının en aza indirileceği şekilde sağlanır.

- 5 Bir başka örnekte, maddelerin bir veya daha fazlası veya tümü intravenöz olarak uygulanabilir. Bu tip bir örnekte, maddelerin bir veya daha fazlası veya tümü itme veya infüzyonla uygulanabilir. İtme veya infüzyon 1 dakika ila 60 dakika ve genellikle yaklaşık 10 dakika ila 40 dakika ve en fazla 60 dakika olabilir. Maddeler eşzamanlı infüzyonla veya müteakip infüzyonla uygulanabilir. Bir örnekte, burada sağlanan
- 10 kombinasyon terapisinde uygulanan maddeleri ikisi veya tümü üçü eşzamanlı infüzyon olarak uygulanır. Bu tip bir örnekte, uygulanan maddeler aynı poşet içinde birlikte infüzyon için aynı bileşim içinde sağlanır. Bazı durumlarda, uygulanan maddeler ayrı bileşimler için sağlanır, ancak infüzyondan hemen önce bir infüzyon ürünü olarak tek bir poşet içinde birleştirilir. Bir başka örnekte, uygulanan maddeler eşzamanlı olarak veya
- 15 hemen hemen eşzamanlı olarak infüzyonla veya müteakip infüzyonla uygulanır ve ayrı infüzyonlar için ayrı poşetler içinde asılır.

### 3. Dozaj Rejimi: Uygulama Sıklığı ve Döngüsü

- Polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim gibi anti-hiyalüronan maddesi tümör-güdümlü taksandan önce, aynı anda veya hemen hemen aynı anda, sırayla veya
- 20 fasıllı olarak uygulanabilir. Örneğin, anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan birlikte veya ayrı ayrı olarak uygulanabilir. Ayrı ayrı olarak uygulandığı takdirde, birbirinin hemen ardından uygulanabilir, örneğin birbirinden 30 saniye ila 15 dakika, örneğin 15 dakika, 14 dakika, 12 dakika, 10 dakika, 5 dakika, 2 dakika, 1 dakika veya 30 saniyeden kısa arayla
- 25 uygulanabilir. Bazı durumlarda, anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksan sırayla ve/veya fasıllı olarak uygulanır. Bu tip örneklerde, anti-hiyalüronan maddesi, ör., hiyalüronan parçalayan enzim önce uygulanabilir veya tümör-güdümlü taksan önce uygulanabilir. Genel olarak, bir hiyalüronan parçalayan enzim gibi anti-hiyalüronan maddesi tümör-güdümlü
- 30 taksandan önce uygulanır. Örneğin, anti-hiyalüronan maddesi veya hiyalüronan parçalayan enzim tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık

veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat önce uygulanır.

Buradaki kombinasyon terapisi örneklerinde, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve/veya tümör güdümlü taksandan önce, aynı anda veya hemen hemen aynı anda, sırayla veya fasıllı olarak uygulanabilir. Nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve/veya tümör güdümlü taksanın birisi veya her ikisiyle birlikte veya ayrı ayrı bir şekilde uygulanabilir. Ayrı ayrı uygulandığı takdirde, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksan uygulamasından hemen önce veya sonra uygulanabilir, örneğinden birbiriyle 30 saniye ila 15 dakika arayla, örneğin anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve/veya tümör-güdümlü taksandan 15 dakika, 14 dakika, 12 dakika, 10 dakika, 5 dakika, 2 dakika, 1 dakika veya 30 saniye'den daha kısa süreyle arayla uygulanabilir. Genel olarak, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzim gibi anti-hiyalüronan maddesinden sonra uygulanır. Bazı durumlarda, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzim gibi anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-güdümlü taksandan sonra uygulanır. Örneğin, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesinin (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve/veya tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat sonra uygulanır.

Buradaki bir örnekte, anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim, diğer maddelerden ayrı bir şekilde uygulanır ve tümör-güdümlü taksandan hemen önce veya sonra uygulanır. Örneğin, hiyalüronan parçalayan enzim tümör-güdümlü taksandan 15 dakika, 14 dakika, 12 dakika, 10 dakika, 5 dakika, 2 dakika, 1 dakika veya 30 saniye önce veya sonra uygulanır. Bazı örneklerde, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve tümör-güdümlü taksandan sonra uygulanır. Örneğin, nükleosid analogu hiyalüronan parçalayan enzim ve tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika,

1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat sonra uygulanır.

Bir başka örnekte, anti-hiyalüronan maddesi, örneğin hiyalüronan parçalayan enzim, nükleosid analogundan önce uygulanan tümör-güdümlü taksandan önce uygulanır.

5 Örneğin, anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat önce uygulanır. Bu tip bir örnekte, nükleosid analogu tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından en az veya en az yaklaşık  
10 veya yaklaşık 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 16 saat, 18 saat, 20 saat, 22 saat, 24 saat, 30 saat, 36 saat, 40 saat veya 48 saat sonra uygulanır.

Uygulama sıklığı ve zamanlaması ve dozaj miktarları arzu edilen bir süre boyunca aktif maddelerin sürekli ve/veya uzun süreli bir etkisini sürdürmek için bir uygulama döngüsü  
15 boyunca periyodik olarak uygulanabilir. Kombinasyonlar veya bileşimler saat başı, günde bir, haftada bir, ayda bir, yılda bir veya sadece bir kez uygulanabilir. Uygulama döngüsünün süresi deneme yoluyla belirlenebilir ve tedavi edilecek olan hastalığa, hastalığın ciddiyetine, özel hastaya ve tedaviyi uygulayan doktor tarafından bilinen diğer hususlara bağlıdır. Burada sağlanan bir kombinasyon terapisi ile tedavi süresi bir hasta,  
20 iki hafta, bir ay, birkaç ay, bir yıl, birkaç yıl veya daha uzun olabilir. Dozajlar tedavi süreci sırasında birden fazla uygulama döngüsü halinde bölünebilir. Örneğin, bir modifiye edilmiş hiyalüronidaz enzimi bir yıl veya daha uzun bir periyot boyunca haftada iki kez uygulanabilir. Tedavi kesilmediği halde hastalık semptomları devam ettiği takdirde, tedaviye bir süre daha devam edilebilir. Tedavi süreci boyunca, hastalık ve/veya  
25 tedavi ile ilgili toksisite veya yan etkilere dair kanıtlar izlenebilir.

Ek olarak, maddelere maruz kalmaya bir ara vermek için, uygulama döngüsüne tedavi kesintisi periyotları eklenebilir. Tedaviye ara verme süresi önceden belirlenmiş bir süre olabilir veya hastanın nasıl cevap verdiğiyle ilgili olarak veya gözlemlenen yan etkilere bağlı olarak deneme yoluyla belirlenebilir. Örneğin, tedaviye bir hafta, iki hafta, bir ay  
30 veya birkaç ay ara verilebilir. Genel olarak, tedaviye ara verme periyodu bir hasta için bir doz uygulama rejimi döngüsüne dahil edilir.



Örneğin, bir örnek doz uygulama rejimi 28 günlük bir tedavi döngüsü veya uygulama döngüsüdür. Madde, örneğin anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim, tümör-güdümlü taksan ve/veya nükleosid analogu, haftada bir kez veya haftada iki kez uygulanabilir. Örneğin, madde ilk 3 hafta boyunca

5 haftada bir kez veya haftada iki kez uygulanabilir, ardından bir hafta doz uygulanmaz. Dolayısıyla, örneğin, bir hastaya 28 günlük bir döngü sürecinde madde gün 1, 4, 8, 11, 15 ve 18'de (veya gün 0, 3, 6, 9, 12 ve 15'te) haftada iki kez uygulanabilir ve ardından tedaviye bir hafta ara verilebilir. Bir başka örnekte, bir hastaya 28 günlük bir döngü sürecinde madde gün 1, 8 ve 16'da haftada bir kez uygulanabilir ve ardından tedaviye bir

10 hafta ara verilebilir. Bir başka örnekte, 28 günün tamamı boyunca haftada bir kez veya haftada iki kez uygulanabilir. Dolayısıyla, örneğin, bir hastaya 28 günlük döngünün tamamı boyunca madde gün 1, 4, 8, 11, 15, 18, 21 ve 24'te (veya gün 0, 4, 7, 11, 14, 18, 21 veya 25'te) haftada iki kez uygulanabilir. Bazı örneklerde, bir hastaya 28 günlük döngünün tamamı boyunca madde gün 1, 8, 16 veya 24'te haftada bir kez uygulanabilir.

15 Anlaşılabileceği gibi, yukarıdaki açıklama sadece örnek amaçlıdır ve yukarıdakilerin değişik halleri kullanılabilir. Ayrıca, burada sağlanan kombinasyon terapisinde uygulanan tüm maddelere benzer uygulama döngüleri uygulanabilir veya her bir uygulanan madde kendi doz uygulama rejiminde kullanılabilir.

Teknikte uzman kişiler tam uygulama döngüsünü ve doz uygulama programını

20 belirleyebilir. Yukarıda belirtildiği gibi, uygulama döngüsü herhangi bir arzu edilen uzunlukta olabilir. Dolayısıyla, 28 günlük uygulama döngüsü herhangi bir uzunlukta süre boyunca tekrarlanabilir. Tedaviyi uygulayan doktor, hastaya özel kişisel hususlara ve tedavi edilecek olan hastalığa bağlı olarak hastanın ihtiyaçlarını karşılayan bir uygulama döngüsü ve doz uygulama rejimi benimseyebilir.

25 Genel olarak, nükleosid analogu, örneğin gemsitabin veya türevinin uygulama zamanlaması tipik olarak anti-hiyalüronan maddesi, ör., polimere konjüğe edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör güdümlü taksanın uygulama döngüsünün bir fonksiyonudur. Örneğin, nükleosid analogu bir uygulama döngüsünde anti-hiyalüronan maddesinin, örneğin hiyalüronan parçalayan enzimin ve/veya tümör-güdümlü taksanın birinci uygulamasından sonra ve/veya döngüdeki herhangi bir veya

30 daha fazla müteakip uygulamadan sonra uygulanabilir. Bazı örneklerde, anti-hiyalüronan

maddesi, ör., hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın uygulama döngüsü sırasında nükleosid analogu her bir müteakip anti-hiyalüronan maddesi (ör., hiyalüronan parçalayan enzim) ve/veya tümör-güdümlü taksan uygulamasından sonra, döngüde hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın her iki  
5 uygulamasının birinden sonra uygulanır veya döngüde haftada bir kez, iki haftada bir kez, üç haftada bir kez veya ayda bir kez uygulanabilir. Bazı örneklerde, nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi, ör., hiyalüronan parçalayan enzim ve/veya tümör-güdümlü taksanın uygulama döngüsü başına sadece bir kez uygulanır. Ek örnekte, nükleosid analogu uygulama döngüleri arasında fasıllı olarak uygulanır. Örneğin, nükleosid analogu birinci uygulama döngüsü sırasında uygulanmaz, ancak bir ikinci döngü  
10 sırasında uygulanır, ardından üçüncü döngü atlanır ve tekrar bir dördüncü uygulama döngüsü sırasında uygulanır ve bu şekilde veya bunun herhangi bir değişik halinde devam eder.

Buradaki kombinasyon terapisinin özel örneklerinde, usuller bir anti-hiyalüronan maddesi ve bir tümör-güdümlü taksanın aynı anda veya hemen hemen aynı anda, örneğin eşzamanlı olarak uygulanmasını içerir. Anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-güdümlü taksan önceden belirlenmiş sayıda hafta boyunca haftada iki ke veya haftada bir kez uygulama sıklığıyla uygulanabilir. Özellikle, anti-hiyalüronan maddesi haftada iki kez uygulanır ve tümör-güdümlü taksan haftada bir kez uygulanır. İsteğe bağlı olarak, bir  
20 nükleosid analogu da kombinasyon terapisinde uygulanabilir. Örneğin, nükleosid analogu önceden belirlenmiş bir sayıda hafta boyunca haftada bir kez uygulanır ve tipik olarak nükleosid analogu anti-hiyalüronan maddesi ve tümör-güdümlü taksanın uygulanmasından bir hafta sonra uygulanır. Usul ayrıca anti-hiyalüronan maddesinin uygulanmasından önce, eşzamanlı olarak, fasıllı olarak veya sonra bir kortikosteroidin  
25 uygulanmasını içerebilir. Uygulama döngüsü herhangi bir zaman periyodu boyunca olabilir ve tedaviyi uygulayan doktor veya klinisyen tarafından belirlenebilir. Tipik olarak, önceden belirlenmiş hafta sayısı 3 veya 4 haftadır, ancak daha uzun olabilir. Uygulama döngüsü, hastalığın durumuna ve hastanın cevabına bağlı olarak birden fazla kez tekrarlanabilir.

#### 4. Ek Kombinasyon Tedavileri

Burada sağlanan kombinasyon terapisi tek başına veya başka terapiler veya tedavilerle ek kombinasyon halinde kullanılabilir. Burada sağlanan kombinasyonlar veya bileşimler ayrıca başka terapötik veya farmakolojik maddelerle veya tedavilerle, örneğin

5 prosedürlerle formüle edilebilir veya bunlarla birlikte, daha önce, fasılalı olarak veya daha sonra uygulanabilir. Örneğin, bu tip maddelere, sınırlayıcı olmaksızın, diğer biyolojik maddeler, anti-kanser maddeleri, küçük moleküllü bileşikler, dağıtıcı maddeler, anestetikler, damar büzücüler ve ameliyat ve bunların kombinasyonları dahildir. Bu tip maddeler ayrıca yan etkileri iyileştiren, azaltan veya önleyen bir veya daha fazla madde

10 içerebilir. Bazı durumlarda, kombinasyon terapisi birincil tümörü uzaklaştıran veya tedaviden önce hastanın bağışıklığını bastıran bir veya daha fazla kanser tedavisiyle kombinasyon halinde kullanılabilir. Örneğin, burada sağlanan kombinasyon terapisine ek olarak ek kemoterapi veya radyasyon terapisi kullanılabilir. Bu tip ek terapi bir hastanın bağışıklık sistemini zayıflatma etkisine sahip olabilir. Bazı örneklerde, cerrahi müdahale

15 ve/veya bağışıklık sisteminin zayıflatılmasını gerekli olmayabilir. Burada birleştirilebilen diğer örnek usullere bağışıklık sistemini zayıflatmadan tümör veya neoplastik hücrelerin proliferasyon hızını azaltan bir bileşiğin uygulanması (ör., tümör bastırıcı bileşikler uygulanarak veya tümör hücresine özel bileşikler uygulanarak) veya bir anjiyogenez inhibe edici bileşiğin uygulanması dahildir.

20 Bir ikinci madde veya maddeler veya tedavi veya tedavilerin bir terkibi bir defada uygulanabilir veya belirli zaman aralıklarıyla uygulanan çeşitli sayıda daha küçük doza bölünebilir. Seçilen madde/tedavi terkipleri örneğin birkaç saat, gün, hafta veya ay boyunca bir tedavi sürecinde bir veya daha fazla doz halinde uygulanabilir. Bazı durumlarda, kesintisiz uygulama yararlıdır. Anlaşılacağı gibi, tam dozaj ve uygulama

25 süreci endikasyona ve hastanın tolere edebilirliğine bağlıdır. Genel olarak, buradaki ikinci maddeler/tedaviler için doz uygulama rejimleri teknikte uzman kişilerce bilinmektedir.

##### a. Kortikosteroidler

Burada sağlanan kombinasyon terapisi tek başına veya bir veya daha fazla kortikosteroidle ek kombinasyon halinde kullanılabilir. Bir kortikosteroid, bir polimere

30 konjüge edilmiş hiyalüronan parçalayan enzim veya bir başka maddenin uygulanmasının

bir veya daha fazla olumsuz etkisini, özellikle olumsuz kas-iskelet etkisini iyileştirmek veya azaltmak için terapötik olarak etkili olan bir miktarda uygulanır. Terapötik olarak etkili bir miktar bir veya daha fazla semptomu veya olumsuz etkiyi iyileştirmek, önlemek, ortadan kaldırmak veya azaltmak için yeterli dozajdır. Gelişme veya başarılı ön-tedavi göstergelerine CTCAE ölçeğinde bir ilgili puan veya CTCAE ölçeğinde derecelendirme veya ciddiyette bir değişimin sağlanamadığının belirlenmesi dahildir.

Kortikosteroidler böbreküstü bezi korteksinde üretilen bir steroid hormonu sınıfıdır. Kortikosteroidler stres tepkisi, bağışıklık tepkisi ve iltihap, karbonhidrat metabolizması, protein katabolizması, kan elektrolit seviyeleri ve davranış düzenlenmesi gibi çok çeşitli fizyolojik sistemlerde rol oynar. Bunlara, çok sayıda başka fonksiyonu olan anti-enflamatuvar maddeler olan glukokortikoidler ve başlıca olarak böbrekler üzerine etki ederek tuz ve su dengesini kontrol eden mineralokortikoidler dahildir.

Glükokortikoidler bir steroid hormonu, ör., glukokortikoid reseptörüne bağlanan kortikosteroid sınıfıdır. Glükokortikoidler, glukokortikoid reseptörüne bağlanarak etkilerini gösterir. Diğer aktivitelerin yanı sıra, aktifleştirilmiş glukokortikoid kompleksi çekirdekte anti-enflamatuvar proteinlerin ekspresyonunu artırır ve diğer transkripsiyon faktörlerinin sitozolden çekirdeğe geçişini önleyerek sitozolde pro-enflamatuvar proteinlerin ekspresyonunu bastırır.

Genel olarak, herhangi bir kortikosteroid, ör., glukokortikoid, burada sağlanan usuller veya kombinasyonlarda kullanılabilir. Glükokortikoidlere sentetik ve sentetik olmayan glukokortikoidler dahildir. Örnek glukokortikoidlere, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: alklometazonlar, algestonlar, beklometazonlar (ör. beklometazon dipropionat), betametazonlar (ör. betametazon 17-valerat, betametazon sodyum asetat, betametazon sodyum fosfat, betametazon valerat), budesonidler, klobetasoller (ör. klobetasol propionat), klobetazonlar, klokortolonlar (ör. klokortolon pivalat), kloprednoller, kortikosteronlar, kortizonlar ve hidrokortizonlar (ör. hidrokortizon asetat), kortivazoller, deflazakortlar, desonidler, desoksümetazonlar, deksametazonlar (ör. deksametazon 21-fosfat, deksametazon asetat, deksametazon sodyum fosfat), diflorazonlar (ör. diflorazon diasetat), diflukortolonlar, difluprednatlar, enoksolonlar, fluazakortlar, flukloronidler, fludrokortizonlar (ör., fludrokortizon asetat), flumetazonlar (ör. flumetazon pivalat), flunizolidler, flosinolonlar (ör. flosinolon asetonid), flosinonidler, flokortinler,

flokortolonlar, florometolonlar (ör. florometolon asetat), fluperolonlar (ör., fluperolon asetat), fluprednidenler, fluprednisolonlar, flurandrenolidler, flutikazonlar (ör. flutikazon propionat), formokortallar, halsinonidler, halobetazoller, halometazonlar, halopredonlar, hidrokortamatlar, hidrokortizonlar (ör. hidrokortizon 21-bütirat, hidrokortizon aseponat, hidrokortizon asetat, hidrokortizon butepirat, hidrokortizon bütirat, hidrokortizon sipionat, hidrokortizon hemisüksinat, hidrokortizon probütat, hidrokortizon sodyum fosfat, hidrokortizon sodyum süksinat, hidrokortizon valerat), loteprednol etabonat, mazipredonlar, medrizonlar, meprednizonlar, metilprednizonlar (metilprednizolon aseponat, metilprednizolon asetat, metilprednizolon hemisüksinat, metilprednizolon sodyum süksinat), mometazonlar (ör., mometazon furoat), parametazonlar (ör., parametazon asetat), prednikarbatlar, prednizonlar (ör. prednizolon 25-dietilaminoasetat, prednizolon sodyum fosfat, prednizolon 21-hemisüksinat, prednizolon asetat; prednizolon farnesilat, prednizolone hemisüksinat, prednizolon-21 (beta-D-glükuronid), prednizolon metasülfobenzoat, prednizolon steaglat, prednizolon tebütat, prednizolon tetrahidroftalat), prednizonlar, prednivaler, prednilidenler, rimeksolonlar, tiksokortollar, triamsinolonlar (ör. triamsinolon asetonid, triamsinolon benetonid, triamsinolon heksasetonid, triamsinolon asetonid 21-palmitat, triamsinolon diasetat). Bu glükokortikoidler ve bunların tuzları örneğin Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16. baskı, 1980)'de detaylı olarak açıklanmaktadır.

Bazı örneklerde, glükokortikoid kortizonlar, deksametazonlar, hidrokortizonlar, metilprednizonlar, prednizonlar ve prednizonlar arasından seçilir. Bir özel örnekte, glükokortikoid deksametazondur.

Kortikosteroid terapötik olarak etkili bir dozda sağlanır. Terapötik olarak etkili konsantrasyon bilinen *in vitro* veya *in vivo* sistemlerde testlerle deneme yoluyla belirlenebilir. Örneğin, olumsuz etkileri iyileştirmek için seçilen bir kortikosteroidin uygulanacak miktarı standart klinik tekniklerle belirlenebilir. Ek olarak, en uygun dozaj aralıklarının belirlenmesine yardımcı olması için hayvan modelleri kullanılabilir. Deney yoluyla belirlenebilen tam dozaj özel terapötik terkibe, rejime ve doz uygulama programına, uygulama şekline ve hastalığın ciddiyetine bağlı olabilir.

Bileşimdeki bir seçilen terapötik maddenin konsantrasyonu absorpsiyon, pasifleşme ve vücuttan atılma hızları, fizikokimyasal özellikler, dozaj programı ve uygulanan

miktarının yanı sıra teknikte uzman kişilerce bilinen diğer faktörlere bağlıdır. Örneğin, anlaşılacağı gibi, tam dozaj ve tedavi süresi hastalık veya rahatsızlık, tedavi edilen doku, hasta veya denek ve miktarı ve dozaj rejimi dahil anti-hiyalüronan maddesinin bir fonksiyonudur. Kortikosteroidin dozu ayrıca hastanın yaşı ve sağlığı, polimere konjüğe  
5 edilmiş hiyalüronan parçalayan enzimin dozu (ör., PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin dozu), kortikosteroidin kuvveti ve uygulama şekline bağlı olarak değişebilir. Örneğin, konsantrasyonların ve dozaj değerlerinin hiyalüronan parçalayan enzimin terapötik dozu ve dozaj rejimiyle değişeceği belirtilmelidir. Ek olarak, kortikosteroid arzu edilen sonuçları elde etmek için günlük, haftalık veya aylık olarak veya daha uzun zaman  
10 periyotları boyunca uygulanabilir. Özel dozaj hacmi değişebilir ve dozaj rejimine, uygulama sıklığına ve arzu edilen uygulama hızına bağlıdır. Konsantrasyonların ve dozaj değerlerinin ayrıca tedavi edilen bireyin yaşına göre de değişebileceği belirtilmelidir.

Tam doz ve tedavi süresi bilinen test protokolleri kullanılarak veya *in vivo* veya *in vitro* test verilerinden ekstrapolasyonla deney yoluyla belirlenebilir. Yine anlaşılacağı gibi,  
15 herhangi bir özel hasta için, özel dozaj rejimleri hastanın ihtiyacına ve uygulama yapan kişinin veya bileşimlerin uygulanmasını denetleyen kişinin profesyonel kanaatine göre zaman içinde ayarlanmalıdır ve burada verilen konsantrasyon aralıkları sadece örnek olarak verilmektedir ve bunların kapsamını ve uygulamasını kısıtlayıcı nitelikte değildir. Genel olarak, dozaj rejimleri toksisiteyi sınırlayacak şekilde seçilir ve burada olumsuz  
20 yan etkileri iyileştirecek şekilde seçilir. İlgili doktorun toksisite veya kemik iliği, karaciğer veya böbrek veya başka doku fonksiyonu bozukluklarından dolayı terapiyi nasıl ve ne zaman sonlandıracağını, ara vereceğini veya daha düşük dozaja ayarlayacağını bileceği belirtilmelidir. Buna karşılık, ilgili doktor ayrıca klinik cevap yeterli olmadığı takdirde nasıl ve ne zaman tedaviyi daha yüksek seviyelere ayarlayacağını bilecektir  
25 (toksik yan etkiler hariç). Bir terapötik maddenin uygulanması Birleşik Devletler Gıda ve İlaç idaresi tarafından belirlenmiş olan veya Physician's Desk Reference'de yayınlanmış maksimum dozaj seviyelerini aşmamalıdır.

Genel olarak, uygulanan kortikosteroidin dozu özel kortikosteroide bağlıdır, çünkü farklı kortikosteroidlerin kuvvetleri farklıdır (bkz., aşağıdaki Tablo 4). Kortikosteroid veya  
30 glukokortikoid, örneğin deksametazon, ağız yoluyla (tabletler, sıvı veya sıvı konsantresi) (PO), intravenöz olarak (IV) veya intramüsküler olarak uygulanabilir. Kortikosteroid

tipik olarak bir bolus olarak uygulanır, ancak, doz anti-hiyalüronan maddesi, örneğin, bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla yan etkinin iyileştirilmesi için etkili olduğu sürece, bir zaman periyodu boyunca uygulanabilir.

**Tablo 4. Glükokortikoid uygulaması**

Glükokortikoid (yol)	Eşdeğer Kuvvet (mg)
Hidrokortizon (IV veya PO)	20
Prednizon	5
Prednizolon (IV veya PO)	5
Metilprednizolon sodyum süksinat (IV)	4
Deksametazon (IV veya PO)	0.5-0.75

5

Kortikosteroid, hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla yan etkiyi iyileştirmek için etkili olan herhangi bir miktarda uygulanabilir. Dolayısıyla, kortikosteroid, ör., glükokortikoid, 70 kg'lık bir yetişkin hastaya, örneğin, doz başına yaklaşık 0.1 ila 100 mg, 0.1 ila 80 mg, 0.1 ila 60 mg, 0.1 ila 40 mg, 0.1 ila 30 mg, 0.1 ila 20 mg, 0.1 ila 15 mg, 0.1 ila 10 mg, 0.1 ila 5 mg, 0.2 ila 40 mg, 0.2 ila 30 mg, 0.2 ila 20 mg, 0.2 ila 15 mg, 0.2 ila 10 mg, 0.2 ila 5 mg, 0.4 ila 40 mg, 0.4 ila 30 mg, 0.4 ila 20 mg, 0.4 ila 15 mg, 0.4 ila 10 mg, 0.4 ila 5 mg, 0.4 ila 4 mg, 1 ila 20 mg, 1 ila 15 mg veya 1 ila 10 mg arasında bir miktarda uygulanabilir. Tipik olarak, kortikosteroid, örneğin bir glükokortikoid bir ortalama yetişkin insan hastaya doz başına yaklaşık 0.4 ila 20 mg arasında bir miktarda, örneğin, yaklaşık 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 veya 20 mg miktarında uygulanır.

Kortikosteroid, örneğin, yaklaşık 70 kg ila 75 kg ağırlığında olan bir ortalama yetişkin insan hastaya, yaklaşık 0.001 mg/kg (hastanın), 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 veya 1.4 mg/kg dozda uygulanabilir.

Uygulanan dozaj, kortikosteroid uygulaması hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla olumsuz yan etkiyi iyileştirdiği sürece, değişebilir. Bir örnekte, glukokortikoid, örneğin, deksametazon dozajı tedavi döngüsü başına giderek azalan dozajlarda uygulanır. Dolayısıyla, bu tip tedavi rejimlerinde, kortikosteroid dozu giderek azaltılır. Örneğin, deksametazon bir hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından önce, 4 mg'lik bir ilk dozda uygulanır ve her bir müteakip hiyalüronan parçalayan enzim uygulamasından sonra deksametazon dozu azaltılır, böylece bir sonraki hiyalüronan parçalayan enzim, ör. PEG'lenmiş hiyalüronidaz uygulaması için doz 3 mg olur, daha sonra anti-hyalüronan maddesi, ör. PEG'lenmiş hiyalüronidaz uygulaması başına 2 mg ve daha sonra anti-hyalüronan maddesi, ör. PEG'lenmiş hiyalüronidaz uygulaması başına 1 mg olur. Kortikosteroid dozu hiyalüronan parçalayan enzim, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla yan etkinin azaltılmasında etkili olduğu sürece, her türlü doz kapsamaktadır.

Uygulama zamanı, kortikosteroid uygulaması bir PEG'lenmiş hiyalüronidaz gibi hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla olumsuz yan etkiyi iyileştirdiği sürece, değişebilir. Kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim, ör., PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzim ile sırayla, fasıllı olarak, aynı zamanda veya aynı bileşim içinde uygulanabilir. Örneğin, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasından önce, uygulanması sırasında, eşzamanlı olarak veya sonra uygulanabilir. Bir başka örnekte, kortikosteroid ve hiyalüronan parçalayan enzim, ör. PEG'lenmiş hiyalüronidaz fasıllı olarak uygulanır. Genel olarak, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasından önce uygulanır. Örneğin, kortikosteroid, ör., glukokortikoid, örneğin deksametazon, anti-hyalüronan maddesi, örneğin bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından yaklaşık 0.5 dakika, 1 dakika, 2 dakika, 3 dakika, 4 dakika, 5 dakika, 6 dakika, 7 dakika, 8 dakika, 9 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika, 30 dakika, 45 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat,



4 saat, 5 saat, 6 saat, 7 saat, 8 saat, 9 saat, 10 saat, 11 saat, 12 saat, 18 saat, 24 saat, 36 saat veya daha uzun bir süre önce uygulanabilir.

Bazı örneklerde, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, örneğin PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasıyla aynı zamanda uygulanır. Bu örnekte, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim, ör., PEG'lenmiş hiyalüronidaz ile birlikte veya ayrı bir şekilde uygulanabilir. Tipik olarak, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimden ayrı bir şekilde uygulanır. Bazı örneklerde, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından yaklaşık 0.5 dakika, 1 dakika, 2 dakika, 3 dakika, 4 dakika, 5 dakika, 6 dakika, 7 dakika, 8 dakika, 9 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika, 30 dakika, 45 dakika, 1 saat, 2 saat, 3 saat, 4 saat, 5 saat, 6 saat, 7 saat, 8 saat, 9 saat, 10 saat, 11 saat, 12 saat, 18 saat, 24 saat, 36 saat veya daha uzun bir süre sonra uygulanır.

Genel olarak, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, örneğin bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasından önce uygulanır. Örneğin, kortikosteroid, ör., glukokortikoid, örneğin, deksametazon, hiyalüronan parçalayan enzimin, ör. bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasından 1 saat önce uygulanır. Bir başka örnekte, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından 5 dakika önce uygulanır. Bir başka örnekte, kortikosteroid hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasından hem önce ve hem de sonra uygulanır. Bu örnekte, kortikosteroid, örneğin deksametazon, hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından bir ila beş dakika önce ve anti-hyalüronan maddesinin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından sekiz saat sonra uygulanır. Bir başka örnekte, kortikosteroid, örneğin deksametazon, hiyalüronan parçalayan enzimin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından bir saat önce ve anti-hyalüronan maddesinin, ör., bir PEG'lenmiş hiyalüronan parçalayan enzimin uygulanmasından sekiz ila on iki saat sonra uygulanır.

Kortikosteroid dozu uygulama zamanı, hiyalüronan parçalayan enzim, örneğin bir PEG'lenmiş hiyalüronidazın uygulanmasıyla ilişkili bir veya daha fazla yan etkiyi azalttığı sürece, her türlü doz uygulama rejimi kapsamaktadır. Ek olarak, kortikosteroid

dozu veya doz uygulama rejimi bir kanser veya katı tümör tedavisine dahil edilen burada sağlanan hiyalüronan parçalayan enzim veya bir başka maddenin terapötik etkisini engellemez veya azaltmaz.

### **b. Anti-Kanser Maddeleri ve Diğer Tedaviler**

- 5 Burada sağlanan kombinasyon terapisi tek başına veya başka anti-kanser maddeleriyle ek kombinasyon halinde kullanılabilir. Anti-kanser maddeleri veya tedavileri ameliyat, radyasyon, ilaçlar, kemoterapi maddeleri, polipeptidler, antikolar, peptidler, küçük moleküller veya gen terapisi vektörleri, virüsler veya DNA olabilir.

- Buradaki kombinasyon terapisinin uygulanmasından sonra, aynı anda veya önce
- 10 uygulanabilen örnek anti-kanser maddelerine, sınırlayıcı olmaksızın, şunlar dahildir: Akivisinler; Avisin; Aklarubisinler; Akodazoller; Akroninler; Adozelesinler; Aldeslöklinler; Alemtuzumablar; Alitrenoinler (9-Cis-Retinoik Asitler); Allopurinoller; Altretaminler; Alvosidibler; Ambazonlar; Ambomisinler; Ametantronlar; Amifostinler; Aminoglütetimidler; Amsakrinler; Anastrozoller; Anaksironlar; Ankitabinler;
- 15 Antramisinler; Apazikonlar; Argimesnalar; Arsenik Trioksitler; Asparaginazlar; Asperlinler; Atrimustinler; Azakitidinler; Azetepalar; Azotomisinler; Banoksantronlar; Batabulinler; Batimastatlar; Canlı BCG; Benaksibinler; Bendamustinler; Benzodepalar; Beksarotenler; Bevasizumab; Bikalutamidler; Bietaserpinler; Birikodarlar; Bisantrenler; Bisnafid Dimesilatlar; Bizelesinler; Bleomisinler; Bortezomibler; Brekinarlar;
- 20 Bropiriminler; Budotitanlar; Busülfanlar; Kaktinomisinler; Kalusteronlar; Kanertinibler; Kapesitabinler; Karasemidler; Karbetimerler; Karboplatinler; Karbokonlar; Karmofurlar; Polifeprosanlarla Karmustinler; Karmustinler; Karubisinler; Karzelesinler; Sedefingoller; Selekoksibler; Kemadotinler; Klorambusiller; Sioteroneller; Sirolemisinler; Sisplatinler; Kladrininler; Klanfenurlar; Klofarabinler; Krisnatoller; Siklofosamidler; Sitarabin
- 25 lipozomallar; Sitarabinler; Dakarbazinler; Daktinomisinler; Darbepoetin Alfalar; Daunorubisin lipozomallar; Daunorubisinler/Daunomisinler; Daunorubisinler; Desitabinler; Denilökin Diftitokslar; Deksniguldipinler; Deksonaplatinler; Deksrazoksanlar; Dezaguaninler; Diazikonlar; Dibrospidiyumlar; Dienogestler; Dinalinler; Disermolidler; Dosetakseller; Dofekidarlar; Doksifluridinler; Doksorubisin
- 30 lipozomallar; Doksorubisin HCL; Doksorubisin HCL lipozom enjeksiyonu; Doksorubisinler; Droloksifenler; Dromostanolon Propionatlar; Duazomisinler;

Ekomustinler; Edatreksatlar; Edotekarınler; Eflornitinler; Elakridarlar; Elinafidler; Elliott  
 B Çözeltileri; Elsamitrusinler; Emitefurlar; Enloplatinler; Enpromatlar; Enzastaurinler;  
 Epiropidinler; Epirubisinler; Epoetin alfalar; Eptaloprostlar; Erbulozoller;  
 Esorubisinler; Estramustinler; Etanidazoller; Etoglusidler; Etoposidd fosfatlar; Etoposid  
 5 VP-16'lar; Etoposidler; Etoprinler; Eksemestanlar; Eksisulindler; Fadrozoller;  
 Fazarabinler; Fenretinidler; Filgrastimler; Floksuridinler; Fludarabinler; Florourasiller;  
 5-florourasiller; Floksimesteronlar; Fluositabinler; Foskidonlar; Fostriesinler;  
 Fostriesinler; Fotretaminler; Fulvestrantlar; Galarubisinler; Galokitabinler;  
 Gemsitabinler; Gemtuzumablar/Ozogamisiner; Gerokinoller; Gimatekanlar;  
 10 Gimerasiller; Gloksazonlar; Glufosfamidler; Goserelin asetatlar; Hidroksiüreler;  
 İbritumomablar/Tiuksetanlar; İdarubisinler; İfosfamidler; İlmofosinler; İlomastatlar;  
 İmatinib mesilatlar; İmeksonlar; İmprosülfanlar; İndisulamalar; İnprokonlar; İnterferon  
 alfa-2a'lar; İnterferon alfa-2b'ler; İnterferon Alfalar; İnterferon Betalar; İnterferon  
 Gamalar; İnterlökin-2'ler ve diğeri İnterlökinler (rekombinant İnterlökinler dahil);  
 15 İntoplisinler; İyobenguanlar [131-1]; İproplatinler; İrinotekanlar; İrsogladinler;  
 İksabepilonlar; Ketotreksatlar; L-Alanosinler; Lanreotidler; Lapatinibler;  
 Ledoksantronlar; Letrozoller; Lökovorinler; Löprolidler; Löproreliner (Löprorelidler);  
 Levamisoller; Leksakalsitoller; Liarozoller; Lobaplatinler; Lometreksoller;  
 Lomustinler/CCNU'lar; Lomustinler; Lonafarnibler; Losoksantronlar; Lurtotekanlar;  
 20 Mafosfamidler; Mannosülfanlar; Marimastatlar; Masoprokoller; Maytansinler;  
 Meklorektaminler; Meklorektaminler/Azot hardallar; Megestrol asetatlar; Megestroller;  
 Melengestroller; Melfalanlar; Melfalansil-L-PAM; Menogariller; Mepitiostanlar;  
 Merkaptopurinler; 6-Merkaptopurin; Mesnalar; Metesindler; Metotreksatlar;  
 Metoksalenler; Metomidatlar; Metoprinler; Meturedepalar; Miboplatinler;  
 25 Miproksifenler; Misonidazoller; Mitindomidler; Mitokarsinler; Mitokrominler;  
 Mitoflaksonlar; Mitogillinler; Mitoguazonlar; Mitomalsinler; Mitomisin C'ler;  
 Mitomisinler; Mitonafidler; Mitokidonlar; Mitosperler; Mitotanlar; Mitoksantronlar;  
 Mitozolomidler; Mivobulinler; Mizoribinler; Mofarotenlar; Mopidamoller;  
 Mubritinibler; Mikofenolik Asitler; Nandrolon Fenpropionatlar; Nedaplatinler;  
 30 Nelzarabinler; Nemorubisinler; Nitakrinler; Nokodazoller; Nofetumomablar;  
 Nogalamisinler; Nolatreksedler; Nortopiksantronlar; Oktreotidler; Oprelvekinler;  
 Ormaplatinler; Ortatakseller; Oterasiller; Oksaliplatinler; Oksisuranlar; Oksofenarsinler;

Paklitakseller; Pamidronatlar; Patubilonlar; Pegademaslar; Pegaspargazlar;  
 Pegfilgrastimler; Peldesinler; Peliomisinler; Pelitreksoller; Pemetreksedler;  
 Pentamustinler; Pentostatinler; Peplomisinler; Perfosfamidler; Perifosinler; Pikoplatinler;  
 Pinafidler; Pipobromanlar; Pipoşülfanlar; Pirfenidonlar; Piroksantronlar; Piksantonlar;  
 5 Plevitreksedler; Plikamimid Mitramisinler; Plikamisinler; Plomestanlar; Plomestanlar;  
 Porfimer sodyumlar; Porfimerler; Porfiromisinler; Prednimustinler; Prokarbazinler;  
 Propamidinler; Prospidyumlar; Pumitepalar; Puromisinler; Pirazofurinler; Kinakrinler;  
 Ranimustinler; Rasburikazlar; Riboprinler; Ritrosülfanlar; Ritüksimablar; Rogletimidler;  
 Rokinimeksler; Rufokromomisinler; Sabarubisinler; Safingoller; Sargramostimler;  
 10 Satraplatinler; Sebriplatinler; Semustinler; Simtrazenler; Sizofiranlar; Sobuzoksanlar;  
 Sorafenibler; Sparfosatlar; Sparfosik Asitler; Sparsomisinler; Spirogermanyumlar;  
 Spiromustinler; Spiroplatinler; Spiroplatinler; Skalaminler; Streptonigrinler;  
 Streptovarisinler; Streptozosinler; Sufosfamidler; Sulofenurlar; Sunitinib Malat; 6-  
 tioguanin (6-TG); Takedinalinler; Talklar; Talisomisinler; Tallimustinler; Tamoksifenler;  
 15 Tarikidarlar; Tauromustinler; Tekogalanlar; Tegafurlar; Teloksantronlar; Temoporfinler;  
 Temozolomidler; Teniposidler/VM-26'lar; Teniposidler; Teroksironlar; Testolaktonlar;  
 Tiamiprinler; Tioguaninler; Tiotepalar; Tiamiprinler; Tiazofurinler; Tilomisoller;  
 Tiloronlar; Timkodarlar; Timonasikker; Tirapazaminler; Topiksantronlar; Topotekanlar;  
 Toremifenler; Tositumomablar; Trabektedinler (Ekteinaskidin 743); Trastuzumablar;  
 20 Trestolonlar; Tretinoinler/ATRA; Trisiribinler; Trilostanlar; Trimetreksatlar; Triplatin  
 Tetranitratlar; Triptorelinler; Trofosfamidler; Tubulozoller; Ubenimeksler; Urasil  
 Hardalları; Uredepalar; Valrubisinler; Valspodarlar; Vapreotidler; Verteporfinler;  
 Vinblastinler; Vinkristinler; Vindesinler; Vinepidinler; Vinfluninler; Vinformidler;  
 Vinglisinatlar; Vinlösinoller; Vinlörosinler; Vinorelbinler; Vinrosidinler; Vintriptoller;  
 25 Vinzolidinler; Vorozoller; Ksantomisin A'lar (Guamesiklinler); Zeniplatinler;  
 Zilaskorblar [2-H]; Zinostatinler; Zoledronat; Zorubisinler; ve Zosukidarlar; örneğin:

Aldeslökinler (ör. PROLEUKIN®); Alemtuzumablar (ör. CAMPATH®);  
 Alitretinoinler (ör. PANRETIN®); Allopurinoller (ör. ZYLOPRIM®);  
 Altretaminler (ör. HEKSALEN®); Amifostines (ör. ETHYOL®); Anastrozoller  
 30 (ör. ARIMIDEX®); Arsenik Trioksitler (ör. TRISENOX®); Asparaginazlar (ör.  
 ELSPAR®); Canlı BCG (ör. TICE® BCG); Beksarotenler (ör. TARGRETIN®);  
 Bevasizumab (AVASTIN®); Bleomisinler (ör. BLENOXANE®); Busülfan

intravenöz (ör. BUSULFEX®); Busülfan ağız yoluyla (ör. MYLERAN®);  
 Kalusteronlar (ör. METHOSARB®); Kapesitabinler (ör. XELODA®);  
 Karboplatinler (ör. PARAPLATIN®); Karmustinler (ör. BCNU®, BiCNU®);  
 Polifeprosanlarla Karmustinler (ör. GLIADEL® Wafer); Selekoksibler (ör.  
 5 CELEBREX®); Klorambusiller (ör. LEUKERAN®); Cisplatinler (ör.  
 PLATINOL®); Kladrabinler (ör. LEUSTATIN®, 2-CdA®); Siklofosamidler (ör.  
 CYTOXAN®, NEOSAR®); Sitarabinler (ör. CYTOSAR-U®); Sitarabin  
 lipozomallar (ör. DepoCyt®); Dakarbazinler (ör. DTIC-Dome); Daktinomisinler  
 (ör. COSMEGEN®); Darbepoetin Alfalar (ör. ARANESP®); Daunorubisin  
 10 lipozomallar (ör. DANUOKSOME®); Daunorubisinler/Daunomisinler (ör.  
 CERUBIDINE®); Denilökin Diftitokseler (ör. ONTAK®); Deksraksoksanlar (ör.  
 ZINECARD®); Dosetakseller (ör. TAXOTERE®); Doksorubisinler (ör.  
 ADRIAMYCIN®, RUBEX®); Doksorubisin lipozomallar, örneğin Doksorubisin  
 HCL lipozom enjeksiyonları (ör. DOXIL®); Dromostanolon propionatlar (ör.  
 15 DROMOSTANOLONE® ve MASTERONE® Injection); Elliott B Çözeltileri (ör.  
 Elliott's B Solution®); Epirubisinler (ör. ELLENCE®); Epoetin alfalar (ör.  
 EPOGEN®); Estramustinler (ör. EMCYT®); Etoposid fosfatlar (ör.  
 ETOPOPHOS®); Etoposid VP-16'lar (ör. VEPESID®); Eksemestanlar (ör.  
 AROMASIN®); Filgrastimler (ör. NEUPOGEN®); Floksuridinler (ör. FUDR®);  
 20 Fludarabinler (ör. FLUDARA®); Florourasiller, ör., 5-FU'lar (ör. ADRUCIL®);  
 Fulvestrantlar (ör. FASLODEX®); Gemsitabinler (ör. GEMZAR®);  
 Gemtuzumablar/Ozogamisinler (ör. MYLOTARG®); Goserelin asetatlar (ör.  
 ZOLADEX®); Hidroksiüreler (ör. HYDREA®); İbritumomablar/Tiuksetanlar (ör.  
 ZEVALIN®); İdarubisinler (ör. IDAMYCIN®); İfosamidler (ör. IFEX®);  
 25 İmatinib mesilatlar (ör. GLEEVEC®); İnterferon alfa-2a'lar (ör. ROFERON-A®);  
 İnterferon alfa-2b'ler (ör. INTRON A®); İrinotekanlar (ör. CAMPTOSAR®);  
 Letrozoller (ör. FEMARA®); Lökovorinler (ör. WELLCOVORIN®,  
 LEUCOVORIN®); Levamisoller (ör. ERGAMISOL®); Lomustinler/CCNU'lar  
 (ör. CeeBU®); Mekloreタミンler/Azot hardallar (ör. MUSTARGEN®); Megestrol  
 30 asetatlar (ör. MEGACE®); Melfalanlar/L-PAM'lar (ör. ALKERAN®);  
 Merkaptopurin, ör., 6-merkaptopurinler (6-MP'ler; ör. PURINETHOL®); Mesnalar  
 (ör. MESNEX®); Metotreksatlar; Metoksalenler (ör. UVADEX®); Mitomisin

C'ler (ör. MUTAMYCIN®, MITOZYTREX®); Mitotanlar (ör. LYSODREN®); Mitoksantronlar (ör. NOVANTRONE®); Nandrolon Fenpropionatlar (ör. DURABOLIN-50®); Nofetumomablar (ör. VERLUMA®); Oprelvekinler (ör. NEUMEGA®); Oksaliplatinler (ör. ELOKSATIN®); Paklitakseller (ör. PAXENE®, TAXOL®); Pamidronatlar (ör. AREDIA®); Pegademaslar (ör. ADAGEN®); Pegaspargazlar (ör. ONCASPAR®); Pegfilgrastimler (ör. NEULASTA®); Pentostatinler (ör. NIPENT®); Pipobromanlar (ör. VERCYTE®); Plikamisin/Mitramisinler (ör. MITHRACIN®); Porfimer sodyumlar (ör. PHOTOFRIN®); Prokarbazinler (ör. MATULANE®); Kinakrinler (ör. ATABRINE®); Rasburikazlar (ör. ELITEK®); Rituksimablar (ör. RITUXAN®); Sargramostimler (ör. PROKINE®); Streptozosinler (ör. ZANOSAR®); Sunitinib Malatlar (ör. SUTENT®); Talklar (ör. SCLEROSOL®); Tamoksifenler (ör. NOLVADEX®); Temozolomidler (ör. TEMODAR®); Teniposidler/VM-26'lar (ör. VUMON®); Testolaktonlar (ör. TESLAC®); Tioguaninler, örneğin, 6-tioguanin (6-TG); Tiotepalar (ör. THIOPLEX®); Topotekanlar (ör. HYCAMTIN®); Toremifenler (ör. FARESTON®); Tositumomablar (ör. BEXXAR®); Trastuzumablar (ör. HERCEPTIN®); Tretinoinler/ATRA (ör. VESANOID®); Urasil Hardallar; Valrubicinler (ör. VALSTAR®); Vinblastinler (ör. VELBAN®); Vinkristinler (ör. ONCOVIN®); Vinorelbinler (ör. NAVELBINE®); ve Zoledronatlar (ör. ZOMETA®).

## H. ÖRNEKLER

Aşağıdaki örnekler sadece açıklama amacıyla verilmektedir ve buluşun kapsamını kısıtlayıcı nitelikte değildir.

### Örnek 1

#### 25 **Bir İnsan Pankreas Tümörü Ksenogref Modelinde PEGPH20 ve Nab-Paklitaksel Kombinasyon Tedavisinin Antitümör Etkisi**

Bir insan pankreas kanseri ksenogref modeli nanotanecikli albümine bağlı (nab)-paklitaksel ile kombinasyon halinde PEGPH20'nin antitümör etkileri için değerlendirilmiştir.

BxPC3 pankreas kanseri hücre hattı tümör hücreleri (Amerikan Doku Kültür Koleksiyonu (ATCC) CRL-1687) yaklaşık %80 hücre doluluk oranına kadar büyütülmüş, tripsinlenmiş, toplanmış, bir kez HBSS (Hank dengeli tuz çözeltisi, Mediatech Inc.) içinde yıkanmıştır. Aşılardan önce hücreler iki kez steril HBSS ile yıkanmış, Tripan

5 Mavisi Ayırma aracılığıyla hücre konsantrasyonu ve yaşayabilirliğini belirleyen bir Nexcelom Cellometer (Nexcelom Bioscience; Lawrence, MA) otomatik sayma aracı kullanılarak sayılmış ve hayvanlara aşılardan önce buz üzerinde HBSS ile  $1 \times 10^8$  hücre/mL konsantrasyona kadar seyreltilmiştir. Yaklaşık 6 haftalık erkek tüysüz fareler (Atimik NCr *nu/nu* fareleri, Taconic Laboratories, Inc.) intramüsküler olarak (IM) 0.05

10 mL hücre süspansiyonuyla, peritibial olarak, sol arka bacadan (tibia periosteum yakınında) aşılanmıştır. Hayvanlardaki tümörler haftada iki kez değerlendirilmiş ve yaklaşık  $350 - 400 \text{ mm}^3$  ortalama tümör hacmine kadar büyümelerine izin verilmiştir. Gerçek tümör hacimleri VisualSonics Vevo 770 yüksek-çözünürlüklü ultrason (VisulaSonics Inc.; Toronto, Ontario, Kanada) kullanılarak belirlenmiştir.

15 Tümör taşıyan hayvanlar grup başına 8 hayvan içeren 8 tedavi grubu halinde bölünmüş ve intravenöz olarak şunlarla tedavi edilmiştir: 1) araç (API tamponu); 2) PEGPH20 (4.5 mg/kg); 3) nab-paklitaksel (3 mg/kg; düşük doz); 4) nab-paklitaksel (10 mg/kg; orta doz); 5) nab-paklitaksel (30 mg/kg; yüksek doz); 6) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-paklitaksel (3 mg/kg); 7) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-paklitaksel (10 mg/kg); veya 8) PEGPH20

20 (4.5 mg/kg) + nab-paklitaksel (30 mg/kg). PEGPH20 ve nab-paklitaksel ayrı ayrı uygulanmıştır. Önce PEGPH20 hemen ardından nab-paklitaksel uygulanmıştır. Tedavilerin dozu ve sıklığı 3 günde bir 0.1 mL/25 g fare veya 4.0 mL/kg ile Gün 0'da toplam 6 enjeksiyon olmuştur (yani, Gün 0, 3, 6, 9, 12, 15).

Tüm farelerin tümör hacimleri haftada 2 kez VisualSonics ultrason sistemi kullanılarak

25 çekilen görüntülerle ölçülmüştür. Tümör hacmi bir 3D-mod görüntüleme yazılım programı (VisualSonics® Vevo 770®, v 3.0.0) kullanılarak hesaplanmıştır. Tümör büyümesi inhibisyon yüzdesi (%TGI) aşağıdaki denklemle hesaplanmıştır:

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

Yukarıdaki denklemde,  $T_n$  tedaviden sonraki belirtilen zaman noktasında ilgili gün "n"de

30 tedavi grubundaki ortalama tümör hacmidir;  $T_0$  tedaviden önce Gün 0'da tedavi grubundaki ortalama tümör hacmidir;  $C_n$  araçla tedaviden sonra belirtilen zaman

noktasında ilgili gün "n"de kontrol grubundaki ortalama tümör hacmidir; ve C<sub>0</sub> tedaviden önce Gün 0'da kontrol grubundaki ortalama tümör hacmidir.

Sonuçlar Şekil 1'te gösterilmektedir. Sonuçlar, nab-paklitakselin yüksek ve orta dozlarda tümör büyümesini inhibe ettiğini, bunun PEGPH20 mevcudiyetinde geliştirildiğini göstermektedir. Örneğin, tümör hacminin ölçüldüğü son zaman noktasında, orta ila yüksek nab-paklitaksel dozları (10 mg/kg ve 30 mg/kg) tümör büyümesini araç kontrole kıyasla sırasıyla %62 (p<0.01) ve %74 (p<0.01) inhibe etmiştir. PEGPH20 varlığında, 10 mg/kg dozda nab-paklitaksel tedavi grupları için tümör büyümesi inhibisyonu %72'ye (p<0.01) yükselmiş ve 30 mg/kg dozda nab-paklitaksel tedavi grupları için %91'e (p<0.01) yükselmiştir. Bu, orta nab-paklitaksel dozu için etkinlikte PEGPH20 aracılığıyla %19'luk ve yüksek nab-paklitaksel dozu için %26'luk bir artıştır. 4.5 mg/mg PEGPH20 ile tedavi edilen gruplarda veya PEGPH20 varlığında ve olmadan 3 mg/kg düşük dozda nab-paklitaksel ile tedavi edilen gruplarda herhangi bir önemli tümör büyümesi inhibisyonu gözlemlenmemiştir.

## 15 Örnek 2

### **Bir İnsan Pankreas Tümörü Ksenogref Modelinde PEGPH20, Nab-Paklitaksel ve Gemsitabin Kombinasyon Tedavisinin Antitümör Etkisi**

#### **A. Tümör Büyümesi İnhibisyonu**

Örnek 1'de açıklanan insan pankreas kanseri ksenogref modeli kullanılarak gemsitabin tedavisi ile ek kombinasyon halinde PEGPH20 ve nab-paklitaksel kombinasyon terapisinin antitümör etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma gerçekleştirilmeden önce, gemsitabin için bir uygulama şekli ve doz seviyesi seçilmiştir. Bunun için, tümör taşıyan fareler 21 gün (gün 0, 7, 14 ve 21) değişik gemsitabin dozlarıyla (60 mg/kg, 120 mg/kg, 180 mg/kg ve 240 mg/kg) haftada bir kez tedavi edilmiş ve tümör hacmi yukarıda 25 açıklandığı gibi izlenmiştir. Sonuçlar Şekil 2'de gösterilmektedir. Sonuçlar, gemsitabinin sadece araca kıyasla test edilen tüm dozlarda tümör büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir. Müteakip PEGPH20 tümleşik kemoterapi çalışmalarında kullanılmak üzere 180 mg/kg'lik optimum-altı bir doz seçilmiştir. Üç anti-kanser maddesinin, PEGPH20, gemsitabin ve nab-paklitaksel, birleştirilmesinin potansiyel faydalarını



değerlendirmek için, hem gemsitabin ve hem de nab-paklitakselin optimum-altı dozları seçilmiştir.

Tümör taşıyan fareler grup başına 12 hayvan içeren 8 tedavi grubu halinde bölünmüş ve şunlarla tedavi edilmiştir: 1) araç (API tamponu); 2) PEGPH20 (4.5 mg/kg); 3) nab-paklitaksel (10 mg/kg); 4) gemsitabin (180 mg/kg); 5) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-paklitaksel (10 mg/kg); 6) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + gemsitabin (180 mg/kg); 7) nab-paklitaksel (10 mg/kg) + gemsitabin (180 mg/kg); veya 8) PEGPH20 (4.5 mg/kg) + nab-paklitaksel (10 mg/kg) + gemsitabin (180 mg/kg). PEGPH20 ve nab-paklitaksel intravenöz olarak uygulanmış ve tedavilerin dozu ve sıklığı dört haftalık bir doz döngüsü boyunca haftada 2 kez (2x/hafta) olmuştur. Gemsitabin doz döngüsünün üç haftası boyunca 7 günde bir PEGPH20 ve/veya nab-paklitakselden 24 saat sonra intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Test edilen gruba bağlı olarak, dört haftalık bir döngüde maddelerin uygulanması için doz uygulama programı Tablo 5'te verilmektedir.

**Tablo 5: Doz Uygulama Programı**

<b>Program</b>	<b>Tedavi</b>
Gün 0	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 1 (gün 0 uygulamasından 24 saat sonra)	gemsitabin (intraperitoneal)
Gün 4	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 7	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 8 (gün 7 uygulamasından 24 saat sonra)	gemsitabin (intraperitoneal)
Gün 11	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 14	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 15 (gün 14 uygulamasından 24 saat sonra)	gemsitabin (intraperitoneal)
Gün 18	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)

Program	Tedavi
Gün 21	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)
Gün 25	araç veya PEGPH20 ± nab-paklitaksel (her biri intravenöz)

Tümör hacmi ve tümör büyümesi inhibisyonu Örnek 1'de açıklandığı gibi belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 3'te gösterilmektedir. Sonuçlar, tek başına gemsitabin, tek başına PEGPH20 ve PEGPH20 + gemsitabinin bir miktar antitümör aktivitesi sergilediğini, ancak antitümör etkisinin PEGPH20, nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlarda görülen en yüksek antitümör etkisiyle, nab-paklitaksel içeren terapilerde çok daha yüksek olduğunu göstermektedir. Tablo 6'da sonuçlar gün 26'daki tümör hacmi ölçümlerinden belirlenen araca göre büyüme inhibisyonu yüzdesi olarak gösterilmektedir. Sonuçlar, hayvanların nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedaviye ek olarak PEGPH20 ile tedavi edilmesinin araca göre %81 tümör büyümesiinhibisyonu sağladığını ve PEGPH20 olmadan nab-paklitaksel ve gemsitabin tedavisinin sadece %66'lık bir tümör büyümesi inhibisyonu sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla, sonuçlar, nab-paklitaksel ve gemsitabin kombinasyon terapisine ek olarak PEGPH20'nin etkinlikte %23'lük bir artış sağladığını göstermektedir.

15 **Tablo 6: Gemsitabin ve/veya nab-paklitaksel ile kombinasyon halinde PEGPH20'nin antitümör etkisi**

Tedavi	Tümör Büyümesi İnhibisyonu (araç kontrolüne göre %)	p-değeri (araç kontrolüne göre)
gemsitabin	25	0.0110
PEGPH20 + gemsitabin	38	<0.0001
PEGPH20	39	<0.0028
nab-paklitaksel	63	<0.0001
nab-paklitaksel + gemsitabin	66	<0.0001
PEGPH20 + nab-paklitaksel	71	<0.0001

Tedavi	Tümör Büyümesi İnhibisyonu (araç kontrolüne göre %)	p-değeri (araç kontrolüne göre)
PEGPH20 + nab-paklitaksel + gemsitabin	81	<0.0001

### B. Orta Hayatta Kalma Süresi

Bölüm A'da belirtildiği gibi ilk dört haftalık doz uygulama döngüsünün ardından, doz uygulama döngüsü iki kez tekrarlanmış ve hayatta kalma son noktaya kadar olan süre zaman içinde izlenmiştir. Kısaca, her bir doz uygulama döngüsünde, hayvanlar dört hafta süreyle haftada iki kez intravenöz olarak araç veya nab-paklitaksel (10 mg/kg) ile veya bu olmadan PEGPH20 (4.5 mg/mL) ile tedavi edilmiştir. Her bir döngüde, gemsitabin uygulanan gruplara gemsitabin doz döngüsünün üç haftası boyunca 7 günde bir PEGPH20 ve/veya nab-paklitakselden 24 saat sonra intraperitoneal olarak uygulanmıştır (180 mg/kg). Hayvan hayatta kalma süresi yerine kullanılan hayatta kalma son noktasına kadar olan süre, (a) tümör hacminin 2000 mm<sup>3</sup>'nin üstüne çıkma süresi, (b) vücut ağırlığının %20'yi aşma süresi veya (c) hayvanın hayatının tehlikeye girmesi veya ölme süresi olarak tanımlanmıştır.

Sonuçlar Şekil 4 ve Tablo 7'de verilmektedir. Sonuçlar, sadece gemsitabile tedavi edilen hayvanların orta hayatta kalma süresi son noktaya kadar olan süresinin 38 gün olduğunu, nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedavi edilen hayvanların 52 gün olduğunu ve PEGPH20, nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedavi edilen hayvanların 68 gün olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, sonuçlar, nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedaviye PEGPH20 eklenmesinin orta hayatta kalma süresini herhangi bir başka tedaviye kıyasla arttırdığını, etkinliği PEGPH20 olmadan nab-paklitaksel ve gemsitabin ile tedaviye kıyasla %31 arttırdığını ve sadece gemsitabine kıyasla etkinliği %79 arttırdığını göstermektedir.

**Tablo 7: Orta Hayatta Kalma Süresi**

Tedavi	Orta Hayatta Kalma Süresi (gün)
gemsitabin	38
nab-paklitaksel + gemsitabin	52
PEGPH20 + nab-paklitaksel + gemsitabin	68 <sup>*‡</sup>

\* Araca göre ( $p < 0.0001$ )

‡ nab-paklitaksel + gemsitabine göre ( $p = 0.0008$ )

### C. Tümör Biyo-ışaretlerinin Ölçümü

Pankreas kanseriyle ilişkili karbonhidrat antijen 19-9 (CA19-9) ve karsinoembriyonik antijen (CEA) biyo-ışaretleri terapötik cevabı ölçmek için test edilmiştir. Hayvanlar bölüm A'da açıklandığı gibi tedavi edilmiştir. Birinci doz uygulama döngüsünde gün 0, 6, 13 ve 20'de her bir gruptaki uydu hayvanlardan ( $n \leq 3$ ) serum alınmıştır. İnsan CA19-9'u bir CA 19-9 ELISA kiti (Katalog No. CA199T, Calbiotech, Spring Valley, CA) ve CEA tümör antijeni bir CEA ELISA kiti (Katalog No. CE062T, Calbiotech, Spring Valley, CA) kullanılarak ölçülmüştür.

Sonuçlar Şekil 5'te verilmektedir. Sonuçlar, PEGPH20 tedavisi mevcudiyetinin tüm tedavi gruplarında ölçülen işaretlerde bir azalma sağladığını göstermektedir. Örneğin, gün 20'de, tespit edilen CA19-9 işareti seviyesi yaklaşık 40-60 U/mL arasında PEGPH20 ile tedavi edilen tüm gruplarda benzer olmuştur. Buna karşılık, nab-paklitaksel veya nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlardaki CA19-9 işareti seviyesi PEGPH20 ile de tedavi edilen hayvanlarınkinin yaklaşık iki katı olmuş ve yaklaşık 110 U/mL olmuştur. Sadece gemsitabinle tedavi edilen hayvanlar yaklaşık olarak sadece araçla tedavi edilen kontrole benzer olan CA19-9 seviyeleri sergilemiştir. Dolayısıyla, sonuçlar, PEGPH20 + nab-paklitaksel ile tedavi edilen hayvanların CA19-9 seviyelerinin sadece nab-paklitaksel ile tedavi edilen hayvanlara kıyasla düşük olduğunu; PEGPH20 + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanların CA19-9 seviyelerinin sadece gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlara kıyasla düşük olduğunu; ve PEGPH20 + nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanların CA19-9 seviyelerinin nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlara kıyasla düşük olduğunu göstermektedir. PEGPH20 + nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlar için, PEGPH20 olmadan nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi edilen hayvanlara kıyasla CA19-9 %49 düşmüştür.

CEA işareti ölçüldüğünde, sonuçlar benzer olmuştur. Bu işaret kullanıldığında, araç kontrole kıyasla sadece nab-paklitaksel ile tedavi edilen hayvanlarda gün 20'de CEA seviyeleri büyük ölçüde değişmemiştir, çünkü CEA bu gruplarda yaklaşık 20 ila 25 ng/mL'de ölçülmüştür. Gemsitabin veya nab-paklitaksel + gemsitabin ile tedavi

edilen hayvanlarda, gün 20'de ölçülen CEA işaretinde yaklaşık 15 ng/mL'ye bir miktar düşüş olmuştur. PEGPH20 mevcudiyetinde, ölçülen işaretin seviyesi PEGPH20 olmayan tedavi gruplarına kıyasla önemli ölçüde düşmüştür. Örneğin, sadece PEGPH20 ile tedavi edilen hayvanlarda, gün 20'de ölçülen CEA yaklaşık 7-8 ng/mL olmuştur. PEGPH20 +  
 5 gemitabin, PEGPH20+nab-paklitaksel veya PEGPH20+nab-paklitaksel +gemitabin ile tedavi edilen hayvanlarda, gün 20'de CEA seviyeleri ELISA ile ölçüm için çok düşük olmuştur.

### Örnek 3

#### rHuPH20 Eksprese Eden Hücre Hatları

##### 10 A. Bir İlk Çözünebilen rHuPH20 Eksprese Eden Hücre Hattının Oluşturulması

Çin Hamsteri Yumurtalığı (CHO) hücreleri HZ24 plazmidi (DİZİ ID NO:52'de verilen) ile transfekte edilmiştir. Çözünebilen sHASEGP ekspresyonu için HZ24 plazmid vektörü bir pCI vektör omurgası (Promega), insan PH20 hiyalüronidazındaki amino asit 1-482'yi kodlayan DNA (DİZİ ID NO:49), ECMV virüsünden (Clontech) bir dahili ribozom giriş bölgesi (IRES) ve fare dihidrofolat redüktaz (DHFR) geni içerir. pCI vektör omurgası  
 15 ayrıca beta-laktamaz direnci geni (AmpR) kodlayan DNA, bir fl kopya orijinali, bir Sitomegalovirüs ani-erken geliştirici/destekleyici bölgesi (CMV), bir kimerik intron ve bir SV40 geç poliadenilasyon sinyali (SV40) içerir. Çözünebilen rHuPH20 yapısını kodlayan DNA insan PH20'sinin doğal 35 amino asitli sinyal dizisinde konum 1'deki  
 20 metionini kodlayan DNA'dan önce bir NheI bölgesi ve bir Kozak uzum dizisi ve insan PH20 hiyalüronidazında (DİZİ ID NO:1'de verilen) amino asit konumu 482'ye karşılık gelen tirocini kodlayan DNA'nın ardından bir durdurma kodonu ve ardından bir BamHI sınırlama bölgesi içerir. Dolayısıyla pCI-PH20-IRES-DHFR-SV40pa (HZ24) yapısı dahili ribozomal giriş bölgesi (IRES) tarafından ayrılan insan PH20'sindeki amino asit 1-  
 25 482'yi (DİZİ ID NO:3'te verilmektedir) ve fare dihidrofolat redüktazındaki amino asit 1-186'yı (DİZİ ID NO:53'te verilmektedir) kodlayan CMV destekleyicisi tarafından desteklenen tek bir mRNA türü sağlar.

4 mM Glütamin ve 18 ml/L Pluronic F68/L (Gibco) ile takviye edilmiş DHFR(-) hücreleri için GIBCO modifiye edilmiş CD-CHO ortamı içinde büyütülen transfekte  
 30 edilmemiş CHO hücreleri transfeksiyon için hazırlanırken bir çalkalama şişesi içinde 0.5

$\times 10^6$  hücre/ml oranında ekilmiştir. Hücreler 120 devir/dakika hızda çalkalanırken bir nemli enkübatörde 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içinde büyütülmüştür. Üssel bir şekilde büyüyen transfekte edilmemiş CHO hücreleri transfeksiyondan önce yaşayabilirlik için test edilmiştir.

- 5 Transfekte edilmemiş CHO hücresi kültüründen altmış milyon yaşayabilen hücre pelet haline getirilmiş ve 0.7 mL 2x transfeksiyon tamponu (2x HeBS = 40 mM Hepes, pH 7.0, 274 mM NaCl, 10 mM KCl, 1.4 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12 mM dekstroz) içinde  $2 \times 10^7$  hücre yoğunluğunda tekrar süspansiyon haline getirilmiştir. Tekrar süspansiyon haline getirilmiş hücrelerin her bir bölümüne 0.09 mL doğrusal HZ24 plazmidi (250 µg) (gece
- 10 boyunca Cla I ile sindirilerek doğrusallaştırılmış) (New England Biolabs) eklenmiş ve hücre/DNA çözeltileri oda sıcaklığında 0.4 cm boşluklu BTX (Gentronics) elektroporasyon kuvvetlerine aktarılmıştır. Hücrelerle hiç plazmid DNA karıştırılmadan bir negatif kontrol elektroporasyon gerçekleştirilmiştir. Hücre/plazmid karışımları 330 V ve 960 µF veya 350 V ve 960 µF kapasitör boşalmasıyla elektroporasyona tabi
- 15 tutulmuştur.

Hücreler elektroporasyondan sonra küvetten çıkarılmış ve 4 mM Glütamin ve 18 ml Pluronic F68/L (Gibco) ile takviye edilmiş DHFR(-) hücreleri için 5 mL modifiye edilmiş CD-CHO ortamına aktarılmış ve 2 gün 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içinde bir nemli enkübatörde seçilmeden 6 gözenekli bir doku kültürü plakasının bir gözeneğinde büyümeye

20 bırakılmıştır.

Elektroporasyondan iki gün sonra, her bir gözenekten 0.5 mL doku kültürü ortamı çıkarılmış ve Örnek 6'da açıklanan mikro-bulanıklık analizi kullanılarak hiyalüronidaz aktivitesi mevcudiyeti için test edilmiştir. En yüksek hiyalüronidaz aktivitesi seviyeleri sergileyen hücreler doku kültürü gözeneğinden toplanmış, sayılmış ve mL başına  $1 \times 10^4$

25 ila  $2 \times 10^4$  yaşayabilen hücre oranında seyreltilmiştir. Beş 96 gözenekli yuvarlak tabanlı doku kültürü plakasındaki her bir gözeneğe hücre süspansiyonunun 0.1 mL'lik bir bölümü aktarılmıştır. Hücre içeren gözeneklere 4 mM GlutaMAX™-1 takviyesi (GIBCO™, Invitrogen Corporation) içeren ve hipoksantin ve timidin takviyeleri içermeyen yüz mikrolitre CD-CHO ortamı (GIBCO) eklenmiştir (nihai hacim 0.2 mL).

- 30 Metotreksat olmadan büyüyen 5 plakadan on klon belirlenmiştir. Bu HZ24 klonlarının altısı kültürde çoğaltılmış ve tek hücre süspansiyonları olarak çalkalama şişelerine

aktarılmıştır. 3D3, 3E5, 2G8, 2D9, 1E11 ve 4D10 klonları, üst sol gözenekte 5000 hücreyle başlanarak, hücrelerin plakada aşağı doğru 1:2 ve plakada enine olarak 1:3 oranında seyreltildiği bir iki boyutlu sonsuz seyreltme stratejisi kullanılarak 96 gözenekli yuvarlak tabanlı doku kültürü plakalarına konulmuştur. Kültürün ilk günlerinde yeterli büyüme faktörlerini sağlamak için, seyreltilmiş klonlar gözenek başına 500 transfekte edilmemiş DG44 CHO hücresi arka planında büyütülmüştür. Alt-klon başına, 50 nM metotreksat içeren 5 plaka ve metotreksat içermeyen 5 plaka şeklinde, on plaka hazırlanmıştır.

3D3 klonu 24 görsel alt-klon üretmiştir (metotreksat olmayan işlemde 13 ve 50 nM metotreksat işleminden 11). 24 alt-klondan 8'inin üstte kalan fazında önemli hiyalüronidaz aktivitesi ölçülmüş ( $> 50$  Birim/mL) ve bu 8 alt-klon T-25 doku kültürü şişeleri içinde çoğaltılmıştır. Metotreksat işlemi protokolünden izole edilen klonlar 50 nM metotreksat varlığında çoğaltılmıştır. 3D35M klonu ayrıca çalkalama şişelerinde 500 nM metotreksat içinde çoğaltılmış ve 1,000 Birim/ml'den yüksek hiyalüronidaz aktivitesi üreten klonlar oluşturmuştur (klon 3D35M; veya Gen1 3D35M). Daha sonra 3D35M hücrelerinin bir ana hücre bankası (MCB) hazırlanmıştır.

### **B. Çözünebilen rHuPH20 Eksprese Eden İkinci Jenerasyon Hücre Hattının Oluşturulması**

Örnek 3A'da açıklanan Gen1 3D35M hücre hattı daha yüksek metotreksat seviyelerine uyarlanarak jenerasyon 2 (Gen2) klonlar üretilmiştir. 3D35M hücreleri oluşturulan metotreksat-içeren kültürlerden 4 mM GlutaMAX-1™ ve 1.0 µM metotreksat içeren CD CHO ortamına ekilmiştir. Hücreler bir 37°C, %7 CO<sub>2</sub> nemli enkübatöründe 46 günlük bir periyot boyunca büyütülerek ve 9 kez pasajlanarak daha yüksek bir metotreksat seviyesine uyarlanmıştır. Hücrelerin çoğaltılan popülasyonu 2.0 µM metotreksatlı ortam içeren 96 gözenekli kültür plakalarında sınırlayıcı seyreltme ile klonlanmıştır. Yaklaşık 4 hafta sonra, klonlar belirlenmiş ve 3E10B klonu çoğaltılmak üzere seçilmiştir. 3E10B hücreleri 4 mM GlutaMAX-1™ ve 2.0 µM metotreksat içeren CD CHO ortamında 20 pasaj boyunca büyütülmüştür. 3E10B hücre hattının ana hücre bankası (MCB) oluşturulmuş ve dondurulmuş ve müteakip çalışmalar için kullanılmıştır.

3D35M hücrelerinin 4 mM GlutaMAX-1™ ve 4.0 µM metotreksat içeren CD CHO ortamında kültürlenmesiyle hücre hattının çoğaltılmasına devam edilmiştir. 12. pasajdan sonra, hücreler bir araştırma hücre bankası (RCB) olarak şişeler içinde dondurulmuştur. Bir şişe RCB'nin buzu eritilmiş ve 8.0 µM metotreksat içeren ortam içinde

5 kültürlenmiştir. 5 gün sonra, ortam içindeki metotreksat konsantrasyonu 16.0 µM'ye, 18 gün sonra ise 20.0 µM'ye yükseltilmiştir. 20.0 µM metotreksat içeren ortamdaki 8. pasajdan hücreler 4 mM GlutaMAX-1™ ve 20.0 µM metotreksat içeren CD CHO ortamı içeren 96 gözenekli doku kültürü plakalarında sınırlayıcı seyreltme ile klonlanmıştır. Klonlar 5-6 hafta sonra belirlenmiş ve 2B2 klonu 20.0 µM metotreksat içeren ortamda

10 çoğaltma için seçilmiştir. 11. pasajdan sonra, 2B2 hücreleri bir araştırma hücre bankası (RCB) olarak şişeler içinde dondurulmuştur.

Oluşan 2B2 hücreleri çözünebilen rekombinant insan PH20'si (rHuPH20) eksprese eden dihidrofolat reduktaz eksikliği olan (dhfr-) DG44 CHO hücreleridir. Çözünebilen PH20 2B2 hücrelerinde yaklaşık 206 kopya/hücre kopya sayısında mevcuttur. Bir rHuPH20'ye

15 özel prob kullanılarak Spe I-, Xba I- ve BamH I/Hind III-sindirilmiş genomik 2B2 hücresi DNA'sı Aouthern blot analizi şu sınırlama sindirimi profilini vermiştir: Spe I ile sindirilen DNA ile □ 7.7 kb'lik bir ana hibritlenen bant ve dört küçük hibritlenen bant (□ 13.9, □ 6.6, □ 15.7 ve □ 14.6 kb); Xba I ile sindirilen DNA ile □ 15.0 kb'lik bir ana hibritlenen bant ve iki küçük hibritlenen bant (□ 13.9 ve □ 16.5 kb); ve BamH I/Hind III ile sindirilen 2B2 DNA

20 kullanıldığında gözlemlenen tek bir □ 1.4 kb'lik hibritlenen bant. mRNA kopyasının dizi analizi, türetilen cDNA'nın (DİZİ ID NO:56) beklenen sitosin (C) yerine bir timidin olduğu gözlemlenen konum 1131'deki bir baz çifti farkı dışında referans diziye (DİZİ ID NO:49) özdeş olduğunu göstermiştir. Bu etkisiz bir mutasyondur, amino asit dizisi üzerinde herhangi bir etkisi yoktur.

## 25 **Örnek 4**

### **rHuPH20 Üretimi ve Saflaştırılması**

#### **A. 300 L Biyoreaktör Hücre Kültüründe Gen2 çözünebilen rHuPH20**

Bir şişe HZ24-2B2 hücresi (Örnek 3B) eritilmiş ve 20 µM metotreksat ve GlutaMAX-1™ (Invitrogen) ile takviye edilmiş CD-CHO ortamı (Invitrogen, Carlsbad, CA) içinde

30 36L döner şişeler aracılığıyla çalkalama şişelerinden çoğaltılmıştır. Kısaca, bir şişe hücre



37°C'deli bir su banyosunda eritilmiş, ortam eklenmiş ve hücreler santrifüjlenmiştir. Hücreler 125 mL'lik bir çalkalama şişesinde 20 mL taze ortamla tekrar süspansiyon haline getirilmiş ve bir 37°C, %7 CO<sub>2</sub> enkübatöre yerleştirilmiştir. Hücreler 125 mL'lik çalkalama şişesi içinde 40 mL'ye kadar çoğaltılmıştır. Hücre yoğunluğu  $1.5 \times 10^6$  hücre/mL'nin üzerine çıktığında, kültür 100 mL'lik bir kültür hacmi içinde 125 mL'lik bir döner şişeye çoğaltılmıştır. Şişe 37°C, %7 CO<sub>2</sub>'de enkübe edilmiştir. Hücre yoğunluğu  $1.5 \times 10^6$  hücre/mL'nin üzerine çıktığında, kültür 200 mL'lik bir kültür hacmi içinde 250 mL'lik bir döner şişeye çoğaltılmış ve şişe 37°C, %7 CO<sub>2</sub>'de enkübe edilmiştir. Hücre yoğunluğu  $1.5 \times 10^6$  hücre/mL'nin üzerine çıktığında, kültür 800 mL'lik bir kültür hacmi içinde 1 L'lik bir döner şişeye çoğaltılmış ve 37°C, %7 CO<sub>2</sub>'de enkübe edilmiştir. Hücre yoğunluğu  $1.5 \times 10^6$  hücre/mL'nin üzerine çıktığında, kültür 5000 mL'lik bir kültür hacmi içinde 6 L'lik bir döner şişeye çoğaltılmış ve 37°C, %7 CO<sub>2</sub>'de enkübe edilmiştir. Hücre yoğunluğu  $1.5 \times 10^6$  hücre/mL'nin üzerine çıktığında, kültür 32 L'lik bir kültür hacmi içinde 36 L'lik bir döner şişeye çoğaltılmış ve 37°C, %7 CO<sub>2</sub>'de enkübe edilmiştir.

400 L'lik bir reaktör sterilize edilmiş ve 230 mL CD-CHO ortamı eklenmiştir. Kullanılmadan önce, reaktör katılaşma için kontrol edilmiştir. Yaklaşık 30 L hücre çevirme 36 L döner şişelerden ml başına  $4.0 \times 10^5$  yaşayabilen hücre aşılama yoğunluğunda ve toplam 260 L hacminde 400 L'lik biyoreaktöre (Braun) aktarılmıştır. Parametreler şunlardır: sıcaklık ayar noktası, 37°C; Pervane Hızı 40-55 RPM; Kazan basıncı: 3 psi; Hava Dağılımı 0.5- 1.5 L/Dak.; Üst Hava Akışı: 3 L/ Dak.. Hücre sayımları, pH teyidi, ortam analizi, protein üretimi ve tutulum için reaktörden günlük olarak numune alınmıştır. Ayrıca, çalışma boyunca besin beslemeleri eklenmiştir. 120 saatte (gün 5), 10.4 L Besleme no. 1 Ortam (4× CD-CHO + 33 g/L Glükoz + 160 mL/L Glutamax-1™ + 83 mL/L Yeastolate + 33 mg/L rHuInsulin) eklenmiştir. 168 saatte (gün 7), 10.8 L Besleme no. 2 (2× CD-CHO + 33 g/L Glükoz + 80 mL/L Glutamax-1™ + 167 mL/L Yeastolate + 0.92 g/L Sodyum Bütirat) eklenmiş ve kültür sıcaklığı 36.5°C'ye değiştirilmiştir. 216 saatte (gün 9), 10.8 L Besleme no. 3 (1× CD-CHO + 50 g/L Glükoz + 50 mL/L Glutamax-1™ + 250 mL/L Yeastolate + 1.80 g/L Sodyum Bütirat) eklenmiş ve kültür sıcaklığı 36°C'ye değiştirilmiştir. 264 saatte (gün 11), 10.8 L Besleme no. 4 (1× CD-CHO + 33 g/L Glükoz + 33 mL/L Glutamax-1™ + 250 mL/L Yeastolate + 0.92 g/L Sodyum Bütirat) eklenmiş ve kültür sıcaklığı 35.5°C'ye değiştirilmiştir. Besleme ortamı eklenmesinin üretimin son aşamalarında çözünebilir rHuPH20 üretimini önemli ölçüde

arttırdığı gözlemlenmiştir. Reaktör 14 veya 15 günde veya hücrelerin yaşayabilirliği %40'ın altına düştüğünde toplanmıştır. İşleme 12 milyon hücre/mL maksimum hücre yoğunluğuyla ml başına 17,000 Birim nihai üretkenlik elde edilmiştir. Hasatta, mikoplazma, biyo-yük, endotoksin ve viral *in vitro* ve *in vivo*, Transmisyon Elektron  
5 Mikroskopisi (TEM) ve enzim aktivitesi için kültürden numune alınmıştır.

Kültür bir peristaltik pompa ile her biri 4-8 µm öğütülmüş bir diyatumlu toprak katmanı ve 1.4-1.1 µm öğütülmüş bir diyatumlu toprak katmanı içeren dört paralel Millistak filtreleme sistemi modülü (Millipore), ardından bir selüloz membranı, daha sonra 0.4-0.11 µm öğütülmüş bir diyatumlu toprak katmanı ve <0.1 µm öğütülmüş bir diyatumlu  
10 toprak katmanı içeren bir ikinci tekli Millitask filtreleme sistemi (Millipore), ardından bir selüloz membranı ve daha sonra bir 0.22 µm'lik nihai filtre boyunca bir steril tek kullanımlık 350 L kapasiteli esnek poşete pompalanmıştır. Toplanan hücre kültürü sıvısı pH 7.5'e kadar 10 mM EDTA ve 10 mM Tris ile takviye edilmiştir. Kültür dört Sartoslice TFF 30 kDa molekül ağırlığı ayırmalı (MWCO) polieter sülfon (PES) filtre (Sartorius)  
15 kullanılarak bir teğet akışlı filtreleme (TFF) cihazı, ardından 10× 10 mM Tris, 20 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7.5, ile tampon değiştirmeye 0.22 µm'lik bir nihai filtre içinden 50 L'lik bir steril saklama poşetine 10× yoğunlaştırılmıştır.

Yoğunlaştırılmış, diyafiltrelenmiş mahsul virüs için pasifleştirilmiştir. Virüs pasifleştirmesinden önce, %10 Triton X-100, %3 tri (n-bütil) fosfat (TNBP) çözeltisi  
20 hazırlanmıştır. Yoğunlaştırılmış, diyafiltrelenmiş mahsul Q kolonu üzerinde saflaştırmadan hemen önce 36 L'lik bir cam tepkime kabı içinde 1 saat %1 Triton X-100, %0.3 TNBP'ye maruz bırakılmıştır.

### **B. Gen2 çözünebilir rHuPH20'nin Saflaştırılması**

Bir Q Sepharose (Pharmacia) iyon değiştirme kolonu (9 L reçine, H= 29 cm, D= 20 cm)  
25 hazırlanmıştır. Yıkama numuneleri pH, iletkenlik ve endotoksin (LAL) tayini analizi için toplanmıştır. Kolon 5 kolon hacminde 10 mM Tris, 20 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7.5, ile dengelenmiştir. Virüs pasifleştirmesinin ardından, yoğunlaştırılmış, diyafiltrelenmiş mahsul (Örnek 4a) 100 cm/saat akış hızında Q kolonuna yüklenmiştir. Kolon 5 kolon hacminde 10 mM Tris, 20 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7.5 ve 10 mM HEPES, 50 mM NaCl, pH 7.0  
30 ile yıkanmıştır. Protein 10 mM HEPES, 400 mM NaCl, pH 7.0 ile 0.22 µm'lik nihai filtre

içinden steril poşete taşınmıştır. Taşınan numune biyo-yük, protein konsantrasyonu ve hiyalüronidaz aktivitesi için test edilmiştir. A<sub>280</sub> absorbans okumaları takasın başında ve sonunda alınmıştır.

Daha sonra Phenyl-Sepharose (Pharmacia) hidrofobik etkileşim kromatografisi gerçekleştirilmiştir. Bir Phenyl-Sepharose (PS) kolonu (19-21 L reçine, H=29 cm, D=30 cm) hazırlanmıştır. Yıkama toplanmış ve pH, iletkenlik ve endotoksin (LAL analizi) için numune alınmıştır. Kolon 5 kolon hacminde 5 mM potasyum fosfat, 0.5 M amonyum sülfat, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7.0, ile dengelenmiştir. Q sepharose kolonundan protein taşıma ürününün 2 M amonyum sülfat, 1 M potasyum fosfat ve 1 M CaCl<sub>2</sub> stok çözeltileriyle takviye edilmesiyle sırasıyla 5 mM, 0.5 M ve 0.1 mM nihai konsantrasyonlar elde edilmiştir. Protein 100 cm/saat akış hızında PS kolonuna yüklenmiş ve kolondan geçen akış ürünü toplanmıştır. Kolon 5 mM potasyum fosfat, 0.5 M amonyum sülfat ve 0.1 mM CaCl<sub>2</sub> pH 7.0 ile 100 cm/saat hızında yıkanmış ve yıkama toplamam akış ürününe eklenmiştir. Kolon yıkamasıyla birleştirilen akış 0.22 µm'lik bir nihai filtreden bir steril poşete geçirilmiştir. Akış ürününden biyo-yük, protein konsantrasyonu ve enzim aktivitesi için numune alınmıştır.

Bir aminofenil boronat kolonu (ProMedics) hazırlanmıştır. Yıkama toplanmış ve pH, iletkenlik ve endotoksin (LAL analizi) için numune alınmıştır. Kolon 5 kolon hacminde 5 mM potasyum fosfat, 0.5 M amonyum sülfat ile dengelenmiştir. Saflaştırılmış protein içeren PS akış ürünü 100 cm/saatlik bir akış hızında aminofenil boronat kolonuna yüklenmiştir. Kolon 5 mM potasyum fosfat, 0.5 M amonyum sülfat, pH 7.0, ile yıkanmıştır. Kolon 20 mM bisin, 0.5 M amonyum sülfat, pH 9.0, ile yıkanmıştır. Kolon 20 mM bisin, 100 mM sodyum klorür, pH 9.0, ile yıkanmıştır. Protein 50 mM Hepes, 100 mM NaCl, pH 6.9 ile taşınmış ve bir steril filtre boyunca bir steril poşete aktarılmıştır. Taşınan numune biyo-yük, protein konsantrasyonu ve enzim aktivitesi için test edilmiştir.

Hidroksiapatit (HAP) kolonu (Biorad) hazırlanmıştır. Yıkama toplanmış ve pH, iletkenlik ve endotoksin (LAL analizi) için test edilmiştir. Kolon 5 mM potasyum fosfat, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7.0, ile dengelenmiştir. Aminofenil boronatla saflaştırılmış protein 5 mM potasyum fosfat ve 0.1 mM CaCl<sub>2</sub> nihai konsantrasyonuna kadar takviye edilmiş ve 100 cm/saat akış hızında HAP kolonuna yüklenmiştir. Kolon 5 mM potasyum fosfat, pH 7, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub> ile yıkanmıştır. Kolon daha sonra 10 mM

potasyum fosfat, pH 7, 100 mM NaCl, 0.1 mM CaCl<sub>2</sub> ile yıkanmıştır. Protein 70 mM potasyum fosfat, pH 7.0 ile taşınmış ve 0.22 µm'lik bir steril filtre boyunca bir steril poşete aktarılmıştır. Taşınan numune biyo-yük, protein konsantrasyonu ve enzim aktivitesi için test edilmiştir.

- 5 HAP ile saflaştırılmış protein daha sonra bir virüs uzaklaştırma filtresinden geçirilmiştir. Sterilize edilmiş Viosart filtresi (Sartorius) önce 2 L 70 mM potasyum fosfat, pH 7.0, ile yıkanarak hazırlanmıştır. Kullanılmadan önce, filtrelenen tampondan pH ve iletkenlik için numune alınmıştır. HAP ile saflaştırılmış protein bir peristaltik pompa aracılığıyla 20 nM virüs uzaklaştırma filtresi boyunca pompalanmıştır. 70 mM potasyum fosfat, pH 10 7.0, içindeki filtrelenmiş protein 0.22 µm'lik bir nihai filtre boyunca bir steril poşete aktarılmıştır. Virüs filtrelenmiş numune protein konsantrasyonu, enzim aktivitesi, oligosakkarid, monosakkarid ve sialik asit profili için test edilmiştir. Numune ayrıca işleme ilgili katışıklıklar için test edilmiştir.

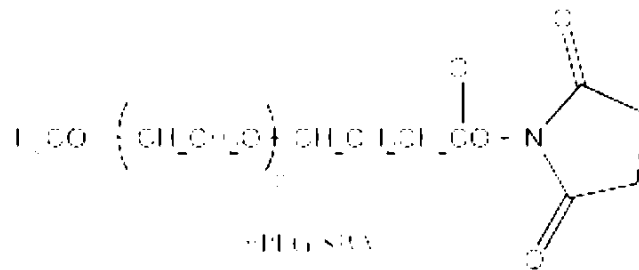
## Örnek 5

### 15 PEG'lenmiş rHuPH20 Hazırlanması

Bu örnekte, rHuPH20 enzimin metoksi poli(etilen glikol) bütanoik asidin doğrusal N-hidroksisüksinimidil esteri (mPEG-SBA-30K) ile tepkimeye sokulmasıyla PEG'lenmiştir.

#### A. mPEG-SBA-30K'nın Hazırlanması

- 20 PEGPH20 oluşturmak için, rHuPH20 (boyutu yaklaşık 60 kDa'dır) kovalent olarak molekül ağırlığı yaklaşık 30 kDa olan metoksi poli(etilen glikol) bütanoik asidin bir doğrusal N-hidroksisüksinimidil esterine (mPEG-SBA-30K) konjüge edilmiştir. mPEG-SBA yapısı aşağıda gösterilmektedir, burada  $n \approx 681$ .

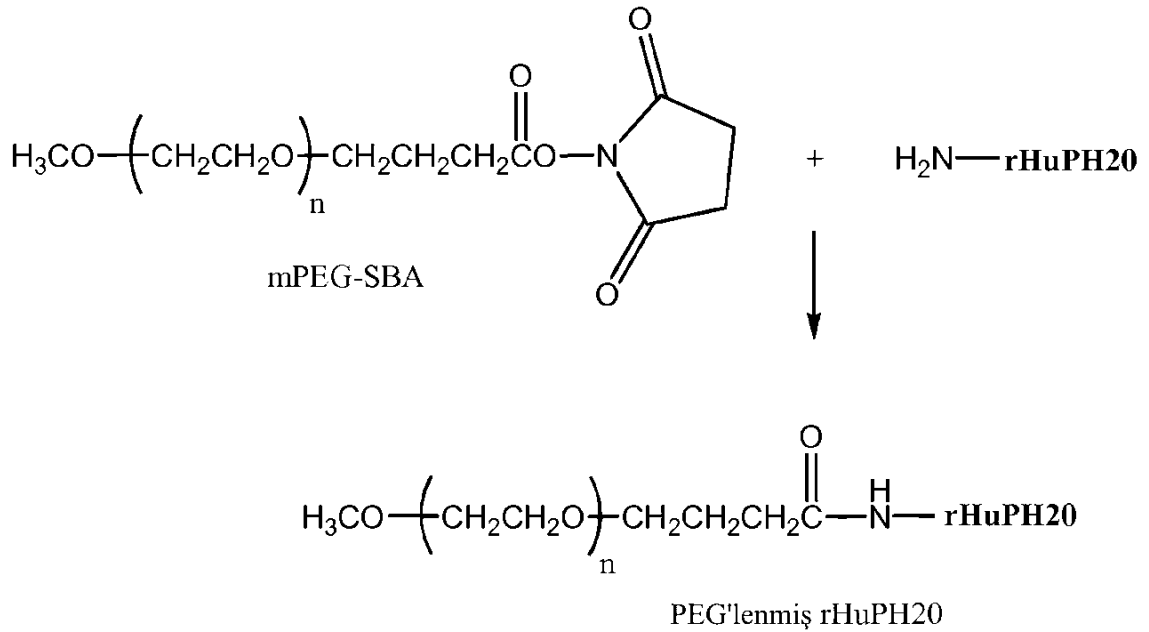


rHuPH20'yi PEG'lemek için kullanılan mPEG-SBA-30K'yı hazırlamak için kullanılan usuller örneğin ABD Patenti No. 5.672.662'de açıklanmaktadır. Kısaca, mPEG-SBA-30K aşağıdaki prosedüre göre hazırlanmıştır:

- 5 Dioksan içinde çözülmüş bir etil malonat (2 eşdeğer) çözeltisi damla damla azot atmosferi altında sodyum hidrür (2 eşdeğer) ve tolüene eklenmiştir. mPEG metan sülfonat (1 eşdeğer, MW 30 kDa, Shearwater) tolüen içinde çözülmüş ve yukarıdaki karışıma eklenmiştir. Oluşan karışım yaklaşık 18 saat geri akışa tabi tutulur. Tepkime karışımı orijinal hacminin yarısına yoğunlaştırılır, %10 sulu NaCl çözeltisi ile ekstrakte edilir, %1 sulu hidroklorik asit ile ekstrakte edilir ve sulu ekstraktlar birleştirilir. Toplanan sulu tabakalar diklorometanla ekstrakte edilir (3x) 10 ve organik tabaka magnezyum sülfatla kurutulur, filtrelenir ve kuruyana kadar buharlaştırılır. Oluşan kalıntı sodyum klorür içeren 1 N sodyum hidroksit içinde çözülür ve karışım 1 saat karıştırılır. Karışımın pH'si 6 N hidroklorik asit eklenerek yaklaşık 3'e ayarlanır. Karışım diklorometan ile ekstrakte edilir (2x).
- 15 Organik tabaka magnezyum sülfat üzerinde kurutulur, filtrelenir, yoğunlaştırılır ve soğuk dietil eter içine dökülür. Çökelti süzülerek toplanır ve vakum altında kurutulur. Oluşan bileşik dioksan içinde çözülür ve 8 saat geri akışa tabi tutulduktan sonra kuruyana kadar yoğunlaştırılır. Oluşan kalıntı su içinde çözülür ve diklorometanla ekstrakte edilir (2x), magnezyum sülfat üzerinde kurutulur ve çözelti döner buharlaştırıcı ile 20 yoğunlaştırıldıktan sonra soğuk dietil eter içine dökülür. Çökelti süzülerek toplanır ve vakum altında kurutulur. Oluşan bileşik (1 eşdeğer) diklorometan içinde çözülür ve N-hidroksisüksinimid (2.1 eşdeğer) eklenir. Çözelti 0°C'ye soğutulur ve damla damla diklorometan içindeki bir disikloheksilkarbodiimid (2.1 eşdeğer) çözeltisine eklenir. Çözelti oda sıcaklığında yaklaşık 18 saat karıştırılır. Tepkime karışımı süzülür, 25 yoğunlaştırılır ve dietil eter içinde çöktürülür. Çökeltinin süzülerek toplanması ve vakum altında kurutulmasıyla elde edilen mPEG-SBA-30K tozu  $\leq -15$  °C'de dondurulur.

### **B. mPEG-SBA-30K'nın rHuPH20'ye konjügasyonu**

- PEGPH20 yapmak için, mPEG-SBA-30K'nın kovalent konjügasyonla rHuPH20'deki amino grubu(gruplarına) bağlanmasıyla, aşağıda gösterildiği gibi, rHuPH20 ve mPEG 30 arasında stabil amid bağları sağlanmıştır, burada  $n \approx 681$ .



Konjügasyondan önce, Örnek 4B'de yapılan rHuPH20 saflaştırılmış toplu protein 0.2 m<sup>2</sup>'lik bir filtreleme alniyla 10 kDa polietersülfon (PES) teğet akış filtreleme (TFF) kasetleri (Sartorius) kullanılarak 10 mg/mL'ye yoğunlaştırılmış ve pH 7.2'de 70 mM Potasyum Fosfata karşı tampon değiştirilmiştir. Yoğunlaştırılan protein daha sonra kullanılabilece kadar 2-8°C'de saklanmıştır.

rHuPH20'yi konjüge etmek için, mPEG-SBA-30K (Nektar) oda sıcaklığında karanlıkta en fazla 2 saat süreyle eritilmiştir. Parti boyutuna bağlı olarak, bir steril 3" karıştırma çubuğu bir 1 veya 3 litrelik Erlenmeyer şişesine yerleştirilmiş ve tamponu değiştirilmiş rHuPH20 proteini eklenmiştir. Şişeye bir vakum başlığı altında rHuPH20 gramı başına beş gram mPEG-SBA-30K (10:1 mol oranında mPEG-SBA-30K: rHuPH20) eklenmiş ve karışım 10 dakika veya mPEG-SBA-30K tamamen çözülene kadar karıştırılmıştır. Karıştırma hızı köpürmeden girdap oluşturulacak şekilde ayarlanmıştır.

Çözelti daha sonra bir sınıf 100 başlık altında çözeltinin peristaltik pompa aracılığıyla 0.22 µm'lik bir polistiren, selüloz asetat filtre kapsülü (Corning 50 mL Tubetop filtresi) boyunca bir steril 3" karıştırma çubuğu içeren bir yeni 1 veya 3 litrelik Erlenmeyer şişesi içine filtrelenmiştir. PEGPH20 karışımının hacmi kütleyle (1 g/mL yoğunluk) belirlenmiş ve filtreleme için kullanılan 0.22 µm'lik filtre bir kullanım sonrası bütünlük testinde incelenmiştir.

Karışım daha sonra 2-8 °C'deki bir karıştırma plakası üzerine yerleştirilmiş ve karanlıkta 20 ± 1 saat karıştırılmıştır. Karıştırma hızı yine köpürmeden girdap oluşturulacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm Erlenmeyer kabı, çözeltiyi ışıktan korumak için, folyoyla sarılmıştır. Karıştırıldıktan sonra, tepkime 25 mM nihai konsantrasyona kadar 1M glisin eklenerek  
5 sulandırılmıştır. pH ve iletkenliği test etmek için kaptan numuneler alınmıştır. pH ve iletkenlik daha sonra Q Sepharose saflaştırmasına geçmek için 5 mM Tris Bazı (5.65 L/L) ve 5 mM Tris, 10 mM NaCl, pH 8.0 (13.35 L/L) eklenerek ayarlanmıştır.

Bir QFF Sepharose (GE Healthcare) iyon değiştirme kolonu (Yükseklik = 21.5-24.0 cm, Çap = 20 cm) 5 kolon hacminde (36 L) 5 mM Tris, 10 mM NaCl, pH 8.0 ile dengelenerek  
10 hazırlanmıştır. Konjüğe edilmiş ürün 95 cm/saatlik bir akış hızında QFF kolonuna yüklenmiştir. Kolon daha sonra 95 cm/saatlik bir akış hızında 11 L dengeleme tamponu (5 mM Tris, 10 mM NaCl, pH 8.0) ve ardından 268 cm/saatlik bir akış hızında 25 L dengeleme tamponuyla yıkanmıştır. Protein ürünü daha sonra 268 cm/saatlik bir akış hızında 5 mM Tris, 130 mM NaCl, pH 8.0 ile taşınmıştır. Oluşan saflaştırılmış PEGPH20  
15 0.2 m<sup>2</sup>'lik bir filtreleme alanıyla bir 30 kDa polietersülfon (PES) teğet akış filtreleme (TFF) kasetleri (Sartorius) kullanılarak 3.5 mg/mL'ye yoğunlaştırılmış ve pH 6.5'te 10 mM Histidin, 130 mM NaCl'ye karşı tampon değiştirilmiştir. Oluşan malzeme aşağıda Örnek 6'da açıklandığı gibi enzim aktivitesi için test edilmiştir. PEG'lenmiş rHuPH20 malzemesi 3.5 mg/mL konsantrasyonda (nihai enzim aktivitesi 140,000 U/mL) 3 mL'lik  
20 hacimler halinde, bir silikonlu bromobütil kauçuk tapa ve alüminyum geçme kapak içeren 5 mL'lik cam şişelere doldurulmuş ve dondurulmuştur (gece boyunca -80 °C'deki bir dondurucuda dondurulmuş, daha sonra daha uzun süre saklama için -20 °C'deki bir dondurucuya konulmuştur). PEG'lenmiş rHuHP20, rHuPH20 molü başına yaklaşık 4.5 mol PEG içermiştir.

## 25 Örnek 6

### **Çözünebilen rHuPH20'nin hiyalüronidaz aktivitesinin belirlenmesi**

Hücre kültürleri, plazma, saflaştırma fraksiyonları ve saflaştırılmış çözeltiler gibi numunelerdeki çözünebilen rHuPH20'nin hiyalüronidaz aktivitesi, hiyalüronik asit serum albüminine bağlandığında bir çözünmeyen çökelti oluşmasına dayanan bir bulanıklık  
30 analizi veya plastik çok-gözenekli mikro-titre plakalarına kovalent olmayan bir şekilde

bağlanmış biyotinlenmiş hiyalüronik asit (b-HA) substratının sindirilmesiyle enzimatik olarak aktif rHuPH20 veya PEGPH20 miktarının ölçülmesine dayanan bir biyotinlenmiş-hiyalüronik asit substratı analizi kullanılarak belirlenmiştir.

#### A. Mikro-bulanıklık Analizi

5 Çözünebilen rHuPH20'nin hiyalüronidaz aktivitesi çözünebilen rHuPH20'nin belirli bir zaman periyodu (10 dakika) boyunca sodyum hiyalüronat (hiyalüronik asit) ile enkübe edilmesi ve daha sonra sindirilmemiş sodyum hiyalüronatın asitleştirilmiş serum albümini eklenerek çöktürülmesiyle ölçülür. Oluşan numunenin bulanıklığı 30 dakikalık bir gelişme periyodundan sonra 640 nm'de ölçülür. Sodyum hiyalüronat substratı  
10 üzerinde enzim aktivitesinden kaynaklanan bulanıklıktaki azalma çözünebilen rHuPH20 hiyalüronidaz aktivitesinin bir ölçüsüdür. Usul, bir çözünebilen rHuPH20 analizi çalışma referans standardının seyreltileriyle oluşturulan bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilir ve numune aktivite ölçümleri bu kalibrasyon eğrisine göre yapılır.

Numune seyreltileri Enzim Seyreltici Çözeltileri içinde hazırlanmıştır. Enzim Seyreltici  
15 Çözeltisi,  $33.0 \pm 0.05$  mg hidrolize jelatinin 25.0 mL 50 mM PIPES Tepkime Tamponu (140 mM NaCl, 50 mM PIPES, pH 5.5) ve 25.0 mL steril enjeksiyonluk su (SWFI) içinde çözülmesi ve karışım içinde 0.2 mL %25 Büminat çözeltisinin seyreltilmesi ve 30 saniye karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Bu, kullanımdan önce en geç 2 saat içinde gerçekleştirilmiş ve ihtiyaç duyulana kadar buz üzerinde saklanmıştır. Numuneler  
20 hesaplanmış 1-2°U/mL'ye kadar seyreltilmiştir. Genellikle, aşama başına maksimum seyreltme 1:100'ü geçmemiş ve ilk seyreltme için ilk numune boyutu en az 20 µL olmuştur. Analizi gerçekleştirmek için gereken numune hacimleri şu şekilde olmuştur: İşlem-içi Numuneler, FPLC Fraksiyonları: 80 µL; Doku Kültürü Üstte Kalan Fazları: 1 mL; Yoğunlaştırılmış Malzeme: 80 µL; Saflaştırılmış veya Son aşama Malzemesi: 80 µL.  
25 Seyreltmeler bir Düşük Protein bağlayıcı 96 gözenekli plakada üç kopya halinde yapılmış ve her bir seyreltinin 30 µL'si Optilux siyah/saydam tabanlı plakalara (BD BioSciences) aktarılmıştır.

Bir standart eğri oluşturmak için Enzim Seyreltici Çözelti içinde 2.5 U/mL konsantrasyonla bilinen çözünebilen rHuPH20'nin seyreltileri hazırlanmış ve üç kopya  
30 halinde Optilux plakasına eklenmiştir. Seyreltiler 0 U/mL, 0.25 U/mL, 0.5 U/mL, 1.0



U/mL, 1.5 U/mL, 2.0 U/mL ve 2.5 U/mL içermiştir. 60 µL Enzim Seyreltici Çözeltisi içeren "boş tepkime maddesi" gözenekleri plakaya bir negatif kontrol olarak eklenmiştir. Plaka daha sonra örtülmüş ve bir ısı bloğu üzerinde 5 dakika 37°C'de ısıtılmıştır. Örtü kaldırılmış ve plaka 10 saniye çalkalanmıştır. Çalkalandıktan sonra, plaka ısı bloğuna geri götürülmüş ve MULTIDROP 384 Sıvı Kotarma Cihazı sıcak 0.25 mg/mL sodyum hiyaluronat çözeltisi (100 mg sodyum hiyalüronatın (LifeCore Biomedical) 20.0 mL SWFI içinde çözülmesi ile hazırlanmıştır. Bu 2-8°C'de 2-4 saat veya tamamen çözülene kadar yavaşça döndürülerek ve/veya çalkalanarak karıştırılmıştır) ile hazırlanmıştır. Tepkime plakası MULTIDROP 384'e aktarılmış ve her bir gözeneğe 30 µL sodyum hiyalüronat dağıtmak için başlat tuşuna basılarak tepkime başlatılmıştır. Plaka daha sonra MULTIDROP 384'ten çıkarılmış ve 10 saniye çalkalandıktan sonra plaka örtüsü tekrar konularak bir ısı bloğuna aktarılmıştır. Plaka 37°C'de 10 dakika enkübe edilmiştir.

MULTIDROP 384, tepkimeyi durdurmak için makinenin Serum Çalışma Çözeltisi ile hazırlanması ve hacim ayarının 240 µL'ye değiştirilmesiyle hazırlanmıştır (75 mL 500 mM Asetat Tampon Çözeltisi içinde 25 mL Serum Stok Çözeltisi [1 hacim At Serumu (Sigma) 9 hacim 500 mM Asetat Tampon Çözeltisi ile seyreltilmiş ve hidroklorik asit ile pH 3.1'e ayarlanmıştır]). Plaka ısı bloğundan çıkarılmış ve MULTIDROP 384 üzerine yerleştirilmiş ve gözeneklere 240 µL serum Çalışma Çözeltisi dağıtılmıştır. Plaka çıkarılmış ve bir plaka okuyucusu üzerinde 10 saniye çalkalanmıştır. 15 dakika sonra, numunelerin bulanıklığı 640 nm'de ölçülmüş ve her bir numunenin hiyalüronidaz aktivitesi (U/mL cinsinden) standart eğriye uydurmayla belirlenmiştir.

Özgül aktivite (Birim/mg) hiyalüronidaz aktivitesinin (U/mL) protein konsantrasyonuna (mg/mL) bölünmesiyle hesaplanmıştır.

### **B. Biotinlenmiş Hiyaluronan Analizi**

Biyotinlenmiş hiyalüronik asit analizi, plastik çok-gözenekli mikrotitre plakalarına kovalent olmayan bir şekilde bağlı bir yüksek molekül ağırlıklı (11 1.2 megadalton) biyotinlenmiş hiyalüronik asit (b-HA) substratının sindirilmesiyle biyolojik numunelerdeki enzimatik olarak aktif rHuPH20 veya PEGPH20 miktarını ölçer. Standartlardaki veya numunelerdeki rHuPH20 veya PEGPH20 37 °C'de b-HA ile kaplanmış bir plakada enkübe edilir. Bir yıkama serisinden sonra, kalan ayrılmamış/bağlı

b-HA Streptavidin Karaturp Peroksidazı konjügesi (SA-HRP) ile işlenir. Sabitlenmiş SA-HRP ve kromojenik substrat, 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB), arasındaki tepkime mavi renkli bir çözelti üretir. Tepkime asitle durdurulduktan sonra, çözünebilen sarı tepkime ürününün oluşması bir mikrotitre plakası spektrofotometresi kullanılarak  
5 450 nm'deki absorbans okunarak belirlenir. Biotinlenmiş hiyalüronik asit (b-HA) substratı üzerindeki enzim aktivitesinden kaynaklanan 450 nm'deki absorbans azalması çözünebilen rHuPH20 hiyalüronidaz aktivitesinin bir ölçüsüdür. Usul, bir çözünebilen rHuPH20 veya PEGPH20 referans standardının seyreltileriyle oluşturulan bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilir ve numune aktivite ölçümleri bu kalibrasyon eğrisine  
10 göre yapılır.

Numune ve kalibratör seyreltileri Analiz Seyrelticisi içinde hazırlanmıştır. Analiz Seyrelticisi %1 h/h toplanmış plazmanın (uygun türlerden) HEPES içindeki %0.1 (a/h) BSA'ya, pH 7.4, eklenmesiyle hazırlanmıştır. Bu, günlük olarak hazırlanmış ve 2-8°C'de saklanmıştır. Tür tipinin yanı sıra tahmin edilen hiyalüronidaz seviyesine bağlı olarak, en  
15 az bir numune seyreltilerinin kalibrasyon eğrisi aralığı içinde kalmasını garantilemek için bir veya birden fazla seyreltiler hazırlanmıştır. Test numunesi seyreltileri/seyreltilerinin seçimini yönlendirmek için, uygulanan hiyalüronidaz dozu, uygulama şekli, türün yaklaşık plazma hacmi ve zaman noktası hakkında bilinen bilgiler hiyalüronidaz aktivitesi seviyelerini hesaplamak için kullanılmıştır. Her bir numune seyreltileri  
20 hazırlandığı şekliyle kısa süreli çalkalamayla karıştırılmış ve her bir seyreltilerden sonra pipet uçları değiştirilmiştir. Genel olarak, seyreltiler bir ilk 50 veya 100 katlık seyreltilerle başlamış ve bunu ek seri seyreltiler izlemiştir. rHuPH20 için 0.004 ila 3.0 U/mL ve PEGPH20 için 0.037 ila 27 U/mL olmak üzere, rHuPH20 veya PEGPH20'nin bir yedi-  
25 noktalı kalibrasyon eğrisi (uygulanan işleme bağlı olarak) hazırlanmıştır. Her bir test numunesi seyreltileri ve kalibrasyon eğrisi noktasından yüz mikrolitresi (100 µL) üçer kopya halinde önceden gözenek başına 0.1 mg/mL oranında 100 µL b-HA ile kaplanmış ve 250 µL PBS içinde %1.0 (a/h) Büyükbaş Hayvan Serum Albümini ile bloke edilmiş bir 96 gözenekli mikrotitre plakasının (Immulon 4HBX, Thermo) gözeneklerine uygulanmıştır. Plaka/plakalar bir yapışkan plaka örtüsü ile kaplanmış ve 37°C'de yaklaşık  
30 90 dakika enkübe edilmiştir. Enküasyon periyodunun sonunda yapışkan örtü plakadan çıkarılmış, numuneler aspire edilmiş ve plaka beş (5) kez gözenek başına 300 µL Yıkama Tamponuyla (10 mM Fosfat Tamponu, 2.7 mM Potasyum Klorür, 137 mM Sodyum

Klorür, pH 7.4, %0.05 (h/h) Tween 20, PBST ile) bir otomatik plaka yıkayıcısı (BioTek ELx405 Select CW, Program '4HBX1') kullanılarak yıkanmıştır. Gözenek başına yüz mikrolitre Streptavidin-HRP Konjügesi Çalışma Çözeltisi [20 mM Tris-HCl, 137 mM Sodyum Klorür, %0.025 (h/h) Tween 20, %0.1 (a/h) Büyükbaş Serum Albümin içinde

5 Streptavidin-HRP konjügesi (1:5,000 h/h)] eklenmiştir. Plaka örtülmüş ve çalkalanmadan ve ışıktan korunarak yaklaşık 60 dakika ortam sıcaklığında enkübe edilmiştir. Enkübasyon periyodunun sonunda, yapışkan örtü plakadan çıkarılmış, numuneler aspire edilmiş ve plaka beş (5) kez gözenek başına 300 µL yukarıda açıklanan Yıkama Tamponuyla yıkanmıştır. Her bir gözeneğe TMB çözeltisi (ortam sıcaklığında) eklenmiş

10 ve oda sıcaklığında yaklaşık beş (5) dakika ışıktan korunarak enkübe edilmiştir. Daha sonra gözenek başına 100 µL olarak TMB Durdurma Çözeltisi (KPL, Katalog no. 50-85-06) eklenmiştir. Her bir gözeneğin 450 nm'deki absorbansı bir mikrotitre plakası spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir. Her bir plaka üzerindeki Kalibrasyon Eğrisi cevabı bir 4-parametrelili mantıksal eğri uydurma kullanılarak modellenmiştir. Her

15 bir bilinmeyen hiyalüronidaz aktivitesi kalibrasyon eğrisiyle interpolasyonla hesaplanmış, numune seyreltme faktörüne göre düzeltilmiş ve U/mL cinsinden rapor edilmiştir.

## Örnek 7

### Bir Yüksek Peritümöral Hiyalüronan (HA) Tümör Modelinde PEGPH20

#### 20 Tedavisini Etkisi

Yüksek peritümöral HA seviyeleri üzerinde PEGPH20 etkisini değerlendirmek için, bir BXPC3-Has3 tümör hücresi hattı oluşturularak bir HA<sup>yüksük</sup> fare ksenogref tümör modeli oluşturulmuştur. BxPC3 hücreleri (ATCC Kat. No. CRL-1687) tam RPMI ortamları kullanılarak standart kültür koşulları altında kültürlenmiştir. İnsan hiyalüronan sentazı 3

25 cDNA kopyasını (DİZİ ID NO: 212'de verilmektedir) eksprese etmek için bir lentivirüs sistemi oluşturulmuştur. hHAS3 cDNA'sı eksprese eden oluşturulan lentivirüs vektörü pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg olarak adlandırılmıştır ve DİZİ ID NO:213'te verilmektedir. BX-PC3-Has3 stabil hücre hattı pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg ile virüs enfeksiyonu ve ardından higromisin seçimiyle oluşturulmuştur. Tüm deneylerde aşırı

30 hHAS3 eksprese edecek şekilde enfekte edilmiş hücreler kullanılmıştır.

HA seviyelerini teyit etmek için, tümör kesitindeki renk yoğunluğu Aperio spektrum programı ile ölçülmüştür. Tümör şu şekilde derecelendirilmiştir: tümör kesitinin %25'inden fazlası HA ile kuvvetli boyandığında HA<sup>Yüksek</sup>; tümör kesitinin %10 ila %25'i HA ile kuvvetli boyandığında HA<sup>Orta</sup>; tümör kesitinin %10'undan daha azı HA ile kuvvetli boyandığında HA<sup>Düşük</sup>.

5 ila 6 haftalık olan ve ağırlıkları 20-25 g olan NCr (nu/nu) fareleri sağ tibiyal periosteum yakınında yüksek basınçlı tümörler oluşturan BxPC-3-Has3 hücreleri ( $5 \times 10^6/50 \mu\text{L}$ ) ile aşılansmıştır. Katı tümör kütesinin uzunluğu (L) ve genişliği (W) kumpas ile ölçülmüş ve tümör hacmi (TV) şu şekilde hesaplanmıştır:  $(L \times W^2)/2$ . Tümörlerin hacmi çap boyunca yaklaşık 1500 ila 2000 mm<sup>3</sup>'e ulaştığında, fareler iki tedavi grubu halinde bölünmüştür: (1) BxPC3 HA<sup>yüksek</sup>, araç kontrol veya (2) BxPC3 HA<sup>yüksek</sup>, PEGPH20.

Hayvanlara 0 saatte ve tekrar 42 saatte ya araç (10 mM Histidin, pH 6.5, 130 mM NaCl) veya PEGPH20 (4.5 mg/kg) uygulanmıştır. Birinci PEGPH20 veya araç kontrol tedavisiyle (öldürmeden 48 saat önce, yani t= 0 saat), hayvanlar ayrıca intraperitoneal olarak 240 mg/kg gemsitabin ve intravenöz olarak 10 mg/kg paklitaksel (Abraxane®) ile tedavi edilmiştir. Öldürmeden iki saat önce (46 saat), hayvanlar intraperitoneal olarak 60 mg/kg oranında HYPOXYPROBE™ (pimonidazol hidroklorür; Chemicon International, Temecula, CA) ve ayrıca 0.5 mL BrdU ile tedavi edilmiştir. Öldürmeden beş dakika önce (48 saat), hayvanlar intravenöz olarak 75  $\mu\text{L}$  %75 DMSO 1,1'-dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin perklorat (DiI) içinde çözülmüş 0.6 mg/mL floresan karbosiyanin ile tedavi edilmiştir.

Hayvanlar 48 saatte öldürülmüştür. Tümörlerin tamamı toplanmış, dokular alüminyum bloklar üzerinde -20°C'ye soğutulmuş, örtücü OCT ortamı (Sakura Finetek, Torrance, CA) içinde kaplanmış ve kesit alınmasına kadar -80°C'de saklanmıştır. Donmuş tümör kesitleri 10  $\mu\text{m}$ 'lik kesitler halinde kesilmiş ve immünohistokimya için işlenmiş veya mikroskopik olarak görüntülenmiştir. Vasküler perfüzyon ve tümör hipoksisi üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir.

#### A. Vasküler Perfüzyon

Boyanmamış, taze donmuş kesitler bir floresan mikroskoplu görüntüleme sistemi (BD CARV II Confocal Imager, Sparks, MD; Quentem 512sc kamera (Photometrics, Tucson,

AZ); MIV2000 motorlu x-y kademesi ve MetaMorph System, Sunnyvale, CA) ile taranmıştır. Bütün tümör kesitleri, tümör perfüzyonunu belirlemek için, floresan karbosiyanin (DiI) sinyali için 10x'te taranmıştır (Uyarma 562 nm/ emisyon 624 nm). Görüntüler bir Image-Pro Analyzer 7.0 (Media Cybermetrics, Bethesda, MD) kullanılarak analiz edilmiştir. Bütün tümör alanı ve pozitif boyama alanı belirlenmiştir. Her bir tümördeki vasküler perfüzyon tüm tümör kesiti boyunca yüzde (sinyal) pozitif olarak hesaplanmıştır.

Sonuçlar Tablo 8'de verilmektedir. Sonuçlar, PEG-PH20 tedavisinin BxPC3-HAS3 tümörlerinde boya perfüzyonuna aracılık ettiğini ve kontrol tedavisi uygulanmış tümörlere karşı PEGPH20 ile tedavi edilmiş farelerden alınan tümörlerde kan damarı perfüzyonunda önemli bir artış olduğunu göstermektedir. Tablo 8'de özetlendiği gibi, PEGPH20 ile tedavi edilen hayvanlarda kontrol hayvanlarına kıyasla %116.9 artış anlamına gelen ortalama  $7.24 \pm 1.78$  alanla vasküler perfüzyonda bir artış görülmüştür.

**Tablo 8: HA<sup>yüksek</sup> tümörlerde Vasküler Perfüzyonda PEGPH20-Aracılıklı Artış**

	Tüm tümör kesitinde ortalama % vasküler alan	P	% artış
<b>kontrol (n=7)</b>	3.42 ± 0.53	-	-
<b>PEGPH20 (n=6)</b>	7.24 ± 1.78	<0.0001	116.9

## 15 B. Hipoksi

Tedavi edilmiş hayvanların tümör kesitleri hipoksik bölgeler için pimonidazol hidroklorürün (HYPOXYPROBE™) görselleştirilmesiyle karşılaştırılmıştır. Özellikle, öldürüldükten sonra, özgün olmayan boyama için keçi serumuyla bloke edilmiş olan donmuş kesitlerinin oda sıcaklığında 1 saat bir 1:50 anti-pimonidazol antikoru (Hypoxyprobe™-1 Mab-1, fare IgG<sub>1</sub>; Chemicon International, Temecula, CA) seyreltisiyle problemlenmesiyle pimonidazol ekleme ürünleri tespit edilmiş veya bir 1:100 anti-CD31 antikoru (sıçan, BD Pharmingen, San Diego, CA) seyreltisiyle problemlenmesiyle endotelial hücreler tespit edilmiştir. Yıkamayla birincil tepkime maddesi uzaklaştırıldıktan sonra, ya bir FITC keçi anti-fare ikincil antikoru (Hypoxyprobe™-1 Mab-1'i görselleştirmek için, 1:100 seyrelti; Vector Labs Burlingame, CA, ABD) veya bir Texas Kırmızı keçi anti-sıçan ikincil antikoru (CD31 endotelial hücrelerini

görselleştirmek için; 1:100 seyrelti; Vector Labs Burlingame, CA ABD) oda sıcaklığında 30 dakika süreyle bir ikincil tepkime maddesi olarak kullanılmıştır. Kesitler bir Image-Pro Analyzer 7.0 (Media Cybermetrics, Bethesda, MD) Görüntüleme Sistemi kullanılarak görüntülenmiştir. CD31 görüntüleme için, uyarma dalga boyu 562 nm ve emisyon dalga boyu 624 nm olmuştur. Pimonidazol hidroklorür (HYPOXYPROBE™) görüntüleme için, uyarma dalga boyu 490 nm ve emisyon dalga boyu 520 nm olmuştur.

Sonuçlar Tablo 9'da verilmektedir. Sonuçlar, HA uzaklaştırılmasına aracılık eden PEGPH20'nin, BxPC3-Has3 tümörlerinde daha düşük hipoksi sağladığını göstermiştir. Tüm tümör kesitinde kontrol hayvanlarının ortalama hipoksik alan yüzdesi  $3.98 \pm 2.70$  olmuştur. PEGPH20 ile tedavi edilen hayvanlarda  $0.86 \pm 1.07$  ortalama alanla tümörlerde düşük hipoksi alanı olmuştur, bu da kontrol hayvanlarına kıyasla, %78 düşüş anlamına gelir.

**Tablo 9: HA<sup>yüksek</sup> tümörlerde Hipoksik Alanlarda PEGPH20-Aracılıklı Azalma**

	tüm tümör kesitinde % hipoksi alanı	P	% azalma
<b>kontrol (n=7)</b>	$3.98 \pm 2.70$	-	-
<b>PEGPH20 (n=6)</b>	$0.86 \pm 1.07$	0.035	78

### Örnek 8

#### 15 **Bir Yüksek Peritümöral Hiyalüronan (HA) Üçlü Negatif Meme Kanseri Tümör Modelinde Birleşik PEGPH20 ve nab-Paklitaksel Tedavisinin Etkisi**

MDA-MB-468 üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hücre hattı hHAS3A cDNA kopyasını (DİZİ ID NO: 212) aşırı eksprese edecek şekilde oluşturulmuş ve böylece bir HA<sup>yüksek</sup> TNBC modeli oluşturulmuştur. Tam RPMI ortamı kullanılarak standart kültür koşulları altında kültürlenmiş MDA-MB-468 hücreleri (ATCC Kat. No. HTB-132) yukarıda açıklanan hHAS3 cDNA'sı eksprese eden lentivirüs vektörü pLV-EF1a-hHAS3-IRES-Hyg (DİZİ ID NO:213), ile enfekte edilmiş ve ardından higromisin seçimiyle stabil, hHAS3-eksprese eden hücre hattı MDA-MB-468/HAS3 oluşturulmuştur.

RPMI içinde süspansiyon haline getirilmiş MDA-MB-468/HAS3 hücreleri tüysüz farelere enjekte edilmiştir. Tümör hacmi yukarıda açıklandığı gibi ölçülmüştür. Gün 17'de, tümör hacmi yaklaşık  $300 \text{ mm}^3$ 'e ulaştığında, hayvanlar intravenöz olarak 1) araç;

2) 1 mg/kg nab-paklitaksel; 3) 3 mg/kg nab-paklitaksel; 4) 10 mg/kg nab-paklitaksel; 5) 4.5 mg/kg PEGPH20; veya 6) 1 mg/kg nab-paklitaksel ve 4.5 mg/kg PEG20 uygulanan 6 tedavi grubu halinde bölünmüştür. Tümör hacimleri 45 gün boyunca 3 ila 4 günde bir ölçülmüştür.

5 Sonuçlar Şekil 6'da verilmektedir. Tedavi grubu 1'deki sadece araç alan hayvanlar çalışma süreci boyunca ilerleyen tümör büyümesi sergilemiştir. Çalışmanın son gününde (gün 62), ortalama tümör boyutu hacim bakımından iki katının biraz üzerine çıkmıştır. Tedavi grubu 2 ve 3'teki 1 veya 3 mg/kg nab-paklitaksel uygulanan hayvanlardaki tümörler hücre naklinden sonra gün 17-27'de (tedaviden 0-10 gün sonra) tümör hacminde bir ilk  
10 (yaklaşık %30) azalma sergilemiş, ancak daha sonra araç kontrol hayvanlarına kıyasla daha düşük bir hızla tümör büyümesi devam etmiştir. Çalışmanın son gününde, ortalama tümör hacmi başlangıç hacminin iki katının biraz altında olmuştur.

PEGPH20 ile tedavi edilen hayvanlar (grup 5) için gözlemlenen tümör büyümesi şekli grup 2 ve 3'tekilere benzer olmuştur, ancak grup 5 için ortalama tümör boyutu son günde  
15 grup 2 ve 3'tekilerin boyutundan biraz daha küçük olmuştur. Grup 4'teki 10 mg/kg nab-paklitaksel uygulanan hayvanların ortalama tümör boyutu tedaviden sonraki ilk 10 gün boyunca (çalışma günü 17-27) grup 2, 3 ve 5'tekiyle aynı eğilimi izlemiştir, ancak sonraki 11 gün boyunca düşük hacimde kalmış ve daha sonra çalışmanın kalanı boyunca giderek %30 daha küçülerek çalışmanın sonunda ortalama başlangıç tümör hacminin üçte biri  
20 olan bir ortalama tümör hacmine ulaşmıştır.

1 mg/kg nab-paklitaksel ve PEGPH20 kombinasyonu (grup 6) ortalama tümör hacminde önemli bir azalma sağlamıştır. Bu sonuçlar, nab-paklitaksel ve PEGPH20 kombinasyonu ile tedavi ile, aynı dozdaki ayrı ayrı tedavilere kıyasla tümör büyümesi inhibisyonu üzerinde önemli ölçüde geliştirilmiş bir etki sağlayan sinerjistik etkiler  
25 olduğunu göstermektedir. Kombinasyon terapisi tümör hacminde tek bir terapi olarak (10 mg/kg nab-paklitaksel (grup 5)) 10 kat daha fazla nab-paklitaksel uygulanan hayvanlar için gözlemlenene benzer bir düşüş sağlamıştır, bu da ortalama başlangıç tümör hacminin yaklaşık üçte biri olan bir nihai ortalama tümör hacmi sağlamıştır.

Teknikte uzman kişilerce modifikasyonlar anlaşılacağından, buluş yalnızca ekteki  
30 istemlerin kapsamıyla sınırlıdır.

**DİZİ LİSTESİ**

- <110> Halozyme, Inc.  
Maneval, Daniel C.  
Shepard, Harold Michael  
5 Thompson, Curtis B.
- <120> Bir anti-Hiyalüronan Maddesi ve Terapötik Madde ile Kombinasyon  
Terapisi
- 10
- <130> 033320.03108.WO01/3108PC
- <140> Henüz Atanmamış  
<141> Ekte
- 15
- <150> US 61/686,429  
<151> 4.04.2012
- <150> US 61/714,719  
20 <151> 16.10.2012
- <160> 213
- <170> FastSEQ for Windows, Sürüm 4.0
- 25
- <210> 1  
<211> 509  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens
- 30
- <220>  
<223> prekürsör insan PH20'si
- <400> 1



Met 1  
 Ser 2  
 Lys 3  
 Phe 4  
 Lys 5  
 Phe 6  
 Lys 7  
 His 8  
 Ile 9  
 Phe 10  
 Arg 11  
 Ser 12  
 Phe 13  
 Val 14  
 Lys 15  
 Ser 16  
 Gly 17  
 Val 18  
 Ser 19  
 Asp 20  
 Phe 21  
 Arg 22  
 Ala 23  
 Phe 24  
 Ser 25  
 Glu 26  
 Phe 27  
 Cys 28  
 Val 29  
 Asp 30  
 Thr 31  
 Lys 32  
 Thr 33  
 Asp 34  
 Met 35  
 Ser 36  
 Leu 37  
 Phe 38  
 Ile 39  
 Gly 40  
 Val 41  
 Thr 42  
 Ile 43  
 Phe 44  
 Tyr 45  
 Val 46  
 Asp 47  
 Thr 48  
 Arg 49  
 Gly 50  
 Tyr 51  
 Tyr 52  
 Pro 53  
 Tyr 54  
 Ile 55  
 Asn 56  
 Ser 57  
 Ile 58  
 Thr 59  
 Gly 60  
 Val 61  
 Thr 62  
 Val 63  
 Asn 64  
 Gly 65  
 Gly 66  
 Ile 67  
 Ser 68  
 Leu 69  
 Gln 70  
 Asp 71  
 His 72  
 Leu 73  
 Asp 74  
 Lys 75  
 Ala 76  
 Lys 77  
 Lys 78  
 Asn 79  
 Ile 80  
 Thr 81  
 Phe 82  
 Tyr 83  
 Met 84  
 Leu 85  
 Val 86  
 Asp 87  
 Asn 88  
 Leu 89  
 Gly 90  
 Met 91  
 Ala 92  
 Val 93  
 Ile 94  
 Asp 95  
 Thr 96  
 Glu 97  
 Gly 98  
 Asp 99  
 Leu 100  
 Thr 101  
 Phe 102  
 Tyr 103  
 Met 104  
 Leu 105  
 Val 106  
 Asp 107  
 Asn 108  
 Leu 109  
 Gly 110  
 Met 111  
 Ala 112  
 Val 113  
 Ile 114  
 Asp 115  
 Thr 116  
 Phe 117  
 Tyr 118  
 Met 119  
 Leu 120  
 Val 121  
 Asp 122  
 Asn 123  
 Leu 124  
 Gly 125  
 Met 126  
 Ala 127  
 Val 128  
 Ile 129  
 Asp 130  
 Thr 131  
 Glu 132  
 Gly 133  
 Asp 134  
 Leu 135  
 Thr 136  
 Phe 137  
 Tyr 138  
 Met 139  
 Leu 140  
 Val 141  
 Asp 142  
 Asn 143  
 Leu 144  
 Gly 145  
 Met 146  
 Ala 147  
 Val 148  
 Ile 149  
 Asp 150  
 Thr 151  
 Glu 152  
 Gly 153  
 Asp 154  
 Leu 155  
 Thr 156  
 Phe 157  
 Tyr 158  
 Met 159  
 Leu 160  
 Val 161  
 Asp 162  
 Asn 163  
 Leu 164  
 Gly 165  
 Met 166  
 Ala 167  
 Val 168  
 Ile 169  
 Asp 170  
 Thr 171  
 Glu 172  
 Gly 173  
 Asp 174  
 Leu 175  
 Thr 176  
 Phe 177  
 Tyr 178  
 Met 179  
 Leu 180  
 Val 181  
 Asp 182  
 Asn 183  
 Leu 184  
 Gly 185  
 Met 186  
 Ala 187  
 Val 188  
 Ile 189  
 Asp 190  
 Thr 191  
 Glu 192  
 Gly 193  
 Asp 194  
 Leu 195  
 Thr 196  
 Phe 197  
 Tyr 198  
 Met 199  
 Leu 200  
 Val 201  
 Asp 202  
 Asn 203  
 Leu 204  
 Gly 205  
 Met 206  
 Ala 207  
 Val 208  
 Ile 209  
 Asp 210  
 Thr 211  
 Glu 212  
 Gly 213  
 Asp 214  
 Leu 215  
 Thr 216  
 Phe 217  
 Tyr 218  
 Met 219  
 Leu 220  
 Val 221  
 Asp 222  
 Asn 223  
 Leu 224  
 Gly 225  
 Met 226  
 Ala 227  
 Val 228  
 Ile 229  
 Asp 230  
 Thr 231  
 Glu 232  
 Gly 233  
 Asp 234  
 Leu 235  
 Thr 236  
 Phe 237  
 Tyr 238  
 Met 239  
 Leu 240  
 Val 241  
 Asp 242  
 Asn 243  
 Leu 244  
 Gly 245  
 Met 246  
 Ala 247  
 Val 248  
 Ile 249  
 Asp 250  
 Thr 251  
 Glu 252  
 Gly 253  
 Asp 254  
 Leu 255  
 Thr 256  
 Phe 257  
 Tyr 258  
 Met 259  
 Leu 260  
 Val 261  
 Asp 262  
 Asn 263  
 Leu 264  
 Gly 265  
 Met 266  
 Ala 267  
 Val 268  
 Ile 269  
 Asp 270  
 Thr 271  
 Glu 272  
 Gly 273  
 Asp 274  
 Leu 275  
 Thr 276  
 Phe 277  
 Tyr 278  
 Met 279  
 Leu 280  
 Val 281  
 Asp 282  
 Asn 283  
 Leu 284  
 Gly 285  
 Met 286  
 Ala 287  
 Val 288  
 Ile 289  
 Asp 290  
 Thr 291  
 Glu 292  
 Gly 293  
 Asp 294  
 Leu 295  
 Thr 296  
 Phe 297  
 Tyr 298  
 Met 299  
 Leu 300  
 Val 301  
 Asp 302  
 Asn 303  
 Leu 304  
 Gly 305  
 Met 306  
 Ala 307  
 Val 308  
 Ile 309  
 Asp 310  
 Thr 311  
 Glu 312  
 Gly 313  
 Asp 314  
 Leu 315  
 Thr 316  
 Phe 317  
 Tyr 318  
 Met 319  
 Leu 320  
 Val 321  
 Asp 322  
 Asn 323  
 Leu 324  
 Gly 325  
 Met 326  
 Ala 327  
 Val 328  
 Ile 329  
 Asp 330  
 Thr 331  
 Glu 332  
 Gly 333  
 Asp 334  
 Leu 335  
 Thr 336  
 Phe 337  
 Tyr 338  
 Met 339  
 Leu 340  
 Val 341  
 Asp 342  
 Asn 343  
 Leu 344  
 Gly 345  
 Met 346  
 Ala 347  
 Val 348  
 Ile 349  
 Asp 350  
 Thr 351  
 Glu 352  
 Gly 353  
 Asp 354  
 Leu 355  
 Thr 356  
 Phe 357  
 Tyr 358  
 Met 359  
 Leu 360  
 Val 361  
 Asp 362  
 Asn 363  
 Leu 364  
 Gly 365  
 Met 366  
 Ala 367  
 Val 368  
 Ile 369  
 Asp 370  
 Thr 371  
 Glu 372  
 Gly 373  
 Asp 374  
 Leu 375  
 Thr 376  
 Phe 377  
 Tyr 378  
 Met 379  
 Leu 380  
 Val 381  
 Asp 382  
 Asn 383  
 Leu 384  
 Gly 385  
 Met 386  
 Ala 387  
 Val 388  
 Ile 389  
 Asp 390  
 Thr 391  
 Glu 392  
 Gly 393  
 Asp 394  
 Leu 395  
 Thr 396  
 Phe 397  
 Tyr 398  
 Met 399  
 Leu 400  
 Val 401  
 Asp 402  
 Asn 403  
 Leu 404  
 Gly 405  
 Met 406  
 Ala 407  
 Val 408  
 Ile 409  
 Asp 410  
 Thr 411  
 Glu 412  
 Gly 413  
 Asp 414  
 Leu 415  
 Thr 416  
 Phe 417  
 Tyr 418  
 Met 419  
 Leu 420  
 Val 421  
 Asp 422  
 Asn 423  
 Leu 424  
 Gly 425  
 Met 426  
 Ala 427  
 Val 428  
 Ile 429  
 Asp 430  
 Thr 431  
 Glu 432  
 Gly 433  
 Asp 434  
 Leu 435  
 Thr 436  
 Phe 437  
 Tyr 438  
 Met 439  
 Leu 440  
 Val 441  
 Asp 442  
 Asn 443  
 Leu 444  
 Gly 445  
 Met 446  
 Ala 447  
 Val 448  
 Ile 449  
 Asp 450  
 Thr 451  
 Glu 452  
 Gly 453  
 Asp 454  
 Leu 455  
 Thr 456  
 Phe 457  
 Tyr 458  
 Met 459  
 Leu 460  
 Val 461  
 Asp 462  
 Asn 463  
 Leu 464  
 Gly 465  
 Met 466  
 Ala 467  
 Val 468  
 Ile 469  
 Asp 470  
 Thr 471  
 Glu 472  
 Gly 473  
 Asp 474  
 Leu 475  
 Thr 476  
 Phe 477  
 Tyr 478  
 Met 479  
 Leu 480  
 Val 481  
 Asp 482  
 Asn 483  
 Leu 484  
 Gly 485  
 Met 486  
 Ala 487  
 Val 488  
 Ile 489  
 Asp 490  
 Thr 491  
 Glu 492  
 Gly 493  
 Asp 494  
 Leu 495  
 Thr 496  
 Phe 497  
 Tyr 498  
 Met 499  
 Leu 500  
 Val 501  
 Asp 502  
 Asn 503  
 Leu 504  
 Gly 505  
 Met 506  
 Ala 507  
 Val 508  
 Ile 509  
 Asp 510  
 Thr 511  
 Glu 512  
 Gly 513  
 Asp 514  
 Leu 515  
 Thr 516  
 Phe 517  
 Tyr 518  
 Met 519  
 Leu 520  
 Val 521  
 Asp 522  
 Asn 523  
 Leu 524  
 Gly 525  
 Met 526  
 Ala 527  
 Val 528  
 Ile 529  
 Asp 530  
 Thr 531  
 Glu 532  
 Gly 533  
 Asp 534  
 Leu 535  
 Thr 536  
 Phe 537  
 Tyr 538  
 Met 539  
 Leu 540  
 Val 541  
 Asp 542  
 Asn 543  
 Leu 544  
 Gly 545  
 Met 546  
 Ala 547  
 Val 548  
 Ile 549  
 Asp 550  
 Thr 551  
 Glu 552  
 Gly 553  
 Asp 554  
 Leu 555  
 Thr 556  
 Phe 557  
 Tyr 558  
 Met 559  
 Leu 560  
 Val 561  
 Asp 562  
 Asn 563  
 Leu 564  
 Gly 565  
 Met 566  
 Ala 567  
 Val 568  
 Ile 569  
 Asp 570  
 Thr 571  
 Glu 572  
 Gly 573  
 Asp 574  
 Leu 575  
 Thr 576  
 Phe 577  
 Tyr 578  
 Met 579  
 Leu 580  
 Val 581  
 Asp 582  
 Asn 583  
 Leu 584  
 Gly 585  
 Met 586  
 Ala 587  
 Val 588  
 Ile 589  
 Asp 590  
 Thr 591  
 Glu 592  
 Gly 593  
 Asp 594  
 Leu 595  
 Thr 596  
 Phe 597  
 Tyr 598  
 Met 599  
 Leu 600  
 Val 601  
 Asp 602  
 Asn 603  
 Leu 604  
 Gly 605  
 Met 606  
 Ala 607  
 Val 608  
 Ile 609  
 Asp 610  
 Thr 611  
 Glu 612  
 Gly 613  
 Asp 614  
 Leu 615  
 Thr 616  
 Phe 617  
 Tyr 618  
 Met 619  
 Leu 620  
 Val 621  
 Asp 622  
 Asn 623  
 Leu 624  
 Gly 625  
 Met 626  
 Ala 627  
 Val 628  
 Ile 629  
 Asp 630  
 Thr 631  
 Glu 632  
 Gly 633  
 Asp 634  
 Leu 635  
 Thr 636  
 Phe 637  
 Tyr 638  
 Met 639  
 Leu 640  
 Val 641  
 Asp 642  
 Asn 643  
 Leu 644  
 Gly 645  
 Met 646  
 Ala 647  
 Val 648  
 Ile 649  
 Asp 650  
 Thr 651  
 Glu 652  
 Gly 653  
 Asp 654  
 Leu 655  
 Thr 656  
 Phe 657  
 Tyr 658  
 Met 659  
 Leu 660  
 Val 661  
 Asp 662  
 Asn 663  
 Leu 664  
 Gly 665  
 Met 666  
 Ala 667  
 Val 668  
 Ile 669  
 Asp 670  
 Thr 671  
 Glu 672  
 Gly 673  
 Asp 674  
 Leu 675  
 Thr 676  
 Phe 677  
 Tyr 678  
 Met 679  
 Leu 680  
 Val 681  
 Asp 682  
 Asn 683  
 Leu 684  
 Gly 685  
 Met 686  
 Ala 687  
 Val 688  
 Ile 689  
 Asp 690  
 Thr 691  
 Glu 692  
 Gly 693  
 Asp 694  
 Leu 695  
 Thr 696  
 Phe 697  
 Tyr 698  
 Met 699  
 Leu 700  
 Val 701  
 Asp 702  
 Asn 703  
 Leu 704  
 Gly 705  
 Met 706  
 Ala 707  
 Val 708  
 Ile 709  
 Asp 710  
 Thr 711  
 Glu 712  
 Gly 713  
 Asp 714  
 Leu 715  
 Thr 716  
 Phe 717  
 Tyr 718  
 Met 719  
 Leu 720  
 Val 721  
 Asp 722  
 Asn 723  
 Leu 724  
 Gly 725  
 Met 726  
 Ala 727  
 Val 728  
 Ile 729  
 Asp 730  
 Thr 731  
 Glu 732  
 Gly 733  
 Asp 734  
 Leu 735  
 Thr 736  
 Phe 737  
 Tyr 738  
 Met 739  
 Leu 740  
 Val 741  
 Asp 742  
 Asn 743  
 Leu 744  
 Gly 745  
 Met 746  
 Ala 747  
 Val 748  
 Ile 749  
 Asp 750  
 Thr 751  
 Glu 752  
 Gly 753  
 Asp 754  
 Leu 755  
 Thr 756  
 Phe 757  
 Tyr 758  
 Met 759  
 Leu 760  
 Val 761  
 Asp 762  
 Asn 763  
 Leu 764  
 Gly 765  
 Met 766  
 Ala 767  
 Val 768  
 Ile 769  
 Asp 770  
 Thr 771  
 Glu 772  
 Gly 773  
 Asp 774  
 Leu 775  
 Thr 776  
 Phe 777  
 Tyr 778  
 Met 779  
 Leu 780  
 Val 781  
 Asp 782  
 Asn 783  
 Leu 784  
 Gly 785  
 Met 786  
 Ala 787  
 Val 788  
 Ile 789  
 Asp 790  
 Thr 791  
 Glu 792  
 Gly 793  
 Asp 794  
 Leu 795  
 Thr 796  
 Phe 797  
 Tyr 798  
 Met 799  
 Leu 800  
 Val 801  
 Asp 802  
 Asn 803  
 Leu 804  
 Gly 805  
 Met 806  
 Ala 807  
 Val 808  
 Ile 809  
 Asp 810  
 Thr 811  
 Glu 812  
 Gly 813  
 Asp 814  
 Leu 815  
 Thr 816  
 Phe 817  
 Tyr 818  
 Met 819  
 Leu 820  
 Val 821  
 Asp 822  
 Asn 823  
 Leu 824  
 Gly 825  
 Met 826  
 Ala 827  
 Val 828  
 Ile 829  
 Asp 830  
 Thr 831  
 Glu 832  
 Gly 833  
 Asp 834  
 Leu 835  
 Thr 836  
 Phe 837  
 Tyr 838  
 Met 839  
 Leu 840  
 Val 841  
 Asp 842  
 Asn 843  
 Leu 844  
 Gly 845  
 Met 846  
 Ala 847  
 Val 848  
 Ile 849  
 Asp 850  
 Thr 851  
 Glu 852  
 Gly 853  
 Asp 854  
 Leu 855  
 Thr 856  
 Phe 857  
 Tyr 858  
 Met 859  
 Leu 860  
 Val 861  
 Asp 862  
 Asn 863  
 Leu 864  
 Gly 865  
 Met 866  
 Ala 867  
 Val 868  
 Ile 869  
 Asp 870  
 Thr 871  
 Glu 872  
 Gly 873  
 Asp 874  
 Leu 875  
 Thr 876  
 Phe 877  
 Tyr 878  
 Met 879  
 Leu 880  
 Val 881  
 Asp 882  
 Asn 883  
 Leu 884  
 Gly 885  
 Met 886  
 Ala 887  
 Val 888  
 Ile 889  
 Asp 890  
 Thr 891  
 Glu 892  
 Gly 893  
 Asp 894  
 Leu 895  
 Thr 896  
 Phe 897  
 Tyr 898  
 Met 899  
 Leu 900  
 Val 901  
 Asp 902  
 Asn 903  
 Leu 904  
 Gly 905  
 Met 906  
 Ala 907  
 Val 908  
 Ile 909  
 Asp 910  
 Thr 911  
 Glu 912  
 Gly 913  
 Asp 914  
 Leu 915  
 Thr 916  
 Phe 917  
 Tyr 918  
 Met 919  
 Leu 920  
 Val 921  
 Asp 922  
 Asn 923  
 Leu 924  
 Gly 925  
 Met 926  
 Ala 927  
 Val 928  
 Ile 929  
 Asp 930  
 Thr 931  
 Glu 932  
 Gly 933  
 Asp 934  
 Leu 935  
 Thr 936  
 Phe 937  
 Tyr 938  
 Met 939  
 Leu 940  
 Val 941  
 Asp 942  
 Asn 943  
 Leu 944  
 Gly 945  
 Met 946  
 Ala 947  
 Val 948  
 Ile 949  
 Asp 950  
 Thr 951  
 Glu 952  
 Gly 953  
 Asp 954  
 Leu 955  
 Thr 956  
 Phe 957  
 Tyr 958  
 Met 959  
 Leu 960  
 Val 961  
 Asp 962  
 Asn 963  
 Leu 964  
 Gly 965  
 Met 966  
 Ala 967  
 Val 968  
 Ile 969  
 Asp 970  
 Thr 971  
 Glu 972  
 Gly 973  
 Asp 974  
 Leu 975  
 Thr 976  
 Phe 977  
 Tyr 978  
 Met 979  
 Leu 980  
 Val 981  
 Asp 982  
 Asn 983  
 Leu 984  
 Gly 985  
 Met 986  
 Ala 987  
 Val 988  
 Ile 989  
 Asp 990  
 Thr 991  
 Glu 992  
 Gly 993  
 Asp 994  
 Leu 995  
 Thr 996  
 Phe 997  
 Tyr 998  
 Met 999  
 Leu 1000  
 Val 1001  
 Asp 1002  
 Asn 1003  
 Leu 1004  
 Gly 1005  
 Met 1006  
 Ala 1007  
 Val 1008  
 Ile 1009  
 Asp 1010  
 Thr 1011  
 Glu 1012  
 Gly 1013  
 Asp 1014  
 Leu 1015  
 Thr 1016  
 Phe 1017  
 Tyr 1018  
 Met 1019  
 Leu 1020  
 Val 1021  
 Asp 1022  
 Asn 1023  
 Leu 1024  
 Gly 1025  
 Met 1026  
 Ala 1027  
 Val 1028  
 Ile 1029  
 Asp 1030  
 Thr 1031  
 Glu 1032  
 Gly 1033  
 Asp 1034  
 Leu 1035  
 Thr 1036  
 Phe 1037  
 Tyr 1038  
 Met 1039  
 Leu 1040  
 Val 1041  
 Asp 1042  
 Asn 1043  
 Leu 1044  
 Gly 1045  
 Met 1046  
 Ala 1047  
 Val 1048  
 Ile 1049  
 Asp 1050  
 Thr 1051  
 Glu 1052  
 Gly 1053  
 Asp 1054  
 Leu 1055  
 Thr 1056  
 Phe 1057  
 Tyr 1058  
 Met 1059  
 Leu 1060  
 Val 1061  
 Asp 1062  
 Asn 1063  
 Leu 1064  
 Gly 1065  
 Met 1066  
 Ala 1067  
 Val 1068  
 Ile 1069  
 Asp 1070  
 Thr 1071  
 Glu 1072  
 Gly 1073  
 Asp 1074  
 Leu 1075  
 Thr 1076  
 Phe 1077  
 Tyr 1078  
 Met 1079  
 Leu 1080  
 Val 1081  
 Asp 1082  
 Asn 1083  
 Leu 1084  
 Gly 1085  
 Met 1086  
 Ala 1087  
 Val 1088  
 Ile 1089  
 Asp 1090  
 Thr 1091  
 Glu 1092  
 Gly 1093  
 Asp 1094  
 Leu 1095  
 Thr 1096  
 Phe 1097  
 Tyr 1098  
 Met 1099  
 Leu 1100  
 Val 1101  
 Asp 1102  
 Asn 1103  
 Leu 1104  
 Gly 1105  
 Met 1106  
 Ala 1107  
 Val 1108  
 Ile 1109  
 Asp 1110  
 Thr 1111  
 Glu 1112  
 Gly 1113  
 Asp 1114  
 Leu 1115  
 Thr 1116  
 Phe 1117  
 Tyr 1118  
 Met 1119  
 Leu 1120  
 Val 1121  
 Asp 1122  
 Asn 1123  
 Leu 1124  
 Gly 1125  
 Met 1126  
 Ala 1127  
 Val 1128  
 Ile 1129  
 Asp 1130  
 Thr 1131  
 Glu 1132  
 Gly 1133  
 Asp 1134  
 Leu 1135  
 Thr 1136  
 Phe 1137  
 Tyr 1138  
 Met 1139  
 Leu 1140  
 Val 1141  
 Asp 1142  
 Asn 1143  
 Leu 1144  
 Gly 1145  
 Met 1146  
 Ala 1147  
 Val 1148  
 Ile 1149  
 Asp 1150  
 Thr 1151  
 Glu 1152  
 Gly 1153  
 Asp 1154  
 Leu 1155  
 Thr 1156  
 Phe 1157  
 Tyr 1158  
 Met 1159  
 Leu 1160  
 Val 1161  
 Asp 1162  
 Asn 1163  
 Leu 1164  
 Gly 1165  
 Met 1166  
 Ala 1167  
 Val 1168  
 Ile 1169  
 Asp 1170  
 Thr 1171  
 Glu 1172  
 Gly 1173  
 Asp 1174  
 Leu 1175  
 Thr 1176  
 Phe 1177  
 Tyr 1178  
 Met 1179  
 Leu 1180  
 Val 1181  
 Asp 1182  
 Asn 1183  
 Leu 1184  
 Gly 1185  
 Met 1186  
 Ala 1187  
 Val 1188  
 Ile 1189  
 Asp 1190  
 Thr 1191  
 Glu 1192  
 Gly 1193  
 Asp 1194  
 Leu 1195  
 Thr 1196  
 Phe 1197  
 Tyr 1198  
 Met 1199  
 Leu 1200  
 Val 1201  
 Asp 1202  
 Asn 1203  
 Leu 1204  
 Gly 1205  
 Met 1206  
 Ala 1207  
 Val 1208  
 Ile 1209  
 Asp 1210  
 Thr 1211  
 Glu 1212  
 Gly 1213  
 Asp 1214  
 Leu 1215  
 Thr 1216  
 Phe 1217  
 Tyr 1218  
 Met 1219  
 Leu 1220  
 Val 1221  
 Asp 1222  
 Asn 1223  
 Leu 1224  
 Gly 1225  
 Met 1226  
 Ala 1227  
 Val 1228  
 Ile 1229  
 Asp 1230  
 Thr 1231  
 Glu 1232  
 Gly 1233  
 Asp 1234  
 Leu 1235  
 Thr 1236  
 Phe 1237  
 Tyr 1238  
 Met 1239  
 Leu 1240  
 Val 1241  
 Asp 1242  
 Asn 1243  
 Leu 1244  
 Gly 1245  
 Met 1246  
 Ala 1247  
 Val 1248  
 Ile 1249  
 Asp 1250  
 Thr 1251  
 Glu 1252  
 Gly 1253  
 Asp 1254  
 Leu 1255  
 Thr 1256  
 Phe 1257  
 Tyr 1258  
 Met 1259  
 Leu 1260  
 Val 1261  
 Asp 1262  
 Asn 1263  
 Leu 1264  
 Gly 1265  
 Met 1266  
 Ala 1267  
 Val 1268  
 Ile 1269  
 Asp 1270  
 Thr 1271  
 Glu 1272  
 Gly 1273  
 Asp 1274  
 Leu 1275  
 Thr 1276  
 Phe 1277  
 Tyr 1278  
 Met 1279  
 Leu 1280  
 Val 1281  
 Asp 1282  
 Asn 1283  
 Leu 1284  
 Gly 1285  
 Met 1286  
 Ala 1287  
 Val 1288  
 Ile 1289  
 Asp 1290  
 Thr 1291  
 Glu 1292  
 Gly 1293  
 Asp 1294  
 Leu 1295  
 Thr 1296  
 Phe 1297  
 Tyr 1298  
 Met 1299  
 Leu 1300  
 Val 1301  
 Asp 1302  
 Asn

<220>

<223> Olgun PH20

5 <400> 2

```

Leu 1  Asn 2  Phe 3  Arg 4  Ala 5  Pro 6  Phe 7  Val 8  Ile 9  Pro 10  Asn 11  Val 12  Phe 13  Phe 14  Tap
15
Ala 16  Trp 17  Asn 18  Ala 19  Pro 20  Ser 21  Glu 22  Phe 23  Cys 24  Leu 25  Gly 26  Lys 27  Phe 28  Asp 29  Glu 30  Pro
31
Leu 32  Arg 33  Met 34  Ser 35  Leu 36  Phe 37  Ser 38  Phe 39  Ile 40  Gly 41  Ser 42  Pro 43  Arg 44  Ile 45  Asn 46  Ala
47
  Ser 48  Gly 49  Glu 50  Gly 51  Val 52  Thr 53  Ile 54  Phe 55  Tyr 56  Val 57  Asp 58  Arg 59  Leu 60  Gly 61  Tyr 62  Tyr
63
Phe 64  Tyr 65  Ile 66  Asp 67  Ser 68  Ile 69  Thr 70  Gly 71  Val 72  Thr 73  Val 74  Asn 75  Gly 76  Gly 77  Ile 78  Phe
79
Glu 80  Lys 81  Ile 82  Ser 83  Leu 84  Glu 85  Asp 86  Arg 87  Leu 88  Asp 89  Lys 90  Ala 91  Lys 92  Lys 93  Asp 94  Ile
95
  Phe 96  Phe 97  Tyr 98  Met 99  Pro 100  Val 101  Asn 102  Asn 103  Leu 104  Gly 105  Met 106  Ala 107  Val 108  Ile 109  Asp 110  Trp
111
Glu 112  Glu 113  Thr 114  Arg 115  Pro 116  Thr 117  Thr 118  Ala 119  Arg 120  Asn 121  Thr 122  Lys 123  Thr 124  Lys 125  Asp 126  Val
127
Tyr 128  Lys 129  Asn 130  Arg 131  Ser 132  Ile 133  Glu 134  Leu 135  Val 136  Glu 137  Glu 138  Glu 139  Asn 140  Val 141  Glu 142  Leu
143
Ser 144  Leu 145  Thr 146  Glu 147  Ala 148  Thr 149  Glu 150  Lys 151  Ala 152  Lys 153  Glu 154  Glu 155  Phe 156  Glu 157  Lys 158  Ala
159
Gly 160  Lys 161  Asp 162  Phe 163  Leu 164  Val 165  Thr 166  Thr 167  Ile 168  Lys 169  Leu 170  Gly 171  Lys 172  Leu 173  Leu 174  Arg
175
Phe 176  Asn 177  His 178  Leu 179  Trp 180  Gly 181  Tyr 182  Tyr 183  Leu 184  Phe 185  Pro 186  Asp 187  Tyr 188  Tyr 189  Asn 190  His
191
His 192  Lys 193  Lys 194  Lys 195  Pro 196  Gly 197  Lys 198  Asn 199  Gly 200  Ser 201  Cys 202  Phe 203  Asn 204  Val 205  Glu 206  Ile
207
Lys 208  Arg 209  Asn 210  Asp 211  Asp 212  Leu 213  Ser 214  Thr 215  Leu 216  Trp 217  Asn 218  Glu 219  Ser 220  Thr 221  Ala 222  Leu
223
Lys 224  Pro 225  Ser 226  Ile 227  Tyr 228  Leu 229  Asn 230  Thr 231  Glu 232  Glu 233  Ser 234  Pro 235  Val 236  Ala 237  Ala 238  Thr
239
Leu 240  Lys 241  Val 242  Arg 243  Asn 244  Arg 245  Val 246  Arg 247  Glu 248  Ala 249  Ile 250  Arg 251  Val 252  Ser 253  Lys 254  Ile
255
Pro 256  Asn 257  Ala 258  Lys 259  Ser 260  Pro 261  Leu 262  Pro 263  Val 264  Thr 265  Ala 266  Lys 267  Thr 268  Arg 269  Ile 270  Val
271
Phe 272  Thr 273  Asn 274  Glu 275  Val 276  Leu 277  Lys 278  Phe 279  Leu 280  Ser 281  Glu 282  Asp 283  Glu 284  Leu 285  Val 286  Tyr
287
Thr 288  Phe 289  Gly 290  Glu 291  Thr 292  Val 293  Ala 294  Leu 295  Gly 296  Ala 297  Ser 298  Gly 299  Ile 300  Val 301  Ile 302  Trp
303
Gly 304  Thr 305  Leu 306  Ser 307  Ile 308  Met 309  Arg 310  Ser 311  Met 312  Lys 313  Ser 314  Cys 315  Leu 316  Leu 317  Leu 318  Asp
319
Asn 320  Tyr 321  Met 322  Glu 323  Thr 324  Ile 325  Leu 326  Asn 327  Ser 328  Tyr 329  Ile 330  Ile 331  Asn 332  Val 333  Thr 334  Leu
335
Ala 336  Ala 337  Lys 338  Met 339  Cys 340  Ser 341  Glu 342  Val 343  Leu 344  Cys 345  Glu 346  Glu 347  Ser 348  Gly 349  Val 350  Cys
351
Ile 352  Arg 353  Lys 354  Asn 355  Trp 356  Asn 357  Ser 358  Ser 359  Asp 360  Tyr 361  Leu 362  His 363  Leu 364  Asn 365  Phe 366  Asp
367
Asn 368  Phe 369  Ala 370  Ile 371  Glu 372  Leu 373  Glu 374  Lys 375  Gly 376  Gly 377  Lys 378  Phe 379  Thr 380  Val 381  Arg 382  Gly
383
Lys 384  Phe 385  Thr 386  Leu 387  Glu 388  Asp 389  Leu 390  Glu 391  Glu 392  Phe 393  Ser 394  Glu 395  Lys 396  Phe 397  Phe 398  Tyr 399  Cys
400
Ser 401  Lys 402  Tyr 403  Ser 404  Thr 405  Leu 406  Ser 407  Lys 408  Lys 409  Glu 410  Lys 411  Ala 412  Asp 413  Val 414  Lys 415  Asp
416
Thr 417  Arg 418  Ala 419  Val 420  Asp 421  Val 422  Lys 423  Ile 424  Ala 425  Asp 426  Gly 427  Val 428  Cys 429  Ile 430  Asp 431  Ala
432
Phe 433  Leu 434  Lys 435  Thr 436  Pro 437  Met 438  Ile 439  Thr 440  Glu 441  Glu 442  Pro 443  Glu 444  Ile 445  Phe 446  Tyr 447  Asn
448
Ala 449  Ser 450  Pro 451  Ser 452  Thr 453  Leu 454  Ser 455  Ala 456  Thr 457  Met 458  Phe 459  Ile 460  Val 461  Ser 462  Ile 463  Leu
464
Phe 465  Leu 466  Ile 467  Ile 468  Ser 469  Ser 470  Val 471  Ala 472  Ser 473  Leu
474

```

<210> 3

10 <211> 482

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> prekürsör PH20 1-482

<400> 3

Met	Gly	Val	Leu	Lys	Phe	Lys	His	Ile	Phe	Phe	Arg	Ser	Phe	Val	Lys
									10						11
Ser	Ser	Gly	Val	Ser	Gln	Ile	Val	Phe	Ihr	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Cys
			19					24						30	
Lys	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	Trp	Ser	Gln	Phe	Gly	Leu	Gly	Lys	Phe
						55					60				
Arg	Glu	Phe	Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Phe	Arg
45					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	Phe	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly
			100					105					110		
Gly	Ile	Trp	Gln	Tyr	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Tyr
			115				120					125			
Lys	Arg	Ile	Thr	Phe	Tyr	Met	Phe	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val
			130				135				140				
Ile	Arg	Trp	Glu	Gln	Trp	Arg	Phe	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Phe
145					150					155					160
Lys	Asn	Val	Tyr	Tyr	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn
			165						170						175
Val	Gln	Leu	Ser	Leu	Thr	Gln	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Gln	Glu	Phe
			180					185					190		
Gln	Lys	Ala	Gly	Tyr	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Tyr	Leu	Gly	Tyr
			195				200					205			
Leu	Leu	Arg	Phe	Asn	His	Leu	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Phe	Asp	Cys
			210			215					220				
Tyr	Asn	His	His	Tyr	Lys	Lys	Phe	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn
225					230					235					240
Val	Glu	Ile	Tyr	Arg	Asn	Asn	Asn	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser
			245					250						255	
Ser	Ala	Leu	Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Asn	Leu	Val
			260				265						270		
Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Gln	Ala	Ile	Arg	Val
			275				280					285			
Ser	Lys	Ile	Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Arg	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	Gln	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile
			320						325					330	
Val	Ile	Trp	Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Ser	Lys	Leu
			340					345					350		
Leu	Leu	Arg	Asn	Tyr	Met	Gln	Thr	Ile	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn
			355				360					365			
Val	Thr	Leu	Ala	Ala	Lys	Met	Lys	Ser	Gln	Val	Leu	Tyr	Gln	Glu	Gln
			370				375				380				
Gly	Val	Lys	Ile	Arg	Lys	Asn	Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu
			385				390				395				400
Asn	Pro	Asn	Asn	Phe	Ala	Ile	Gln	Leu	Glu	Tyr	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr
			405					410						415	
Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr	Leu	Gln	Asp	Leu	Gln	Gln	Phe	Ser	Glu	Lys
			420					425					430		
Phe	Tyr	Lys	Ser	Cys	Tyr	Ser	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Phe	Lys	Ala	Asp
			435				440					445			
Val	Lys	Asn	Thr	Asp	Ala	Val	Asn	Val	Cys	Ile	Ala	Asp	Gly	Val	Cys
			450				455				460				
Ile	Asn	Ala	Phe	Leu	Lys	Pro	Phe	Met	Glu	Thr	Gln	Gln	Phe	Gln	Ile
			465				470				475				480
Phe	Tyr														

<210> 4  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 36-482

10 <400> 4  
 Leu Asp Glu Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Glu Leu Trp  
 1 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Glu Arg Glu Pro  
 20 25 30  
 Met Asp Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Met 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 Ile Gln Asn Phe Leu Asp Tyr Ala Lys Lys Asn Ile  
 80 85 90  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95 100 105  
 Gln Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 110 115 120  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 125 130 135  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala  
 140 145 150  
 Gly Lys Asp Phe Ile Val Gln Thr Ile Lys Ile Gly Lys Leu Leu Arg  
 155 160 165  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp His  
 170 175 180  
 His Tyr Lys Lys Arg Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile  
 185 190 195  
 Lys Arg Asn Asp Asp Gln Ser Tyr Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu  
 200 205 210  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215 220 225  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile  
 230 235 240  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 245 250 255  
 Phe Thr Asp Glu Val Ile Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr  
 260 265 270  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 275 280 285  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 290 295 300  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Gln Ile Ile Asp Val Thr Leu  
 305 310 315  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys  
 320 325 330  
 Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ile His Ile Asn Pro Asp  
 335 340 345  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350 355 360  
 Lys Pro Thr Leu Gln Asp Met Glu Gln Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys  
 365 370 375  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Ile Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 380 385 390  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala  
 395 400 405  
 Phe Leu Lys Thr Thr Met Gln Thr Gln Gln Pro Gln Ile Thr Tyr  
 410 415 420  
 425 430 435 440 445

<210> 5  
 <211> 446  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<220>  
 <223> PH20 36-481

<400> 5

```

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 1 5 10 15
Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40
Trp Gly Glu Gly Val Thr Phe Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
45 50
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
55 60
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
65 70
Trp Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
75 80
Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Phe Lys Asp Val
85 90
Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
95 100
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
105 110
Gly Lys Asp Phe Ile Val Glu Thr Ile Lys Ile Gly Lys Leu Leu Arg
115 120
Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp His
125 130
His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
135 140
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
145 150
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
155 160
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
165 170
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
175 180
Phe Trp Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
185 190
Trp Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
195 200
Gly Trp Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
205 210
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Leu Ile Asn Val Thr Leu
215 220
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
225 230
Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ile His Ile Asn Pro Asp
235 240
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
245 250
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
255 260
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp Val Lys Asp
265 270
Trp Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
275 280
Phe Leu Lys Thr Thr Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe
285 290

```

10

<210> 6

<211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-480

<400> 6

```

Leu Asn Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1      5      10      15      20      25      30      35      40      45      50
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro
55      60      65      70      75      80      85      90      95      100
Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Pro Ile Asn Ala
105      110      115      120      125      130      135      140      145      150
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
155      160      165      170      175      180      185      190      195      200
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
205      210      215      220      225      230      235      240      245      250
Gln Lys Ile Ser Ile Gln Asn His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
255      260      265      270      275      280      285      290      295      300
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
305      310      315      320      325      330      335      340      345      350
Gln Glu Trp Arg Thr Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
355      360      365      370      375      380      385      390      395      400
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
405      410      415      420      425      430      435      440      445      450
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
455      460      465      470      475      480      485      490      495      500
Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Ser Ile Lys Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
505      510      515      520      525      530      535      540      545      550
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
555      560      565      570      575      580      585      590      595      600
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile
605      610      615      620      625      630      635      640      645      650
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Arg Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
655      660      665      670      675      680      685      690      695      700
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Phe Val Ala Ala Thr
705      710      715      720      725      730      735      740      745      750
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Thr Arg Val Ser Lys Ile
755      760      765      770      775      780      785      790      795      800
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Ser Ala Tyr Thr Arg Ile Val
805      810      815      820      825      830      835      840      845      850
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Ser Leu Val Tyr
855      860      865      870      875      880      885      890      895      900
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp
905      910      915      920      925      930      935      940      945      950
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
955      960      965      970      975      980      985      990      995      1000
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Leu Ile Asn Val Thr Leu
1005      1010      1015      1020      1025      1030      1035      1040      1045      1050
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Glu Ser Gly Val Cys
1055      1060      1065      1070      1075      1080      1085      1090      1095      1100
Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
1105      1110      1115      1120      1125      1130      1135      1140      1145      1150
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
1155      1160      1165      1170      1175      1180      1185      1190      1195      1200
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys
1205      1210      1215      1220      1225      1230      1235      1240      1245      1250
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp Val Lys Asp
1255      1260      1265      1270      1275      1280      1285      1290      1295      1300
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asn Ala
1305      1310      1315      1320      1325      1330      1335      1340      1345      1350
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Thr Gln Ile
1355      1360      1365      1370      1375      1380      1385      1390      1395      1400
    
```

10

<210> 7  
 <211> 444

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> PH20 36-479

<400> 7

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Thr Gly Glu 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 Ser
61 65 70
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
75 80 85
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
90 95 100
Glu Ile Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
105 110 115 120 125
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Ile Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140
Ser Leu Arg Glu Ala Thr Ile Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160
Gly Lys Asn Phe Leu Val Ile Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Arg
180 185 190
His Tyr Lys Lys Arg Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220
Lys Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Phe Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Trp
260 265 270
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Phe 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
Asp Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys
340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp
355 360 365
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Leu Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
420 425 430
Phe Leu Lys Phe Phe Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu
435 440 445

```

10

<210> 8  
 <211> 443  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-478

5

<400> 8

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Trp Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95
Trp Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Leu Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Phe 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
210 215 220 225
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270 275
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
280 285 290 295
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp
300 305 310
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
315 320 325 330
Asn Lys Met Glu Thr Ile Asn Asn Asn Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
335 340 345 350
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys
355 360 365
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp
370 375 380 385
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
390 395 400
Lys Phe Thr Leu Glu Arg Ser Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
405 410 415 420
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Asn Asp Val Lys Asp
425 430 435 440
Trp Asn Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
445 450 455
Phe Leu Lys Phe Pro Met Ser Thr Glu Glu Pro
460 465 470

```

10

<210> 9

<211> 442

<212> PRT

<213> Homo sapiens



<220>

<223> PH20 36-477

5 <400> 9

```

Leu Asn Glu Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1  2  3  4  5  6  7  8  9 10 11 12 13 14 15 16 17
Asa Trp Asn Ala Pro Ser Leu Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro
18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33
Leu Arg Met Ser Leu Phe Ser Glu Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49
Ile Gly Glu Gly Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65
Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Arg Gly Ile Phe
66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81
Ile Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97
As Phe Tyr Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113
Ile Ile Arg Asp Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161
Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241
Ser Lys Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257
Pro Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289
As Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Le Val Ile Trp
290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337
Asa Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385
Lys Phe Thr Leu Glu Arg Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Tyr Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417
As Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433
Phe Leu Lys Arg Pro Met Glu Thr Glu Glu
434 435 436 437 438 439 440

```

<210> 10

10 <211> 450

<212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> hyaluronidaz

<400> 10

Met 1  
 Ala 2  
 Met 3  
 Thr 4  
 Thr 5  
 Asp 6  
 Phe 7  
 Tyr 8  
 Phe 9  
 Leu 10  
 Thr 11  
 Thr 12  
 Tyr 13  
 Asp 14  
 Leu 15  
 Thr 16  
 Thr 17  
 Tyr 18  
 Tyr 19  
 Asp 20  
 Thr 21  
 Thr 22  
 Thr 23  
 Thr 24  
 Thr 25  
 Thr 26  
 Thr 27  
 Thr 28  
 Thr 29  
 Thr 30  
 Thr 31  
 Thr 32  
 Thr 33  
 Thr 34  
 Thr 35  
 Thr 36  
 Thr 37  
 Thr 38  
 Thr 39  
 Thr 40  
 Thr 41  
 Thr 42  
 Thr 43  
 Thr 44  
 Thr 45  
 Thr 46  
 Thr 47  
 Thr 48  
 Thr 49  
 Thr 50  
 Thr 51  
 Thr 52  
 Thr 53  
 Thr 54  
 Thr 55  
 Thr 56  
 Thr 57  
 Thr 58  
 Thr 59  
 Thr 60  
 Thr 61  
 Thr 62  
 Thr 63  
 Thr 64  
 Thr 65  
 Thr 66  
 Thr 67  
 Thr 68  
 Thr 69  
 Thr 70  
 Thr 71  
 Thr 72  
 Thr 73  
 Thr 74  
 Thr 75  
 Thr 76  
 Thr 77  
 Thr 78  
 Thr 79  
 Thr 80  
 Thr 81  
 Thr 82  
 Thr 83  
 Thr 84  
 Thr 85  
 Thr 86  
 Thr 87  
 Thr 88  
 Thr 89  
 Thr 90  
 Thr 91  
 Thr 92  
 Thr 93  
 Thr 94  
 Thr 95  
 Thr 96  
 Thr 97  
 Thr 98  
 Thr 99  
 Thr 100  
 Thr 101  
 Thr 102  
 Thr 103  
 Thr 104  
 Thr 105  
 Thr 106  
 Thr 107  
 Thr 108  
 Thr 109  
 Thr 110  
 Thr 111  
 Thr 112  
 Thr 113  
 Thr 114  
 Thr 115  
 Thr 116  
 Thr 117  
 Thr 118  
 Thr 119  
 Thr 120  
 Thr 121  
 Thr 122  
 Thr 123  
 Thr 124  
 Thr 125  
 Thr 126  
 Thr 127  
 Thr 128  
 Thr 129  
 Thr 130  
 Thr 131  
 Thr 132  
 Thr 133  
 Thr 134  
 Thr 135  
 Thr 136  
 Thr 137  
 Thr 138  
 Thr 139  
 Thr 140  
 Thr 141  
 Thr 142  
 Thr 143  
 Thr 144  
 Thr 145  
 Thr 146  
 Thr 147  
 Thr 148  
 Thr 149  
 Thr 150  
 Thr 151  
 Thr 152  
 Thr 153  
 Thr 154  
 Thr 155  
 Thr 156  
 Thr 157  
 Thr 158  
 Thr 159  
 Thr 160  
 Thr 161  
 Thr 162  
 Thr 163  
 Thr 164  
 Thr 165  
 Thr 166  
 Thr 167  
 Thr 168  
 Thr 169  
 Thr 170  
 Thr 171  
 Thr 172  
 Thr 173  
 Thr 174  
 Thr 175  
 Thr 176  
 Thr 177  
 Thr 178  
 Thr 179  
 Thr 180  
 Thr 181  
 Thr 182  
 Thr 183  
 Thr 184  
 Thr 185  
 Thr 186  
 Thr 187  
 Thr 188  
 Thr 189  
 Thr 190  
 Thr 191  
 Thr 192  
 Thr 193  
 Thr 194  
 Thr 195  
 Thr 196  
 Thr 197  
 Thr 198  
 Thr 199  
 Thr 200  
 Thr 201  
 Thr 202  
 Thr 203  
 Thr 204  
 Thr 205  
 Thr 206  
 Thr 207  
 Thr 208  
 Thr 209  
 Thr 210  
 Thr 211  
 Thr 212  
 Thr 213  
 Thr 214  
 Thr 215  
 Thr 216  
 Thr 217  
 Thr 218  
 Thr 219  
 Thr 220  
 Thr 221  
 Thr 222  
 Thr 223  
 Thr 224  
 Thr 225  
 Thr 226  
 Thr 227  
 Thr 228  
 Thr 229  
 Thr 230  
 Thr 231  
 Thr 232  
 Thr 233  
 Thr 234  
 Thr 235  
 Thr 236  
 Thr 237  
 Thr 238  
 Thr 239  
 Thr 240  
 Thr 241  
 Thr 242  
 Thr 243  
 Thr 244  
 Thr 245  
 Thr 246  
 Thr 247  
 Thr 248  
 Thr 249  
 Thr 250  
 Thr 251  
 Thr 252  
 Thr 253  
 Thr 254  
 Thr 255  
 Thr 256  
 Thr 257  
 Thr 258  
 Thr 259  
 Thr 260  
 Thr 261  
 Thr 262  
 Thr 263  
 Thr 264  
 Thr 265  
 Thr 266  
 Thr 267  
 Thr 268  
 Thr 269  
 Thr 270  
 Thr 271  
 Thr 272  
 Thr 273  
 Thr 274  
 Thr 275  
 Thr 276  
 Thr 277  
 Thr 278  
 Thr 279  
 Thr 280  
 Thr 281  
 Thr 282  
 Thr 283  
 Thr 284  
 Thr 285  
 Thr 286  
 Thr 287  
 Thr 288  
 Thr 289  
 Thr 290  
 Thr 291  
 Thr 292  
 Thr 293  
 Thr 294  
 Thr 295  
 Thr 296  
 Thr 297  
 Thr 298  
 Thr 299  
 Thr 300  
 Thr 301  
 Thr 302  
 Thr 303  
 Thr 304  
 Thr 305  
 Thr 306  
 Thr 307  
 Thr 308  
 Thr 309  
 Thr 310  
 Thr 311  
 Thr 312  
 Thr 313  
 Thr 314  
 Thr 315  
 Thr 316  
 Thr 317  
 Thr 318  
 Thr 319  
 Thr 320  
 Thr 321  
 Thr 322  
 Thr 323  
 Thr 324  
 Thr 325  
 Thr 326  
 Thr 327  
 Thr 328  
 Thr 329  
 Thr 330  
 Thr 331  
 Thr 332  
 Thr 333  
 Thr 334  
 Thr 335  
 Thr 336  
 Thr 337  
 Thr 338  
 Thr 339  
 Thr 340  
 Thr 341  
 Thr 342  
 Thr 343  
 Thr 344  
 Thr 345  
 Thr 346  
 Thr 347  
 Thr 348  
 Thr 349  
 Thr 350  
 Thr 351  
 Thr 352  
 Thr 353  
 Thr 354  
 Thr 355  
 Thr 356  
 Thr 357  
 Thr 358  
 Thr 359  
 Thr 360  
 Thr 361  
 Thr 362  
 Thr 363  
 Thr 364  
 Thr 365  
 Thr 366  
 Thr 367  
 Thr 368  
 Thr 369  
 Thr 370  
 Thr 371  
 Thr 372  
 Thr 373  
 Thr 374  
 Thr 375  
 Thr 376  
 Thr 377  
 Thr 378  
 Thr 379  
 Thr 380  
 Thr 381  
 Thr 382  
 Thr 383  
 Thr 384  
 Thr 385  
 Thr 386  
 Thr 387  
 Thr 388  
 Thr 389  
 Thr 390  
 Thr 391  
 Thr 392  
 Thr 393  
 Thr 394  
 Thr 395  
 Thr 396  
 Thr 397  
 Thr 398  
 Thr 399  
 Thr 400  
 Thr 401  
 Thr 402  
 Thr 403  
 Thr 404  
 Thr 405  
 Thr 406  
 Thr 407  
 Thr 408  
 Thr 409  
 Thr 410  
 Thr 411  
 Thr 412  
 Thr 413  
 Thr 414  
 Thr 415  
 Thr 416  
 Thr 417  
 Thr 418  
 Thr 419  
 Thr 420  
 Thr 421  
 Thr 422  
 Thr 423  
 Thr 424  
 Thr 425  
 Thr 426  
 Thr 427  
 Thr 428  
 Thr 429  
 Thr 430  
 Thr 431  
 Thr 432  
 Thr 433  
 Thr 434  
 Thr 435  
 Thr 436  
 Thr 437  
 Thr 438  
 Thr 439  
 Thr 440  
 Thr 441  
 Thr 442  
 Thr 443  
 Thr 444  
 Thr 445  
 Thr 446  
 Thr 447  
 Thr 448  
 Thr 449  
 Thr 450

<210> 11

<211> 553

10 <212> PRT

<213> Bos taurus

<220>

<223> Prekürsör inek PH20'si

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

5

148  
 Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Ile Arg Leu Lys Ser  
 160  
 Thr Glu Asn Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Ser Glu Ala Ile  
 215  
 Arg Leu Ser Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Va  
 290  
 Tyr Ala Arg Pro Val Phe Thr Asn Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Glu  
 325  
 Gly Asn Leu Val Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Asp Gly Ala Ser  
 328  
 Gly Ile Ile Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Met Glu Ser  
 340  
 Lys Met Asn Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile  
 350  
 Le Asn Val Thr Ser Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Lys His  
 370  
 Asn Glu Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu  
 385  
 His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Glu Thr Gly Ser Gly Lys  
 410  
 Tyr Arg Val Pro Gly Thr Val Ser Leu Glu Asp Pro Glu Lys Thr Ser  
 420  
 Asp Ser Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile His Cys Lys Lys Arg  
 435  
 Val Arg Ile Lys Asn Val His Ser Val Arg Val Cys Met Ala Glu Asp  
 450  
 Ile Cys Ile Asp Ser Pro Val Lys Leu Glu Pro Ser Asp His Ser Ser  
 465  
 Ser Glu Glu Ala Ser Thr Thr Thr Phe Ser Ser Ile Ser Phe Ser Thr  
 485  
 Thr Thr Ala Thr Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Cys His Ser Pro Glu  
 500  
 Cys Leu Lys Val Arg Cys Ser Glu Val Ile Pro Asn Val Thr Glu Tyr  
 515  
 Ala Cys Glu Ser Val Cys Leu Lys Asn Ile Ser Tyr Glu Ser Pro Ile  
 530  
 His Asn Ile Lys Asn Glu Thr Ser Tyr  
 545  
 552

<210> 12  
 <211> 331  
 5 <212> PRT  
 <213> *Vespula vulgaris*

<220>  
 <223> hiyalüronidaz A

10

<400> 12  
 Ser Glu Arg Phe Lys Arg Val Phe Asn Ile Tyr Trp Asn Val Phe Thr  
 5  
 Phe Met Cys Asn Glu Tyr Arg Leu Tyr Phe Asp Glu Val Thr Asn Pro  
 20  
 Asn Ile Lys Arg Asn Ser Lys Asn Asp Thr Glu Gly Asp Lys Ile Ala  
 35  
 Ile Phe Tyr Asp Pro Gly Glu Phe Thr Ala Leu Leu Ser Leu Lys Asp  
 50  
 Gly Lys Tyr Lys Lys Arg Asn Gly Gly Val Pro Glu Ser Gly Asn Ile  
 65  
 Thr Ile Arg Leu Glu Lys Phe Ile Glu Asn Arg Asp Lys Ile Tyr Pro  
 80  
 Asn Arg Asn Thr Ser Gly Leu Gly Val Ile Asp Phe Glu Arg Trp Arg

```

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

```

- <210> 13
- <211> 340
- 5 <212> PRT
- <213> *Vespula vulgaris*

- <220>
- <223> hiyalüronidaz B

10

```

<400> 13
Arg Arg Thr Ile Trp Phe Lys Lys Gly Phe Ser Ile Tyr Trp Asn Ile
1      5      10
Phe Thr His Phe Cys His Asn Phe Gly Val Tyr Phe Lys Glu Leu Lys
15      20      25
Gln Phe Asn Ile Lys Lys Asn Ser Met Asn Asn Phe Arg Gly Glu Thr
30      35      40
Leu Ser Leu Gln Tyr Asp Pro Gly Asn Phe Pro Ser Met Val Leu Leu
45      50      55
Lys Asn Gly Thr Tyr Glu Ile Arg Asn Glu Gly Val Leu Glu Lys Gly
60      65      70
Ser Leu Thr Ile His Met Gln Glu Phe Thr Lys Gln Leu Asp Gln Ile
75      80      85
Tyr Phe Lys Lys Ile Asn Gly Gly Ile Gly Val Ile His Phe His Asn
90      95      100
Trp Arg Phe Ile Phe Arg Arg Asn Val Asp Asn Leu Lys Ile Asn Lys
105      110      115
Arg Ile Ser Ile Asp Ser Val Arg Lys Glu His Pro Lys Trp Asp Lys
120      125      130
Ser Met Ile Glu Lys Glu Ala Ser Asn Arg Phe Glu Thr Ser Ala Lys
135      140      145
Leu Phe Met Glu Lys Thr Ser Lys Leu Ala Lys Glu Ile Arg Lys Lys
150      155      160
Thr Glu Thr Gly Tyr His Gly Tyr Pro His Cys Leu Ser Gly Ser Thr
165      170      175

```

```

          180          185          190
Asn Lys Val Ser Phe Asn Lys Asn Ala Val Ser Met Ser Glu Asn Asp
 195
Lys Met Ser Thr Val Phe Asn Asn Glu Asn Val Ile Leu Pro Ser Ile
 210
Tyr Ile Lys Asn Val Ile Lys Thr Asp Glu Lys Thr His Leu Val Glu
 225
Glu Arg Ile Lys Glu Ala Thr Arg Ile Ser Lys Asn Thr Lys Val Ile
 240
Pro Lys Val Leu Pro Tyr Thr Thr Tyr Thr Tyr Glu Asn Lys Glu Ser
 260
Ile Phe Leu Thr Glu Ala Asp Val Lys Asn Thr Phe Ile Lys Glu Ile Leu
 275
Thr Asn Gly Ala Asp Gly Thr Ile Ile Thr Gly Val Ser Tyr Glu Ile
 290
Thr Asp Arg Lys Arg Cys Glu Lys Leu Lys Glu Tyr Leu Met Lys Ile
 305
Leu Gly Phe Ile Ala Phe Lys Val Thr Lys Ala Val Lys Glu Asn Thr
 320
Pro Ile Asn Phe
 340

```

5 <210> 14  
 <211> 382  
 <212> PRT  
 <213> Apis mellifera

<220>  
 <223> hyaluronidaz

10 <400> 14

```

Met Ser Arg Pro Leu Val Ile Thr Glu Gly Met Met Ile Gly Val Leu
 5
Leu Met Leu Ala Pro Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Phe Val Glu Ser
 20
Thr Phe Asp Asn Asn Lys Thr Val Arg Glu Phe Asn Val Tyr Thr Asn
 35
Val Pro Arg Phe Met Cys His Lys Tyr Gly Leu Arg Phe Glu Glu Val
 50
Ser Glu Lys Tyr Tyr Ile Ser Glu Asn Thr Met Asp Lys Phe Arg Gly
 65
Glu Glu Ile Ala Ile Leu Lys Asp Asn Gly Met Phe Pro Ala Leu Leu
 80
Lys Asn Arg Asn Gly Asn Val Val Ala Arg Asn Gly Gly Val Arg Glu
 95
Leu Gly Asn Leu Thr Lys His Leu Glu Val Phe Arg Asp His Leu Ile
 110
Asn Glu Ile Pro Asp Lys Ser Phe Arg Gly Val Gly Val Ile Asp Thr
 125
Glu Ser Thr Arg Pro Thr Phe Arg Glu Asn Thr Ala Ser Leu Glu Pro
 140
Tyr Lys Lys Leu Ser Val Glu Val Val Arg Arg Glu His Phe Phe Thr
 155
Asp Asp Glu Asp Val Glu Ser Glu Ala Lys Arg Arg Phe Glu Lys Tyr
 170
Gly Glu Leu Phe Met Glu Ser Thr Leu Lys Ala Ala Lys Arg Met Arg
 185
Pro Ala Ala Asn Trp Gly Tyr Tyr Ala Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Asn Leu
 200
Thr Pro Asn Glu Pro Ser Ala Glu Cys Glu Ala Thr Thr Met Glu Glu
 215
Asn Asp Lys Met Ser Trp Ser Phe Glu Ser Glu Arg Val Leu Leu Pro

```

Ser Va Tyr Leu 248  
 260  
 Val Gly Gly Arg Val Lys Ser Ala Leu Arg Leu Ala Arg Gln Met Thr  
 270 280 290  
 Ser Ser Arg Lys Lys Val Ser Arg Tyr Tyr Trp Lys Lys Tyr Gln Asp  
 300 310 320  
 Arg Arg Asp Thr Asp Ser Ser Arg Ala Asp Ser Gln Arg Thr Leu Arg  
 330 340 350 360  
 Lys Ile Thr Asp Leu Gly Ala Asn Gly Phe Ile Ile Trp Gly Ser Ser  
 370 380 390  
 Asp Asp Ile Asn Thr Lys Ala Lys Cys Leu Gln Phe Arg Gln Tyr Leu  
 400 410 420  
 Asn Asn Glu Leu Gly Pro Ala Val Lys Arg Leu Ala Leu Asn Asn Asn  
 430 440 450  
 Ala Asp Arg Arg Ser Thr Val Arg Val Ser Val Asp Ser Val  
 460 470 480

- <210> 15
- <211> 331
- 5 <212> PRT
- <213> Dolichovespula maculata

- <220>
- <223> hyaluronidaz

- 10 <400> 15
- Ser Glu Arg Pro Lys Arg Val Phe Asn Ile Tyr Trp Asn Val Phe Thr  
 1 5 10 15  
 Phe Met Cys His Gln Tyr Gly Leu Tyr Phe Asp Gln Val Thr Asn Phe  
 20 25 30  
 Ser Ile Lys His Asn Ser Lys Asp Phe Gln Gly Asp Lys Ile Ser  
 35 40 45  
 Phe Phe Tyr Asp Pro Gly Glu Phe Thr Ala Leu Leu Pro Leu Lys Gln  
 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  
 Ser Arg Asn Phe Asn Gly Ile Gly Val Ile Asp Phe Glu Arg Trp Arg  
 100 105 110  
 Pro Ile Phe Arg Gln Asn Thr Gly Asn Met Met Ile His Lys Lys Phe  
 115 120 125  
 Ser Ile Asn Leu Val Arg Asn Glu His Pro Phe Thr Asp Lys Lys Met  
 130 135 140  
 Phe Glu Leu Glu Ala Ser Lys Arg Phe Glu Lys Tyr Phe Arg Leu Phe  
 145 150 155 160  
 Met Glu Glu Thr Ser Lys Ser Ala Lys Lys Thr Arg Lys Glu Ala Asp  
 165 170 175  
 Thr Gly Tyr Tyr Gly Tyr Pro Tyr Cys Phe Asn Met Ser Thr Asn Asn  
 180 185 190  
 Met Val Thr Asp Cys Asp Ala Thr Ala Met Leu Gln Asn Asn Lys Met  
 195 200 205  
 Ser Trp Leu Phe Asn Asn Glu Asn Val Leu Ser Pro Ser Val Tyr Ile  
 210 215 220  
 Arg His Glu Leu Thr Pro Asn Glu Arg Val Gly Leu Val Glu Gly Arg  
 225 230 235 240  
 Val Lys Glu Ala Val Arg Ile Ser Asn Asn Leu Lys His Ser Thr Lys  
 245 250 255  
 Val Leu Ser Tyr Trp Trp Lys Val Tyr Glu Asp Asp Ser Asn Thr Phe  
 260 265 270  
 Ser Ser Glu Thr Asp Val Lys Lys Thr Thr Gln Gln Leu Ala Ile Asn

		224				228					234				
Gly	Gly	Asp	Gly	Ile	Ile	Ile	Trp	Gly	Ser	Ser	Ser	Asp	Val	Asn	Ser
	281					281					300				
Leu	Ser	Lys	Lys	Lys	Arg	Leu	Arg	Glu	Tyr	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Gly
305					310					317					320
Pro	Ile	Thr	Val	Asn	Val	Thr	Ser	Thr	Val	Asn					
				325						330					

5 <210> 16  
 <211> 367  
 <212> PRT  
 <213> Polistes annularis

<220>  
 <223> hiyaluronidaz

10

<400> 16

Tyr	Val	Ser	Leu	Ser	Pro	Arg	Ser	Val	Pro	Asn	Ile	Ile	Thr	Asp	Asp
1									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	Arg	Gln	Val	Thr	Asp	Phe	Asn	Ile	Lys
50						55					60				
His	Asn	Ser	Lys	Asp	Asn	Phe	Arg	Gly	Gln	Thr	Ile	Ser	Ile	Tyr	Tyr
65					70					75					80
Arg	Phe	Gly	Lys	Phe	Pro	Ala	Leu	Met	Pro	Leu	Lys	Asn	Gly	Asn	Tyr
				85					90					95	
Val	Gln	Arg	Asp	Gly	Gly	Val	Phe	Gln	Arg	Gly	Asn	Ile	Thr	Ile	Phe
			100					105						110	
Leu	Gln	Gln	Pro	Asn	Gln	Arg	Leu	Arg	Lys	Met	Thr	Phe	Arg	Lys	Asn
			115					120				125			
Phe	Gly	Gly	Ile	Gly	Val	Ile	Arg	Phe	Gln	Arg	Trp	Lys	Phe	Ile	Phe
130						135					140				
Arg	Gln	Asn	Trp	Gly	Asn	Thr	Gln	Ile	Phe	Lys	Lys	Tyr	Ser	Ile	Gln
145					150					155					160
Leu	Val	Arg	Lys	Gln	His	Phe	Lys	Trp	Ser	Gln	Ser	Met	Ile	Gln	Ala
				165					170						175
Ser	Ala	Thr	Lys	Lys	Phe	Ser	Lys	Tyr	Ala	Arg	Tyr	Phe	Met	Gln	Gln
			180						185					190	
Thr	Leu	Lys	Leu	Ala	Lys	Lys	Thr	Arg	Lys	Arg	Ala	Lys	Thr	Gly	Tyr
			195					200						205	
Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Cys	Tyr	Asn	Val	Thr	Pro	Asn	Asn	Phe	Gly	Pro
210						215					220				
Arg	Lys	Arg	Ala	Lys	Ala	Thr	Ile	Gln	Asn	Asp	Arg	Leu	Ser	Trp	Met
225					230					235					240
Tyr	Asn	Asn	Gln	Gln	Ile	Leu	Phe	Met	Ser	Val	Tyr	Val	Arg	His	Gln
			245						250						255
Ser	Lys	Phe	Gln	Gln	Arg	Val	Tyr	Leu	Val	Gln	Gly	Arg	Ile	Lys	Gln
			260					265						270	
Ala	Val	Arg	Ile	Ser	Asn	Asn	Leu	Gln	Asn	Ser	Pro	Ser	Val	Leu	Ala
			275					280						285	
Tyr	Trp	Trp	Tyr	Val	Tyr	Ser	Arg	Lys	Met	Asp	Ile	Tyr	Leu	Ser	Gln
			290					295							
Thr	Arg	Val	Gln	Lys	Thr	Phe	Gln	Gln	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
				321					330						331
Lys	Lys	Arg	Leu	Arg	Gln	Tyr	Leu	Leu	Asn	Thr	Leu	Ser	Phe	Phe	Ala
			340					345						350	
Val	Asn	Val	Thr	Gln	Thr	Val	Asn	Gly	Arg	Ser	Ser	Leu	Asn	Ser	
355					360									365	

15 <210> 17  
 <211> 462



<212> PRT  
 <213> Mus musculus

<220>  
 5 <223> hyaluronidaz

<400> 17

```

Met 1  Leu 2  Gly 3  Leu 4  Thr 5  Glu 6  His 7  Ala 8  Gln 9  Lys 10  Val 11  Trp 12  Arg 13  Met 14  Lys 15  Phe 16
Phe 17  Ser 18  Phe 19  Glu 20  Val 21  Ser 22  Phe 23  Gly 24  Ser 25  Ser 26  Phe 27  Ala 28  Thr 29  Ala 30  Gly 31  His 32
Leu 33  Leu 34  Arg 35  Ile 36  Ser 37  Thr 38  Leu 39  Phe 40  Leu 41  Thr 42  Leu 43  Leu 44  Ser 45  Leu 46  Ala 47  Gln 48
Val 49  Cys 50  Arg 51  Gly 52  Ser 53  Val 54  Val 55  Ser 56  Asp 57  Arg 58  Pro 59  Phe 60  Ile 61  Thr 62  Val 63  Trp 64
Asp 65  Gly 66  Asp 67  Thr 68  His 69  Trp 70  Cys 71  Leu 72  Thr 73  Glu 74  Tyr 75  Gly 76  Val 77  Asp 78  Val 79  Asp 80
Val 81  Ser 82  Val 83  Phe 84  Asp 85  Val 86  Val 87  Ala 88  Asp 89  Lys 90  Glu 91  Gln 92  Ser 93  Phe 94  Gln 95  Gly 96
Ser 97  Asp 98  Met 99  Thr 100  Ile 101  Phe 102  Tyr 103  Arg 104  His 105  His 106  Leu 107  Gly 108  Ser 109  Tyr 110  Leu 111  Tyr 112
Tyr 113  Thr 114  Trp 115  Thr 116  Gly 117  Glu 118  Pro 119  Val 120  Thr 121  Gly 122  Gly 123  Leu 124  Pro 125  Gln 126  Asp 127  Ala 128
Ser 129  Leu 130  Val 131  Thr 132  His 133  Leu 134  Ala 135  His 136  Thr 137  Phe 138  Glu 139  Asp 140  Ile 141  Lys 142  Ala 143  Ala 144
Met 145  Phe 146  His 147  Thr 148  Asp 149  Phe 150  Ser 151  Gly 152  Leu 153  Ala 154  Val 155  Ile 156  Asp 157  Thr 158  His 159  Ala 160
Trp 161  Arg 162  Leu 163  Arg 164  Trp 165  Ala 166  Phe 167  Asp 168  Trp 169  Asp 170  Ser 171  Lys 172  Asp 173  Ile 174  Tyr 175  Arg 176
His 177  Arg 178  Ser 179  Met 180  His 181  Leu 182  Val 183  His 184  Ala 185  His 186  His 187  Pro 188  Asp 189  Thr 190  Leu 191  His 192
Thr 193  Leu 194  Val 195  Glu 196  Ala 197  Ala 198  Ala 199  Lys 200  Asp 201  Gln 202  Phe 203  Glu 204  Glu 205  Ala 206  Ala 207  Glu 208
Ala 209  Trp 210  Met 211  Ala 212  Gly 213  Thr 214  Leu 215  Gln 216  Leu 217  Gly 218  Glu 219  Val 220  Leu 221  Arg 222  Phe 223  Arg 224
Gly 225  Leu 226  Trp 227  Gly 228  Tyr 229  Tyr 230  Gly 231  Phe 232  Phe 233  Asp 234  Cys 235  Tyr 236  Asn 237  Asn 238  Asp 239  Phe 240
Leu 241  Ser 242  Leu 243  Asp 244  Tyr 245  Thr 246  Gly 247  Gln 248  Cys 249  Pro 250  Val 251  Phe 252  Val 253  Arg 254  Asp 255  Gln 256
Asp 257  Asp 258  Gln 259  Leu 260  Gly 261  Trp 262  Leu 263  Thr 264  Asp 265  Gln 266  Ser 267  Tyr 268  Ala 269  Leu 270  Tyr 271  Pro 272
Ser 273  Ile 274  Tyr 275  Leu 276  Pro 277  Ala 278  Ala 279  Leu 280  Met 281  Gly 282  Thr 283  Gly 284  Lys 285  Ser 286  Gln 287  Met 288
Tyr 289  Val 290  Arg 291  His 292  Arg 293  Val 294  His 295  His 296  Ala 297  Leu 298  Arg 299  Val 300  Ala 301  Ile 302  Val 303  Ser 304
Arg 305  Asp 306  Pro 307  His 308  Val 309  Pro 310  Val 311  Met 312  Pro 313  Tyr 314  Val 315  Glu 316  Ile 317  Phe 318  Tyr 319  Glu 320
Met 321  Thr 322  Asp 323  Tyr 324  Leu 325  Leu 326  Pro 327  Leu 328  Glu 329  Glu 330  Leu 331  Glu 332  His 333  Ser 334  Leu 335  Gly 336
His 337  Ser 338  Ala 339  Ala 340  His 341  Gly 342  Val 343  Ala 344  Gly 345  Ala 346  Val 347  Leu 348  Trp 349  Leu 350  Ser 351  Ser 352
Asp 353  Lys 354  Thr 355  Ser 356  Thr 357  Lys 358  His 359  Ser 360  His 361  His 362  Ala 363  Ile 364  Lys 365  Ala 366  Tyr 367  Met 368
Asp 369  Ser 370  Thr 371  Leu 372  Gly 373  Pro 374  Phe 375  Ile 376  Val 377  Asp 378  Val 379  Thr 380  Ser 381  Ala 382  Ala 383  Leu 384
Leu 385  Lys 386  Ser 387  Glu 388  Ala 389  Leu 390  Lys 391  Ser 392  Gly 393  Asp 394  Gly 395  Arg 396  Tyr 397  Val 398  Arg 399  His 400
Pro 401  Ser 402  Lys 403  Pro 404  His 405  Ala 406  Leu 407  Leu 408  Thr 409  Leu 410  Asn 411  Pro 412  Ala 413  Ser 414  Phe 415  Ser 416
Ile 417  Glu 418  Leu 419  Thr 420  His 421  Asp 422  Gly 423  Arg 424  Phe 425  Phe 426  Ser 427  Leu 428  Lys 429  Gly 430  Thr 431  Leu 432
Ser 433  Leu 434  Lys 435  Asn 436  Arg 437  Ala 438  His 439  Met 440  Ala 441  Met 442  Lys 443  Phe 444  Arg 445  Cys 446  Arg 447  Cys 448
Tyr 449  Arg 450  Gly 451  Trp 452  Arg 453  Gly 454  Lys 455  Trp 456  Cys 457  Asp 458  Lys 459  Arg 460  Gly 461  Met 462

```

10

<210> 18  
 <211> 473

<212> PRT  
 <213> Mus musculus

<220>  
 5 <223> Hiyalüronidaz 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 Gln Leu Lys Phe Thr Ala Pro Phe Ile Phe Thr  
 20 25 30  
 Gly Arg Phe Phe Val Val Ala Trp Asn Val Pro Thr Ser Glu Cys Ala  
 35 40  
 Pro Arg His Lys Val Pro Leu Asp Leu Arg Ala Phe Asp Val Lys Ala  
 45 50 55 60  
 Thr Phe Asn Glu Gly Phe Phe Asn Gln Asn Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr  
 65 70 75 80  
 Asp Arg Leu Gly Leu Tyr Phe 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 Gln Ser Val Gln Arg Tyr Ile Gln Thr Gln Ser Phe Gly Gly  
 115 120 125  
 Leu Ala Val Ile Asp Trp Ser Gln Trp Arg Phe Val Trp Val Arg Asn  
 130 135 140  
 Thr Gln Gln Lys Asp Val Tyr Arg Gln Ser Ser Arg Ser Leu Val Ala  
 145 150 155 160  
 Ser Arg His Pro Asp Trp Phe Ser Asp Arg Val Met Lys Gln Ala Gln  
 165 170 175  
 Tyr Gln 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  
 Phe Arg Cys Tyr Asn His Arg Tyr Val Gln Asn Trp Ser Ser Tyr Thr  
 210 215 220 225  
 Gly Arg Cys Phe Asp Val Ser Val Ala Arg Asn Asp Ser Leu Ala Trp  
 225 230 235 240  
 Leu Thr Ala Glu Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Gln  
 245 250 255  
 Thr Leu Ala Ser Ser Val His Ser Arg Asn Phe Val Ser Phe Arg Val  
 260 265 270  
 Arg Gln Ala Leu Arg Val Ala His Thr Asn His Ala Asn His Ala Leu  
 275 280 285  
 Phe Val Tyr Val Phe Thr Arg Phe Thr Tyr Thr Arg Gly Leu Thr Gly  
 290 295 300  
 Leu Ser Gln Val Asp Leu Thr Ser Thr Ile Gly Gln Ser Ala Ala Leu  
 305 310 315 320  
 Gly Ser Ala Gly Val Gln Phe Arg Gly Asp Ser Gln Asp Ala Ser Ser  
 325 330 335 340  
 Met Gln Thr Cys Gln Tyr Leu Lys Asn Tyr Leu Thr Ser Leu Val  
 345 350 355  
 Phe Tyr Ile Val Asn Val Ser Trp Ala Thr Gln Tyr Phe Ser Trp Thr  
 360 365 365  
 Ser Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Trp Ser Ala Asp  
 370 375 380  
 Thr Phe Leu His Leu Asn Ala Ser Ser Phe Arg Leu Val Phe Gly His  
 385 390 395 400  
 Thr Phe Ser Gln Pro Gln Leu Arg Ser Gln Gly Ser Leu Ser Gln Ala  
 405 410 415  
 Arg Leu Asn Tyr Leu Gln Lys His Phe Arg Cys Thr Cys Tyr Leu Gly  
 420 425 430  
 Arg Gly Gly Gln Gln Cys Ser 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 Ser  
 450 455 460  
 Val Ala Val Ala Ser Thr Trp Thr Leu  
 465 470

<210> 19  
 <211> 412  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5

<220>  
 <223> hiyalüronidaz 3

<400> 19

```

Met Ile Met His Leu Gly Leu Met Met Val Val Gly Leu Thr Leu Cys
1      5      7      9      10      11      12      13      14      15      16      17      18
Leu Met His Gly Gln Ala Leu Leu Gln Val Pro Glu His Pro Phe Ser
20      21      22      23      24      25      26      27      28      29      30      31      32
Val Val Trp Asp Val Pro Ser Ala Arg Cys Lys Ala His Phe Gly Val
35      36      37      38      39      40      41      42      43      44      45      46      47
His Leu Phe Leu Asp Ala Leu Gly Ile Val Ala Asn His Gly Gln His
50      51      52      53      54      55      56      57      58      59      60      61      62
Phe His Gly Gln Asn Ile Ser Ile Phe Tyr Lys Asn Gln Phe Gly Leu
65      66      67      68      69      70      71      72      73      74      75      76      77
Tyr Phe Tyr Phe Gly Phe Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Phe
80      81      82      83      84      85      86      87      88      89      90      91      92
Gln Ala Val Ser Leu Arg His His Leu Ala Arg Ala Ala His Gln Ile
95      96      97      98      99      100      101      102      103      104      105      106      107
Leu His Ser Leu Gly Ser Ser Phe Ala Gly Leu Ala Val Leu Asp Trp
110      111      112      113      114      115      116      117      118      119      120      121      122
Gln Glu Trp Tyr Phe Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Phe His Arg Gln
125      126      127      128      129      130      131      132      133      134      135      136      137
Val Tyr Leu Ala Ala Ser Trp Val Trp Thr Gln Ser Met Phe Phe Gly
140      141      142      143      144      145      146      147      148      149      150      151      152
Leu Asp Phe Gln Gln Gln Leu His Lys Ala His Thr Ser Phe Gln Gln
155      156      157      158      159      160      161      162      163      164      165      166      167
Ala Ala Arg Ala Leu Met Gln Tyr Thr Leu Gln Leu Gly Arg Thr Leu
170      171      172      173      174      175      176      177      178      179      180      181      182
Arg Phe Ser Gly Leu Thr Tyr Ala Tyr Arg Tyr Phe Ala Cys Gly Ser
185      186      187      188      189      190      191      192      193      194      195      196      197
Gly Thr His Lys Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly His Cys His Ala Ala
200      201      202      203      204      205      206      207      208      209      210      211      212
Phe Thr Thr Gln Asp Thr Gln Leu Arg Trp Leu Thr Ala Ala Ser Ser
215      216      217      218      219      220      221      222      223      224      225      226      227
Ala Leu His Phe Ser Ile Tyr Leu Phe Phe Arg Leu Phe Leu Ala Tyr
230      231      232      233      234      235      236      237      238      239      240      241      242
Arg Gln Ala Phe Val Arg His Arg Leu Gln Gln Ala Phe Arg Val Ala
245      246      247      248      249      250      251      252      253      254      255      256      257
Leu Leu Glu His Ser His Pro Leu Phe Val Leu Ala Tyr Ser Arg Leu
260      261      262      263      264      265      266      267      268      269      270      271      272
Thr His Arg Ser Ser Gly Arg Thr Leu Ser Leu Asp Asp Leu Met Gln
275      276      277      278      279      280      281      282      283      284      285      286      287
Thr Ile Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Thr Ala Gly Val Val Leu Trp
290      291      292      293      294      295      296      297      298      299      300      301      302
Gly Asp Leu Ser Phe Ser Ser Ser Glu Gln Lys Lys Trp Arg Leu His
305      306      307      308      309      310      311      312      313      314      315      316      317
Arg Lys Leu Val Gly Thr Leu Gly Asn Tyr Val Ile Asn Val Thr Lys
320      321      322      323      324      325      326      327      328      329      330      331      332
Ala Asp Met Ala Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys
335      336      337      338      339      340      341      342      343      344      345      346      347
Ala Arg Lys Asp Pro Gly Gln Met Gln Ala Phe Leu His Leu Gln Pro
350      351      352      353      354      355      356      357      358      359      360      361      362
Arg Asp Ser Leu Gly Ala Arg Asn Ser Phe Arg Lys His Lys Tyr Ser
365      366      367      368      369      370      371      372      373      374      375      376      377
Gly Ser Ala Gly Pro Thr Cys Leu Gln Thr Lys Pro
400      410      411      412
    
```

10

15

<210> 20  
 <211> 435  
 <212> PRT  
 <213> Sus scrofa

<220>

<223> hiyalüronidaz

<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 Phe Val Val Leu Asn Arg Phe Phe  
 20 25 30  
 Thr Thr Ile Trp Asn Ala Asn Thr Gln Trp Cys Leu Lys Arg His Gly  
 35 40 45  
 Val Arg Val Asp Val Ser Val Phe Gln Val Val Val Asn Phe Gly Gln  
 50 55 60  
 Thr Phe Arg Gly Phe Asn Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Gln Leu Gly  
 65 70 75  
 Thr Tyr Phe Tyr Tyr Thr Ser Ala Gly Gln Phe Val Phe Gly Gly Leu  
 85 90 95  
 Phe Gln Asn Ala Ser Leu Arg Val His Leu Asn Arg Thr Phe Lys Asp  
 100 105 110  
 Ile Ser Ala Met Pro His Ser Asn Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile  
 115 120 125  
 Arg Trp Gln Ala Trp Arg Phe 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 Phe  
 145 150 155  
 Arg Arg Ser Ala Pro Arg Val Gln Ala Ala Ala Gln Arg Gln Phe Gln  
 160 165 170  
 Ser Ala Ala Gln Thr Trp Met Ala Gly Thr Leu Lys Leu Gly Gln Thr  
 180 185 190  
 Ser Arg Ser His Gly Leu Ser Gly Phe Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr  
 195 200 205  
 Ser Tyr Asp Phe Gln Ser Ser Asn Tyr Thr Gly Gln Lys Phe Phe Gly  
 210 215 220  
 Val Ser Ala Gln Asp Asp Gln Leu Gly Thr Leu Trp Trp Gly Gln Ser Arg  
 225 230 235  
 Ala Leu Tyr Phe Ser Phe Tyr Leu Thr Ser Ala Leu Gln Gly Thr Asp  
 240 245 250  
 Lys Thr Gln Leu Tyr Val Ser His Arg Val Asn Gln Ala Phe Arg Val  
 255 260 265  
 Ala Ala Ala Gln Gly Asp Pro Asn Leu Phe Val Leu Pro Tyr Ala Gln  
 270 275 280  
 5 Ile Phe His Asp Met Thr Ser Arg Leu Leu Ser Arg Gln Gln Leu Gln  
 285 290 295  
 His Ser Leu Gly Gln Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu  
 300 305 310  
 Trp Val Ser Arg Gln Asn Thr Arg His Lys Gln Ser Cys Gln Ser Ile  
 315 320 325  
 Lys Gln Tyr Val Asp Thr Thr Leu Gly Trp Phe Ile Leu Asn Val Thr  
 330 335 340  
 Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Val Cys Ser Gly His Gly Arg  
 345 350 355  
 Cys Val Arg Arg Phe Ser His His Gln Ala Leu Pro Leu Leu Asp Phe  
 360 365 370  
 Ser Ser Phe Ser Ile Lys Pro Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Thr Leu  
 375 380 385  
 Gln Gly Ala Leu Ser Leu Lys Arg Arg Val Gln Met Ala Gln Gln Phe  
 390 395 400  
 Gln Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Arg Gly Thr Trp Cys Gln Gln Gln  
 405 410 415  
 Gly Thr Arg  
 420 425 430 435

<210> 21

<211> 419

10 <212> PRT

<213> Sus scrofa

<220>

&lt;223&gt; hiyalüronidaz 3

&lt;400&gt; 21

Met Thr Met Gln Leu Gly Leu Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Met Cys  
1 5 15  
Leu Gly Cys Gly Gln Pro Leu Leu Arg Ala Pro Gln Arg Ser Ser Cys  
20 25 30  
Val Leu Ala Arg Val Pro Ser Ala Arg Cys Tyr Ala Arg Phe Gly Val  
35 40  
His Leu Arg Leu Gln Ala Ser Gly Ile Thr Ala Asp His Gly Gln Arg  
45 50 55  
Phe His Gly Gln Asp Ile Ser Leu Thr Tyr Tyr Ser Gln Leu Gly Leu  
60 65 70  
Tyr Pro Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asp Gly Gly Ile Pro  
75 80 85  
Gln Ala Val Ser Leu Asp His His Leu Ala Arg Ala Ala Tyr Gln Ile  
90 95 100 105 110  
His Arg Ser Leu Arg Pro Gly Phe Thr Gly Leu Ala Val Leu Asp Trp  
115 120 125  
Ser Gln Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asp Trp Gly Arg Arg Gln Ala  
130 135 140  
Tyr Gln Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ala Gln Arg Val Tyr Ser Asp Leu  
145 150 155 160  
Arg Pro Gln Gln Gln Leu Tyr Cys Ala Arg Ala Gly Phe Gln Gln Ala  
165 170 175  
Ala Arg Ala Leu Met Gln Asp Phe 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 Asp Gly  
195 200 205  
Trp His Gly Thr Ala Ser Ser Tyr Thr Gly His Cys His Ala Ala Ala  
210 215 220  
Leu Ala Arg Asp Thr Gln Leu Tyr Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala  
225 230 235 240  
Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Phe Ser Gly Leu Pro Pro Ala Tyr His  
245 250 255  
Gln Ala Phe Val Arg Tyr Arg Leu Gln Gln Ala Phe Arg Val Ala Leu  
260 265 270  
Val Gly His Pro His Pro Leu Phe Val Leu Ala Tyr Ala Arg Leu Thr  
275 280 285  
His Arg Asp Ser Gly Arg Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Gln Thr  
290 295 300  
Phe Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ser Gly Val Val Leu Trp Gly  
305 310 315 320  
Arg Leu Ser Phe Ser Ser Ser Gln Gln Gln Cys Arg His Leu Arg Gly  
325 330 335  
Tyr Leu Val Gly Thr Leu Gly Ser Tyr Val Ile Asp 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 Gln Asp Ser Gly Gln Leu Lys Val Phe Leu His Leu His Pro Gly  
370 375 380  
Gly Ser Ser Gly Ala Arg Gln Ser Ser Ser Cys Arg Cys Tyr Trp Gly  
385 390 395 400  
Arg Ala Gly Ser Thr Cys Gln Gln Ser Arg Pro Gln Leu Gly Pro Gln  
405 410 415

5 Gln Ala Thr

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 449

&lt;212&gt; PRT

10 &lt;213&gt; Rattus norvegicus

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; hiyalüronidaz 1

15 &lt;400&gt; 22

Met Lys Phe Phe Ser Pro Glu Val Ser Pro Asp Phe Cys Phe Ala Thr  
 1  
 Ala Ala His Leu Leu Arg Thr Tyr Thr Leu Phe Leu Thr Leu Leu Glu  
 20  
 Leu Ala Glu Gly Cys Arg Gly Ser Met Val Ser Asn Arg Phe Phe Leu  
 35  
 His Val Trp Asn Ala Asp His His Trp Cys Leu Lys Asp His Gly Val  
 50  
 Asp Val Asp Val Ser Val Phe Asn Val Val Ala Asn Lys Glu Glu Asn  
 65  
 Phe Glu Gly Ser Asn Met His His Phe Tyr Arg Trp Glu Leu Gly Thr  
 80  
 Tyr Phe Tyr Tyr Thr Pro His Gly His Pro Val Phe Gly Gly Leu Pro  
 100  
 Asp Asn Ala Ser Ser Val Thr His Leu Ala His Ala Thr Glu Asp Leu  
 115  
 Lys Ala Ala Met Pro Glu Pro Asn Ser Ser Gly Leu Ala Val Ile Asp  
 130  
 Thr Glu Ala Trp Arg Pro Arg Thr Ala Phe Asn Trp Asn Ser Tyr Asp  
 145  
 Leu Tyr Glu Glu Arg Ser Met Glu Leu Val Arg Ala Glu His Pro Asp  
 160  
 Trp Phe Glu Thr Leu Val Glu Ala Glu Ala Glu Gly Glu Phe Glu Glu  
 180  
 Ala Ala Glu Ala Trp Met Ala Gly Thr Leu Glu Leu Gly Glu Val Leu  
 195  
 Arg Phe Arg Gly Leu Trp Gly Tyr Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr Asn  
 210  
 Tyr Asp Phe Leu Ser Pro Asn Tyr Thr Gly Glu Tyr Ser Leu Ser His  
 225  
 His Asp Glu Asn Asp Glu Asn Gly Trp Leu Trp Asn Glu Ser Tyr Ala  
 240  
 Leu Tyr Trp Ser Ile Tyr Leu Thr Ala Ala Leu Met Gly Thr Gly Tyr  
 260  
 Ser Glu Met Tyr Val Arg Tyr Arg Val Glu Glu Glu Ala Phe Arg Leu Ala  
 275  
 Leu Val Ser Arg Asp Pro His Val Ser His Met Pro Tyr Val Glu His  
 290  
 Phe Tyr Glu Lys Thr Asp Tyr Leu Leu Leu Pro Leu Glu Glu Glu His  
 305  
 Ser Ser Gly Glu Ser Ala Ala Glu Gly Ala Ala Gly Ala Val Leu Trp  
 320  
 Le Ser Ser Glu Lys Thr Ser Thr Lys Glu Ser Lys Glu Ala His Lys  
 340  
 Ala Tyr Met Asp Ser Thr Leu Gly Thr Phe His Ser Asn Val Thr Ser  
 355  
 Ala Ala Leu Leu Cys Ser Glu Ala Leu Cys Ser Gly Arg Gly Arg Cys  
 370  
 Val Arg His Pro Ser Tyr Pro Glu Ala Leu Leu Thr Leu Ser Pro Ala  
 385  
 Ser Phe Ser Ile Glu Pro Thr His Asn Gly Arg Pro Leu Ser Ile Tyr  
 400  
 Gly Thr Leu Ser Leu Lys Arg Arg Ala Glu Met Ala Met Lys Phe Lys  
 420  
 Tyr Arg Cys Tyr Arg Gly Trp Ser Gly Glu Trp Tyr Lys Lys Glu Asp  
 435  
 Met

- <210> 23
- 5 <211> 473
- <212> PRT
- <213> Rattus norvegicus
  
- <220>
- 10 <223> hyaluronidaz 2
  
- <400> 23

Met Arg Ala Gly Leu Gly Phe Ile Ile Thr Leu Ala Leu Val Leu Glu  
 Val Ala Arg Ala Ser Glu Ser Lys Arg Thr Ala Pro Pro Ile Ser Thr  
 Gly Arg Arg Ser Val Val Ala Arg Asn Val Pro Thr Ser Glu Cys Ala  
 Pro Arg His Lys Val Pro Asn Asn Leu Arg Ala Phe Asp Val His Ala  
 Thr Pro Asn Glu Gly Phe Phe Asn Glu Asp Ile Thr Thr Phe Tyr Tyr  
 Asp Arg Leu Gly Ser Tyr Pro Arg Phe Asp Ala Ala Gly Met Ser Val  
 His Gly Gly Val Pro Glu Asn Gly Ser Leu Cys Ala His Leu Pro Met  
 Ser Lys Glu Ala Val Glu Arg Tyr Ile Glu Thr Glu Ser Leu Ala Gly  
 Ser Ala Val Ile Asp Arg Glu Glu Ser Arg Pro Val Arg Val Arg Asn  
 Thr Glu Glu Lys Asp Val Tyr Arg Glu Ser Ser Arg Ser Leu Val Ala  
 145 Ser Arg His Pro Asp Trp Phe Ser Asp Arg Leu Val Lys Glu Ala Glu  
 Tyr Glu Ser Glu Phe Ala Ala Arg Glu Ser Met Leu Asn Thr Leu Arg  
 180 Lys Val Lys Ala Val Arg Pro Glu Asn Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Ser  
 195 Pro Asn Cys Tyr Asn His Asn Tyr Val Glu Asn Arg Asp Ser Tyr Thr  
 210 Gly Arg Lys Pro Asp Val Ser Val Ala Glu Asn Asp Ser Leu Ala Trp  
 225 Leu Trp Ala Glu Asn Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asp Lys  
 240 Thr Leu Ala Ser Ser Lys His Ser Arg Asn Phe Val Ser Phe Arg Val  
 260 Ser Glu Ala Leu Arg Val Ala His Thr His His Ala Asn His Ala Leu  
 275 Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Thr Arg Arg Leu Thr Glu  
 290 Leu Asn Glu Met Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu  
 305 Gly Ser Ala Gly Val Ile Phe Arg Gly Asp Ser Val Lys Ala Ser Ser  
 320 Met Glu Asn Cys Thr Asn Leu Lys Lys Tyr Ser Thr Ser Leu Val  
 340 Pro Lys Ile Val Asn Val Ser Arg Ala Thr Glu Tyr Lys Ser Trp Thr  
 355 His Lys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Pro Ser Ala Ser  
 370 Ser Phe Leu His Leu Ser Pro Ser Ser Phe Arg Leu Val Leu Gly Arg  
 385 Ser Pro Ser Glu Arg Glu Leu Arg Leu Glu Gly Glu Leu Ser Glu Asp  
 400 Asp Leu Ser Tyr Leu Glu Met His Lys Arg Cys His Lys Tyr Leu Gly  
 415 Thr Gly Gly Glu Gly Cys Glu Thr Asn Ser Tyr Arg Ala Ala Gly Asp  
 430 Ala Ser Arg Ala Trp Ala Gly Ala His Leu Ala Ser Leu Leu Gly Leu  
 450 Val Ala Met Thr Ser Thr Thr Thr Leu

- <210> 24
- 5 <211> 412
- <212> PRT
- <213> Rattus norvegicus
- <220>
- 10 <223> hyaluronidaz 3

<400> 24

Met Ile Thr Glu Leu Gly Leu Thr Leu Val Val Gly Leu Thr Leu Cys  
 1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150  
 Leu Val His Val Gln Ala Leu Leu Glu Val Pro Glu Phe Asp Phe Ser  
 160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300  
 Val Leu Trp Asp Val Pro Ser Ala Arg Cys Lys Thr Arg Phe Gly Val  
 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450  
 His Leu Phe Leu Asp Ala Leu Gly Ile Ile Ala Asn His Gly Glu Arg  
 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600  
 Phe His Gly Glu Asp Leu Thr Ile Ser Tyr Lys Asn Lys Phe Gly Leu  
 610 620 630 640 650 660 670 680 690 700 710 720 730 740 750  
 Tyr Phe Tyr Phe Gly Pro Arg Gly Thr Ala His Asn Gly Gly Ile Thr  
 760 770 780 790 800 810 820 830 840 850 860 870 880 890 900  
 Ala Ala Val Ser Leu Asp His His Leu Ala Glu Ala Ala His Glu Ile  
 910 920 930 940 950 960 970 980 990 1000 1010 1020 1030 1040 1050  
 Leu His Asn Leu Gly Ser Ser Phe Ala Gly Ser Ala Val Leu Asp Trp  
 1060 1070 1080 1090 1100 1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200  
 Glu Glu Phe Tyr Arg Leu Arg Ala Gly Asp Trp Gly Thr His Arg Glu  
 1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300 1310 1320 1330 1340 1350  
 Val Tyr Glu Ala Ala Ser Thr Ala Trp Ala Gln Glu Met Phe Pro Asp  
 1360 1370 1380 1390 1400 1410 1420 1430 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500  
 Leu Asn Phe Glu Glu Glu Leu His Lys Ala Glu Thr Gly Phe Glu Glu  
 1510 1520 1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600 1610 1620 1630 1640 1650  
 Ala Ala Arg Ala Leu Met His His Thr Leu Arg Leu Gly Glu Met Leu  
 1660 1670 1680 1690 1700 1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800  
 Arg Phe His Gly Leu Trp Gly Phe Tyr Arg Tyr Phe Val Cys Gly Asn  
 1810 1820 1830 1840 1850 1860 1870 1880 1890 1900 1910 1920 1930 1940 1950  
 Gly Trp His Asn Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly His Cys His Pro Ala  
 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020 2030 2040 2050 2060 2070 2080 2090 2100  
 Phe Ile Thr Arg Asn Thr Phe Leu Arg Trp Leu Arg Ala Ala Ser Ser  
 2110 2120 2130 2140 2150 2160 2170 2180 2190 2200 2210 2220 2230 2240 2250  
 Ala Leu Phe Phe Ser Ile Tyr Leu Phe Phe Arg Leu Phe Phe Ala Tyr  
 2260 2270 2280 2290 2300 2310 2320 2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400  
 His Glu Thr Phe Val Arg His Arg Leu Glu Glu Ala Phe Arg Val Ala  
 2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480 2490 2500 2510 2520 2530 2540 2550  
 Ser Thr Gly His Ala His Phe Leu Thr Val Thr Ala Tyr Val Arg Thr  
 2560 2570 2580 2590 2600 2610 2620 2630 2640 2650 2660 2670 2680 2690 2700  
 Thr His Arg Ser Ser Gly Arg Phe Leu Ser Leu Arg Asp Leu Met Glu  
 2710 2720 2730 2740 2750 2760 2770 2780 2790 2800 2810 2820 2830 2840 2850  
 Ser Ile Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp  
 2860 2870 2880 2890 2900 2910 2920 2930 2940 2950 2960 2970 2980 2990 3000  
 Gly Asp Leu Ser Val Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Thr Arg Leu His  
 3010 3020 3030 3040 3050 3060 3070 3080 3090 3100 3110 3120 3130 3140 3150  
 Asp Tyr Leu Val Gly Thr Leu Gly Thr Tyr Val Ile Asn Val Thr Lys  
 3160 3170 3180 3190 3200 3210 3220 3230 3240 3250 3260 3270 3280 3290 3300  
 Ala Ala Thr Ala Cys Ser His Glu Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys  
 3310 3320 3330 3340 3350 3360 3370 3380 3390 3400 3410 3420 3430 3440 3450  
 Ser Thr Lys Asp Pro Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Glu Pro  
 3460 3470 3480 3490 3500 3510 3520 3530 3540 3550 3560 3570 3580 3590 3600  
 Asn Asn Asn Leu Gly Ala Arg Lys Ser Phe Arg Lys Arg Cys Tyr Leu  
 3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680 3690 3700 3710 3720 3730 3740 3750  
 Gly Thr Ser Gly Pro Thr Lys Leu Glu Pro Lys Pro  
 3760 3770 3780 3790 3800 3810 3820 3830 3840 3850 3860 3870 3880 3890 3900  
 3910 3920 3930 3940 3950 3960 3970 3980 3990 4000 4010 4020 4030 4040 4050

5

<210> 25

<211> 545

<212> PRT

<213> Oryctolagus cuniculus

10

<220>

<223> Prekürsör tavşan PH20'si

<400> 25



Met	Gly	Val	Leu	Lys	Phe	Lys	His	Ile	Pro	Phe	Gly	Ser	Ala	Val	Glu
1									10					15	
Met	Ser	Gly	Val	Phe	Gln	Pro	Val	Phe	Ile	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Cys
2			20				25						30		
Lys	Leu	Thr	Ala	Asn	Phe	Arg	Ala	Phe	Pro	Val	Ile	Phe	Asn	Val	Pro
3		35				40						45			
Phe	Leu	Trp	Ala	Trp	Asn	Ala	Phe	Thr	Glu	Phe	Cys	Leu	Gly	Lys	Ser
4		50				55					60				
Gly	Glu	Pro	Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Leu	Phe	Gly	Ser	Pro	Arg
5					70					75					80
Lys	Asn	Lys	Thr	Gly	Gln	Gly	Ile	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu
6				85					90					95	
Gly	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Asp	Phe	His	Thr	Gly	Ala	Ile	Val	His	Gly
7			100					105					110		
Arg	Ile	Phe	Gln	Leu	Gly	Phe	Leu	Gln	Gln	His	Leu	Thr	Lys	Leu	Arg
8			115					120					125		
Gln	Glu	Ile	Leu	Tyr	Tyr	Met	Phe	Lys	Asp	Asn	Val	Gly	Leu	Ala	Val
9			130			135					140				
Ile	Asn	Thr	Glu	Gln	Trp	Leu	Phe	Thr	Trp	Leu	Asp	Asn	Thr	Lys	Pro
10			145			150				155					160
Lys	Asn	Ile	Tyr	Arg	Ile	Lys	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Lys	Ser	Gln	Phe
11			165					170						175	
Pro	Glu	Tyr	Asn	His	Ser	Tyr	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Arg	Asp	Phe
12			180					185					190		
Gln	Lys	Ala	Gly	Lys	Asp	Phe	Met	Gln	Glu	Thr	Leu	Lys	Leu	Gly	Arg
13			195				200					205			
Leu	Leu	Arg	Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Phe	Asp	Cys
14		210				215					220				
Tyr	Asn	His	His	Tyr	Asp	Lys	Phe	Asn	Leu	Tyr	Lys	Gly	Ser	Cys	Phe
15			225			230				235					240
Asn	Ile	Glu	Lys	Lys	Arg	Asn	Asn	Asn	Leu	Ser	Trp	Leu	Thr	Lys	Gln
16			245						250					255	
Ser	Thr	Ala	Leu	Phe	Pro	Ser	Val	Tyr	Leu	Thr	Ser	Arg	Ala	Arg	Ser
17			260					265					270		
Ala	Thr	Ala	Leu	Ser	Lys	Leu	Tyr	Val	Val	Arg	Asn	Arg	Val	His	Glu
18			275				280					285			
Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile	Pro	Asn	Asp	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Asn
19			290				295				300				
Phe	Val	Tyr	Thr	Arg	Leu	Val	Phe	Thr	Asp	Gln	Ile	Phe	Gln	Phe	Leu
20			305				310			315					320
Ser	His	His	Asp	Leu	Val	Tyr	Thr	Ile	Gly	Gln	Ile	Val	Ala	Leu	Gly
21			325						330					335	
Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Val	Thr	Gly	Ser	Gln	Ser	Leu	Ala	Arg	Ser	Met
22			340				345						350		
Lys	Ser	Cys	Leu	His	Leu	Asp	Asn	Tyr	Met	Lys	Thr	Ile	Leu	Asn	Pro
23			355				360					365			
Tyr	Leu	Ile	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Ala	Lys	Met	Cys	Asn	Gln	Val	Leu
24			370			375					380				
Cys	Glu	Gln	Gln	Gly	Val	Lys	Thr	Arg	Lys	Asn	Trp	Asn	Phe	Asn	Asp
25			385			390				395					400
Tyr	Leu	His	Leu	Asn	Pro	Gly	Asn	Phe	Ala	Ile	Gln	Leu	Gly	Ser	Asn
26			405				410						415		
Gly	Thr	Tyr	Lys	Val	Asp	Gly	Lys	Ser	Thr	Leu	Thr	Arg	Leu	Gln	Gln
27			420				425						430		
Phe	Ser	Lys	Asn	Phe	Gln	Cys	Ser	Cys	Tyr	Thr	Asn	Leu	Asn	Cys	Lys
28			435				440					445			
Gln	Arg	Trp	Asn	Met	Ser	Asn	Val	Arg	Thr	Val	Asn	Val	Cys	Ala	Val
29			450			455					460				
Gln	Asn	Val	Cys	Ile	Asp	Thr	Asn	Val	Gly	Pro	Gln	Ala	Val	Thr	Tyr
30			465			470				475					480
Ala	Pro	Lys	Gln	Lys	Lys	Asp	Val	Ala	His	Ile	Leu	Ser	Asn	Thr	Thr
31			485			490				495				500	
Ser	Ile	Asn	Ser	Ser	Thr	Thr	Met	Ser	Leu	Pro	Phe	Pro	Arg	Lys	Phe
32			505				510					515			
Val	Ser	Gly	Cys	Leu	Leu	Val	Leu	Cys	Met	Tyr	Ser	Gln	Tyr	Leu	Asn
33			520				525					530			
Ile	Cys	Tyr	Arg	Leu	Val	Ala	Ile	Gly	Ile	Gln	His	Gly	Tyr	Tyr	Leu
34			535			540					545				

<210> 26  
<211> 476  
<212> PRT  
5 <213> Ovis aries  
  
<220>  
<223> hiyalüronidaz 2  
  
10 <400> 26

Met Thr Thr Gly Leu Gly Pro Ala Val Thr Leu Ala Leu Val Leu Val  
 1  
 Val Ala Thr Ala Thr Glu Leu Lys Pro Thr Ala Pro Pro Ile Ser Thr  
 20  
 Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Thr Asp Val Pro Thr Glu Asp Cys Gly  
 35  
 Pro Arg His Lys Met Pro Leu Asp Pro Lys Asp Met Lys Ala Pro Asp  
 50  
 Val His Ala Ser Pro Asn Glu Gly Pro Val Asn Glu Asn Ile Thr Ile  
 65  
 Phe Tyr Arg Asp Arg Leu Gly Met Tyr Pro His Phe Asn Ser Val Gly  
 80  
 Arg Ser Val His Gly Gly Val Phe Glu Asn Gly Ser Leu Thr Val His  
 100  
 Leu His Met Leu Lys Gly His Val Glu His Tyr Ile Arg Thr Glu Glu  
 115  
 Pro Ala Gly Leu Ala Val Thr Asp Thr Glu Asp Arg Arg Ser Val Thr  
 130  
 Val Arg Asn Thr Glu Asp Lys Asp Val Tyr Arg Arg Leu Ser Arg Glu  
 145  
 Leu Val Ala Ser His His Pro Arg Thr Pro Glu Arg Ile Val Lys  
 160  
 Phe Ala Glu Tyr Glu Phe Ser Phe Ala Ala Arg Glu Phe Met Leu Glu  
 180  
 Thr Leu Arg Phe Val Lys Ala Phe Arg Thr Arg His Leu Thr Gly Thr  
 195  
 Tyr Leu Thr Pro Asp Cys Tyr Asn His Asp Tyr Val Glu Asn Thr Glu  
 210  
 Thr Tyr Thr Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ser Arg Asn Asp Glu  
 225  
 Leu Ser Thr Leu Thr Ala Glu Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr  
 240  
 Leu His Glu Thr Leu Ala Ala Ser Ser Thr His Gly Arg Asn Phe Val Ser  
 260  
 Phe Arg Val Glu Glu Ala Leu Arg Val Ala Asp Val His His Ala Asn  
 275  
 His His Leu Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Pro Thr Tyr Ser Arg Gly  
 290  
 Leu Thr Gly Leu Ser Glu Met Asn Leu Ile Ser Thr Thr Gly Glu Ser  
 305  
 Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Ile Leu Thr Gly Asp Ala Gly Phe  
 320  
 Thr Thr Ser Asp Glu Thr Cys Arg Arg Leu Lys Asp Tyr Leu Thr Arg  
 340  
 Ser Leu Val Pro Tyr Val Val Asn Val Ser Thr Ala Ala Glu Tyr Cys  
 355  
 Ser Thr Ala Glu Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asp Pro  
 370  
 Arg Ala Arg Thr Phe Leu His Leu Ser Ala Ser Ser Phe Arg Leu Val  
 385  
 Pro Ser His Ala Thr Asp Glu Pro Arg Leu Arg Pro Glu Gly Glu Leu  
 400  
 Ser Thr Ala Asp Arg Asn His Leu Glu Thr His Phe Arg Cys Glu Cys  
 420  
 Lys Leu Gly Thr Gly Gly Glu Glu Cys Glu Thr Asp Arg Arg Arg Ala  
 435  
 Ala Gly Gly Ala Ser Gly Ala Thr Ala Gly Ser His Leu Thr Gly Leu  
 450  
 Leu Ala Val Ala Val Leu Ala Phe Thr Thr Ser Thr Ser  
 465

- <210> 27
- <211> 114
- 5 <212> PRT
- <213> Ovis aries
  
- <220>
- <223> PH20 kısmi dizisi

<400> 27

```

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Leu Ser Lys Ile
1 10 15
Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Arg Val Phe Val Tyr His Arg Pro Val
20 25 30
Phe His Asp Gly Ser Ser His Tyr Leu Ser Glu Gly Asn Leu Val Asp
35 40
Ser Val Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile Met Trp
45 50
Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Met Glu Ser Lys Met Asn Leu Gly
55 60
Asn Tyr Leu Asn Thr His Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
65 70 75 80
Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu Gly Val Lys
85 90 95 100
Ile Arg
100 110

```

- 5 <210> 28
- <211> 414
- <212> PRT
- <213> Pongo pygmaeus

- 10 <220>
- <223> hiyalüronidaz 3

<400> 28

```

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

```

210  
 Met Ala Arg Asp Thr Gln Met Phe Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala  
 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320  
 Leu Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Phe Phe Arg Leu Pro Phe Ala His His  
 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420  
 Ser Ala Phe Val Arg His Arg Leu Gln Gln Ala Phe Arg Val Ala Leu  
 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520  
 Val Gly His Leu Pro Val Leu Ala Tyr Val Arg Leu Thr His Arg Arg  
 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620  
 Ser Gly Arg Phe Ser Ser Gln Gln Phe Cys Trp His Leu His Asp Tyr Leu Val  
 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720  
 Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp Gly Asp Leu Ser  
 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820  
 Leu Ser Ser Ser Gln Gln Phe Cys Trp His Leu His Asp Tyr Leu Val  
 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920  
 Asp Ser Leu Gly Trp Tyr Gly Ile Asp Val Thr Arg Ala Ala Met Ala  
 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020  
 Cys Ser His Gln Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys Phe Arg Arg Asp  
 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120  
 Pro Gly Gln Met Gln Ala Phe Leu His Leu Trp Pro Asp Gly Ser Leu  
 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220  
 Gly Asp Thr Lys Ser Phe Ser Cys His Cys Tyr Trp Gly Thr Ala Gly  
 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320  
 Phe Thr Cys Gln Gln Pro Arg Leu Gly Phe Lys Gln Ala Val  
 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420

- <210> 29
- <211> 510
- 5 <212> PRT
- <213> Macaca fascicularis
- <220>
- <223> Prekürsör Sinomoligus maymunu PH20'si

10

<400> 29  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 9960 9965 9970 9975 9980 9985 9990 9995 10000 10005 10010 10015 10020 10025 10030 10035 10040 10045 10050 10055 10060 10065 10070 10075 10080 10085 10090 10095 10100 10105 10110 10115 10120 10125 10130 10135 10140 10145 10150 10155 10160 10165 10170 10175 10180 10185 10190 10195 10200 10205 10210 10215 10220 10225 10230 10235 10240 10245 10250 10255 10260 10265 10270 10275 10280 10285 10290 10295 10300 10305 10310 10315 10320 10325 10330 10335 10340 10345 10350 10355 10360 10365 10370 10375 10380 10385 10390 10395 10400 10405 10410 10415 10420 10425 10430 10435 10440 10445 10450 10455 10460 10465 10470 10475 10480 10485 10490 10495 10500 10505 10510 10515 10520 10525 10530 10535 10540 10545 10550 10555 10560 10565 10570 10575 10580 10585 10590 10595 10600 10605 10610 10615 10620 10625 10630 10635 10640 10645 10650 10655 10660 10665 10670 10675 10680 10685 10690 10695 10700 10705

210  
 Tyr Asn Val Phe Tyr Arg  
 225 230  
 Val Glu Phe Lys Arg Asn  
 245 250  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser  
 260 265  
 Val Ala Thr Leu Tyr Val  
 270 275  
 Ser Lys Ile Thr Asp Ala  
 280 285  
 Arg Leu Val Phe Thr Asp  
 290 295  
 Leu Val Ser Thr Lys Gly  
 300 305  
 Val Ile Asp Gly Ser Ser  
 310 315  
 Leu Leu Asp Thr Tyr Met  
 320 325  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys  
 330 335  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys  
 340 345  
 Asn Pro Asp Asn Phe Asp  
 350 355  
 Val His Gly Lys Pro Thr  
 360 365  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr  
 370 375  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala  
 380 385  
 Ile Arg Ala Ser Lys Lys  
 390 395  
 Leu Phe Tyr Asn Thr Ser  
 400 405  
 Val Asn Ile Leu Phe Ser  
 410 415  
 500

<210> 30  
 <211> 529  
 5 <212> PRT  
 <213> Cavia porcellus

<220>  
 <223> Prekürsör gine domuzu PH20'si

10

<400> 30  
 Met Gly Ala Phe Thr Phe Lys His Ser Phe Phe Gly Ser Phe  
 5 10 15  
 Cys Ser Gly Val Lys Glu Leu Val Phe Ile Phe Leu Leu Ile  
 20 25 30  
 Cys Leu Ala Asp Lys Arg Phe Thr Pro Leu Ile Pro Asn Val  
 35 40 45  
 Leu Asp Val Thr Asp Ala Phe Thr Glu Phe Cys Leu Gly Gly  
 50 55 60  
 Thr Pro Leu Asp Met Ser Phe Phe Ser Ile Val Gly Thr Pro  
 65 70 75  
 Asn Ile Thr Gly Glu Ser Phe Thr Leu Tyr Tyr Val Asp Arg  
 80 85 90 95  
 Tyr Cys Phe Tyr Ile Asp Phe His Thr Gly Ala Ile Val His  
 100 105 110  
 Leu Pro Thr Leu Met Asn Leu Glu Glu Asp Thr Arg Lys Ser  
 115 120

118  
 Asp Ile Leu Phe Tyr Met Pro Thr Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile  
 130 135 140  
 Asp Thr Glu Glu Asp Arg Pro Thr Thr Thr Asp Ser Thr Arg Pro Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Ile Tyr Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Lys Ser Glu His Pro  
 165 170 175  
 Gly Tyr Asn His Ser Tyr Ala Val Ala Val Ala Lys Arg Asp Phe Gly  
 180 185 190  
 Arg Thr Gly Lys Ala Phe Met Leu Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Ser  
 195 200 205  
 Leu Arg Phe Ser Ser Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Asp Cys Tyr  
 210 215 220  
 Asp Thr His Phe Thr Lys Pro Asp Tyr Asp Gly His Cys Pro Pro Ile  
 225 230 235 240  
 Ser Leu Glu Arg Asn Asn Arg Leu Glu Trp Leu Trp Asn Asp Ser Thr  
 245 250 255  
 Ala Leu Tyr Phe Ser Val Tyr Leu Thr Ser Arg Val Arg Ser Ser Glu  
 260 265 270  
 Asn Gly Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val His Phe Ser Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Leu Met Asp Arg Lys Asn Phe Leu Pro Ile Tyr Val Tyr Leu  
 290 295 300  
 Arg Leu Val Phe Thr Arg Phe Thr Thr Thr Phe Leu Glu Leu Asp Asp  
 305 310 315 320  
 Leu Val His Ser Val Gly Ser Ile Val Pro Leu Gly Val Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Leu Ile Trp Gly Ser Ser Ser Leu Thr Arg Ser Ser Val Ser Tyr Ile  
 340 345 350  
 Gly Leu Glu Asp Tyr Met Lys Gly Thr Leu Leu Pro Tyr Leu Ile Asp  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Gly His Val Leu His Lys Asn His  
 370 375 380  
 Gly Ile Cys Thr Arg Lys Asn Thr Asp Thr Asn Thr Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asp Ala Thr Asp Phe Asn Phe Glu Leu Glu Glu Asp Gly Lys Phe Val  
 405 410 415 420  
 Val His Gly Lys Pro Ser Ser Glu Asp Leu His Glu Phe Ser Lys Asp  
 425 430 435 440  
 Phe His His Ser Cys Tyr Ser Asn Val Ala Cys Lys Asn Arg Leu Asp  
 445 450 455 460  
 Val His Asn Val Arg Ser Val Asn Val Cys Thr Ala Asn Asn Ile Cys  
 465 470 475 480  
 Leu Asn Ala Val Ser Asn Phe Trp Ser Leu Asp Asp Asn Asp His Pro  
 485 490 495 500  
 Pro Ile Thr Asp Asp Thr Ser Glu Asn His Asp Ser Ile Ser Asp Ile  
 505 510 515 520  
 Thr Ser Ser Ala Pro Pro Ser Ser His Ile Leu Pro Lys Asp Leu Ser  
 525 530 535 540  
 Trp Cys Leu Phe Ser Ser Ser Ile Thr Ser His His Thr Lys Tyr Ser  
 545 550 555 560  
 Leu

- <210> 31
- <211> 512
- 5 <212> PRT
- <213> Rattus norvegicus
  
- <220>
- <223> Prekürsör sıçan PH20'si
- 10 <400> 31

Met 1 Gly 2 Glu 3 Ser 4 Glu 5 Phe 6 Lys 7 Pro 8 Leu 9 Phe 10 Trp 11 Arg 12 Ser 13 Phe 14 Ala 15 Glu  
Ser 16 Gly 17 Thr 18 Ala 19 Ser 20 Glu 21 Thr 22 Val 23 Leu 24 Ile 25 Phe 26 Leu 27 Phe 28 Ile 29 Phe 30 Tyr  
Ser 31 Leu 32 Phe 33 Val 34 Asp 35 Tyr 36 Arg 37 Ala 38 Thr 39 Pro 40 Val 41 Leu 42 Ser 43 Asp 44 Thr 45 Thr  
Phe 46 Val 47 Pro 48 Val 49 Thr 50 Asn 51 Val 52 Pro 53 Thr 54 Glu 55 Ala 56 Cys 57 Val 58 His 59 Asn 60 Val  
Thr 61 Glu 62 Pro 63 Thr 64 Asn 65 Tyr 66 Ser 67 Phe 68 Tyr 69 Ser 70 Leu 71 Phe 72 Gly 73 Ser 74 Pro 75 Arg  
Lys 76 Thr 77 Ala 78 His 79 Gly 80 Glu 81 Ser 82 Val 83 Thr 84 Leu 85 Glu 86 Tyr 87 Val 88 Asp 89 Asn 90 Leu  
Gly 91 Asn 92 Tyr 93 Pro 94 His 95 Ile 96 Arg 97 Ala 98 Glu 99 Glu 100 Thr 101 Glu 102 His 103 His 104 Gly 105 Gly  
106 Pro 107 Glu 108 Lys 109 Gly 110 Asp 111 Leu 112 Thr 113 His 114 Ser 115 Val 116 Lys 117 Ala 118 Tyr 119 His  
120 Asp 121 Val 122 Glu 123 Arg 124 Tyr 125 Ile 126 Ser 127 His 128 Thr 129 Asp 130 Lys 131 Ser 132 Gly 133 Ile 134 Ile  
135 Asp 136 Lys 137 Glu 138 Glu 139 Trp 140 Arg 141 Thr 142 Ser 143 Met 144 Thr 145 Ser 146 Arg 147 Asp 148 Lys 149 Leu 150 Gly 151 Lys 152 His  
153 Ile 154 Arg 155 Pro 156 Lys 157 His 158 Leu 159 Trp 160 Gly 161 Glu 162 Tyr 163 Leu 164 Phe 165 Pro 166 Asp 167 Lys 168 Tyr  
169 Asn 170 Asn 171 Lys 172 Phe 173 Glu 174 Val 175 Asn 176 Asn 177 Tyr 178 Asp 179 Lys 180 Glu 181 Tyr 182 Phe 183 Asp 184 Val  
185 Glu 186 Lys 187 Lys 188 Pro 189 Asn 190 Asp 191 Leu 192 Asp 193 Trp 194 Leu 195 Thr 196 Lys 197 Glu 198 Ser 199 Thr  
200 Gly 201 Leu 202 Tyr 203 Pro 204 Ser 205 Val 206 Tyr 207 Leu 208 Lys 209 Lys 210 Asp 211 Leu 212 Lys 213 Ser 214 Ser 215 Arg  
216 Lys 217 Ala 218 Thr 219 Ser 220 Tyr 221 Val 222 Arg 223 Tyr 224 Arg 225 Val 226 Leu 227 Glu 228 Tyr 229 Leu 230 Leu 231 Glu 232 Asp 233  
234 Ser 235 Lys 236 Val 237 Ser 238 Asn 239 Glu 240 Ser 241 Asn 242 Thr 243 Val 244 Phe 245 Ile 246 Phe 247 Val 248 Tyr 249 His  
250 Arg 251 Leu 252 Val 253 Phe 254 Thr 255 Asp 256 His 257 Val 258 Asn 259 Glu 260 Tyr 261 Leu 262 Leu 263 Glu 264 Asp 265  
266 Leu 267 Val 268 Asn 269 Thr 270 Ile 271 Gly 272 Thr 273 Val 274 Ala 275 Glu 276 Arg 277 Ser 278 Ala 279 Gly 280 Tyr 281 Leu  
282 Ile 283 Ile 284 Trp 285 Asp 286 Ala 287 Met 288 Ser 289 Leu 290 Ala 291 Glu 292 Arg 293 Ser 294 Ala 295 Gly 296 Tyr 297 Leu  
298 Ile 299 Leu 300 Arg 301 His 302 Tyr 303 Met 304 Lys 305 Thr 306 Thr 307 Leu 308 Asn 309 Thr 310 Tyr 311 His 312 Val 313 Asn  
314 Val 315 Thr 316 Leu 317 Arg 318 Ala 319 Lys 320 Met 321 Cys 322 Ser 323 Glu 324 Thr 325 Leu 326 Tyr 327 Lys 328 Phe 329 Lys  
330 Gly 331 Met 332 Cys 333 Ser 334 Arg 335 Tyr 336 Thr 337 Glu 338 Ser 339 Ser 340 Asp 341 Ala 342 Tyr 343 Leu 344 His 345 Leu  
346 Asp 347 pro 348 Ser 349 Ser 350 Phe 351 Ser 352 His 353 Asn 354 Val 355 Thr 356 Ser 357 Ala 358 Gly 359 Lys 360 Tyr 361 His  
362 Val 363 Leu 364 Gly 365 Lys 366 Thr 367 Leu 368 Val 369 Lys 370 Asp 371 Leu 372 Ser 373 Tyr 374 Phe 375 Ser 376 His 377 His  
378 Phe 379 Lys 380 Cys 381 Ser 382 Cys 383 Phe 384 Ser 385 Lys 386 Met 387 Thr 388 Cys 389 Glu 390 Glu 391 Thr 392 Ser 393 Asn  
394 Met 395 Arg 396 Ser 397 His 398 Glu 399 Asp 400 Val 401 Asn 402 Val 403 Cys 404 Met 405 Gly 406 Asp 407 Asn 408 Val 409 Cys  
410 Ile 411 Lys 412 Ala 413 Thr 414 Leu 415 Gly 416 Pro 417 Asn 418 Ser 419 Ala 420 Phe 421 His 422 Leu 423 Leu 424 Pro 425 Gly  
426 Lys 427 Lys 428 Leu 429 Leu 430 Ser 431 Thr 432 Thr 433 Leu 434 Ala 435 His 436 Ile 437 Leu 438 His 439 His 440 Leu  
441 Pro 442 His 443 Asp 444 Ile 445 Phe 446 Val 447 Phe 448 Pro 449 Trp 450 Lys 451 Met 452 Leu 453 Val 454 Ser 455 Thr 456 Pro  
500 505 510

- 5 <210> 32  
<211> 512  
<212> PRT  
<213> Mus musculus



<220>

<223> Prekursör fare PH20'si

<400> 32

Met Gly Glu Leu Arg Phe Lys His Leu Phe Trp Gly Ser Phe Val Glu  
 1  
 Ser Gly Gly Thr Phe Glu Thr Val Leu Ile Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20  
 Ser Leu Thr Val Asp Tyr Arg Ala Ala Phe Leu Leu Ser Asn Thr Thr  
 35  
 Phe Leu Trp Ile Trp Asn Val Phe Thr Glu Arg Cys Val Gly Asn Val  
 50  
 Asn Asp Phe Ile Asp Leu Ser Phe Phe Ser Leu Ile Gly Ser Phe Arg  
 65  
 Lys Thr Ala Thr Gly Glu Phe Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80  
 Gly Leu Tyr Phe His Leu Arg Ala Asn Glu Ala Glu His Tyr Gly Gly  
 100  
 Leu Phe Glu Arg Gly Asp Tyr Glu Ala His Leu Arg Lys Ala Lys Thr  
 115  
 Arg Ile Glu His Tyr Trp Phe Arg Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile  
 130  
 Arg Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Phe Lys  
 145  
 Arg Asn Tyr Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Glu Ser Thr Asn Phe  
 160  
 Gly Leu Ser Ile Thr Glu Ala His Glu Lys Ala Ile Glu Glu Phe Glu  
 180  
 Glu Ala Gly Arg Lys Phe Met Glu Gly Thr Leu His Leu Gly Lys Phe  
 195  
 Leu Arg Phe Asn Glu Thr Arg Lys Tyr Tyr Leu Phe Phe Asn Lys Tyr  
 210  
 Arg Asn Lys Phe Glu Asp Phe Lys Tyr Asp Gly Glu Cys Ser Ala Val  
 225  
 Met Lys Lys Arg Asn Asp Asn Leu Lys Trp Leu Trp Lys Ala Ser Thr  
 240  
 Gly Leu Tyr Phe Ser Val Tyr Leu Lys Lys Asp Leu Lys Ser Asn Arg  
 255  
 Ser Ala Thr Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Glu Phe Ile Arg Val  
 270  
 Ser Lys Val Gly Asn Ala Ser Asn Leu Val Phe Ile Phe Val Tyr Ile  
 285  
 Arg Leu Val Phe Thr Asp Arg Ser Ser Glu Tyr Leu Asn Glu Asp Asp  
 300  
 Leu Val Asn Thr Thr Gly Glu Ile Val Ala Ser Gly Ser Ser Gly Ile  
 315  
 Ile Ile Arg Asp Ala Met Ser Leu Ala Glu Arg Ala Ala Gly Cys Ser  
 330  
 Leu Leu His Lys Tyr Met Glu Thr Thr Leu Asn Arg Tyr Ile Val Asn  
 345  
 Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Thr Leu Lys Asn Glu Lys  
 360  
 Gly Met Cys Ser Arg Arg Lys Glu Ser Ser Asp Val Tyr Leu His Leu  
 375  
 Asn Phe Ser His Phe Asp Ile Met Leu Thr Glu Thr Gly Lys Tyr Glu  
 390  
 Val Leu Gly Asn Pro Arg Val Gly Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His  
 405  
 Phe Lys Cys Ser Cys Phe Ser Arg Met Thr Cys Lys Glu Thr Ser Asp  
 420  
 Val Lys Asn Val Glu Arg Val Asn Val Cys Val Gly Asp Asn Val Cys  
 435  
 Leu Lys Ala Lys Val Glu Phe Asn Thr Ala Phe Tyr Leu Leu Thr Gly  
 450  
 Lys Ser Leu Leu Phe Met Thr Thr Leu Gly His Val Leu Tyr His Leu  
 465  
 Pro Glu Asp Ile Phe Val Phe Phe Arg Lys Thr Leu Val Ser Thr Pro  
 480  
 500

5

<210> 33  
 <211> 807  
 <212> PRT  
 <213> Staphylococcus aureus

5

<220>  
 <223> hiyalüronidaz

<400> 33

```

Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
1 10 15
Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val
20 25 30
Arg Lys His Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Phe Asp
35 40 45
Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Thr Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
50 55 60
Lys Tyr Asn Glu Asn Ser Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asn 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 Phe Ala Glu Ala Met
115 120 125
Arg Asn Thr Lys Thr Thr Leu Asn Thr Asp Glu Ser Lys Lys Lys Val
130 135 140
Lys Asn Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asn Ala Tyr Gly Lys His Pro
145 150 155 160
Asn Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly
165 170 175
Lys Asn Thr Asp Leu Asn Thr Thr Asn Tyr Glu Phe Gly Thr Pro Lys
180 185 190
Ser Leu Thr Asn Thr Ser Ile Leu Leu Asn Asp Glu Phe Ser Asn Glu
195 200 205
Glu Lys Lys Lys Phe Thr Ala Phe Ile Lys Thr Phe Ala Phe Asp Ser
210 215 220 225
Arg 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
260 265 270 275
Phe Thr Tyr Val Gln Asp Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe
280 285 290
Tyr Lys Asn Gly Ser Tyr Phe Asn His Glu Asn Val Thr Tyr Thr Gly
295 300
    
```

10

131 Phe Tyr Gly Val Val Leu Asp Thr Gly Ile Ser His Met Met Thr Met  
 136 Ile Tyr Glu Thr Thr Ser Asp Asp Tyr Thr Glu Asp Asp Thr Thr Leu  
 141 Tyr Ser Thr Ile Asp Asp Gly Phe Met Phe Thr Ile Tyr Tyr Gly Val  
 146 Met Met Asp Ser Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg His Asp His Thr  
 151 Ser His Ser Ala Ser Ala His Val Met Lys Ser Leu Ser Arg Leu Ser  
 156 Asp Ala Met Asp Asp Ser His Lys Ala Lys Lys Lys Lys Ile Val Lys  
 161 Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Tyr Glu Asn Asp Tyr Leu Asn  
 166 Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Tyr Met Tyr Ser Thr Met Thr Asp Ser Ser  
 171 Ile Ser Tyr Asp Lys Leu Thr Thr Thr Thr Tyr Tyr Asp Asp Met  
 176 Asp Arg Val Thr Tyr His Asp Lys Asp Leu Asp Phe Ala His Gly Leu  
 181 Ser Met Thr Ser Lys Asp Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asp Gly Val  
 186 Asp Ser Tyr Gly Trp His His Gly Ala Gly Met Ser Tyr Ser Tyr Asp  
 191 Ser Asp Val Tyr Thr Thr His Ser Ser Phe Thr Val Thr Asn Asp Met  
 196 Tyr Asp Thr Ser Gly Thr Thr Thr Thr Asp Asp Glu Ile Thr Tyr Asp  
 201 Thr Asp Asp Tyr Lys Ser Ser Tyr Thr Phe Val Gly Gly Thr Tyr Val  
 206 Asp Asp Glu His Ala Asp Thr Thr Gly Met Asp Phe Glu Asn His Asp Lys  
 211 Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Ser Asp Asp Lys Ile Val  
 216 Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Ile Val  
 221 Thr Thr Ile Ser Asp Arg Lys Ala Asp Gly Lys Phe Leu Tyr Thr Asp  
 226 Asp Lys Glu Thr Thr Asp Ser Ser Asp Asp Glu Glu Asp Asn Ser Val His  
 231 Leu His Ser Thr Asp His Lys Lys Lys Lys Asp Ile Gly Lys His His Leu Asp  
 236 Tyr Ser Tyr Thr Thr Val Tyr Lys Thr Ser Lys Thr Ser Phe Gly Tyr Thr  
 241 Glu Ile Asp Tyr Ser His Ser Asp Asp Thr Glu Tyr Phe Asp Glu Tyr Tyr  
 246 Glu Val Thr Thr Lys His Ser Asp Ser Asp Asp Asp Lys Tyr Gly Tyr Val  
 251 Leu Tyr Ser Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Tyr Asp His  
 256 Val His Val Val Lys Thr Thr Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asp  
 261 Glu Ser Val Trp Ala Gly Val Asp Lys Ser Asp Ser Thr Glu Thr Phe  
 266 Asp Ile Asn Asp Thr Leu Val Glu Thr Val Tyr Ala Tyr Gly Met Phe Tyr  
 271 Thr Tyr Tyr Tyr Asp Asp Ser Thr Tyr Glu Cys Ser Thr Tyr Asn Thr  
 276 Glu Ser Thr Asp Ser Ala Ser Asp Thr Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr  
 281 Gly Tyr Ser Ile Thr Asp Asp Lys Asp Thr Ser Thr Ser Asp His Ser Gly  
 286 Val His Thr His Leu Thr Lys

- <210> 34
- 5 <211> 371
- <212> PRT
- <213> Streptococcus pyogenes bakteriyofajı H4489A

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; hiyalüronidaz

&lt;400&gt; 34

Met Thr Glu Asn Ile Pro Leu Arg Val Glu Phe Lys Arg Met Ser Ala  
 1 5 10  
 Arg Glu Trp Ala Arg Ser Arg Val Ile Leu Leu Ser Gly Glu Ile Gly  
 20 25 30  
 Phe Glu Thr Asp Thr Gly Phe Ala Lys Phe Gly Asp Gly Glu 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 Glu Gly Lys Thr Gly Gly Thr Gly Phe Arg Gly Phe Ala  
 65 70 75 80  
 Gly Lys Phe Gly Thr Thr Arg Tyr Asp Glu Leu Ser Asn Lys Phe Asp  
 85 90 95  
 Met Gly Ala Phe Ala Gln Lys Glu Glu Thr Asn Ser Lys Ile Thr Lys  
 100 105 110  
 Met Glu Ser Ser Lys Ala Asp Lys Ser Ala Val Tyr Ser Lys Ala Gln  
 115 120 125  
 Ser Lys Ile Glu Leu Arg Lys Lys Leu Ser Leu Thr Gly Gly Ile Val  
 130 135 140  
 Thr Gly Glu Leu Gln Phe Lys Thr Asn Lys Ser Gly Ile Lys Pro Ser  
 145 150 155  
 Ser Ser Val Gly Gly Ala Thr Asn Ile Asp Met Ser Lys Ser Gln Gly  
 160 165 170  
 Ala Ala Met Val Met Tyr Thr Asn Lys Asp Thr Thr Asn Gly Pro Leu  
 175 180 185  
 Met Ile Leu Arg Ser Asn Lys Asp Thr Phe Asn Glu Ser Ala Gln Phe  
 190 195 200  
 Val Asp Tyr Ser Gly Lys Thr Asn Ala Val Asn Ile Val Met Arg Gln  
 205 210 215 220  
 Pro Ser Ala Pro Ser Phe Ser Ser Ala Val Asn Ile Thr Ser Ala Asp  
 225 230 235 240  
 Glu Gly Gly Ser Ala Met Gln Ile Arg Gly Val Gln Lys Ala Ser Gly  
 245 250 255  
 Thr Leu Lys Ile Thr His Glu Asp Pro Asp Val Glu Ala Lys Tyr Asp  
 260 265 270  
 Glu Asn Ala Ala Ala Leu Ser Ile Asn Ile Val Lys Lys Gln Tyr Gly  
 275 280 285  
 Gly Lys Gly Thr Ala Ala Gln Gly Ile Tyr Ile Asn Ser Thr Ser Gly  
 290 295 300  
 Phe 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 Val Ser Gly Phe Asn Ser Thr Val  
 325 330 335  
 Ala Gly Asn Leu Thr Val Lys Asp Thr Thr Ser Gly Lys His Ala Ala  
 340 345 350  
 Phe Lys Asp Tyr Val Asp Gln Lys Ile Ala Gln Ser Lys Lys Ser Ile  
 355 360 365  
 Ser Lys Lys  
 370

5

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 1628

&lt;212&gt; PRT

10 &lt;213&gt; Clostridium perfringens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; hiyalüronidaz

15 &lt;400&gt; 35

Met	Asn	Lys	Asn	Ile	Arg	Lys	Ile	Ile	Thr	Ser	Thr	Val	Leu	Ala	Asn	
1				5					10					15		
Met	Thr	Ile	Ser	Val	Leu	Phe	Ser	Asn	Leu	Val	Val	Phe	Ala	Thr	Asp	
			20					25					30			
Gly	Ile	Thr	Glu	Asp	Phe	Thr	Glu	Ile	Tyr	Pro	Lys	Thr	Glu	Glu	Ile	
			35				40					45				
Ser	Tyr	Ser	Gly	Gly	Glu	Phe	Glu	Ile	Ser	Asp	Phe	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	Asp	Leu	Glu	Ala	Thr	Val	Ser	Asp	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	Phe	Ile	Asp	Phe	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	Glu	Leu	Glu	Glu	Gly	Asn	Lys	Ile	Glu	Ser	Phe	
				165					170						175	
Arg	Ala	Asp	Asp	Tyr	Ala	Ser	Val	Ala	Ile	Arg	Gly	Phe	Ile	Glu	Gly	
			180						185					190		
Tyr	Tyr	Gly	Asn	Phe	Trp	Ser	Asn	Glu	Asp	Arg	Ala	Glu	Leu	Met	Lys	
			195				200						205			
Phe	Gly	Gly	Asp	Tyr	Lys	Leu	Asn	Glu	Tyr	Val	Phe	Ala	Phe	Lys	Asp	
	210					215					220					
Asp	Phe	Tyr	His	Asn	Ser	Lys	Trp	Arg	Asp	Leu	Tyr	Phe	Glu	Glu	Lys	
	225					230				235					240	
Leu	Ser	Glu	Ile	Lys	Lys	Leu	Ala	Glu	Val	Gly	Asn	Glu	Thr	Lys	Asn	
				245					250						255	
Arg	Tyr	Val	Tyr	Ala	Leu	His	Phe	Phe	Met	Asn	Asn	Phe	Val	Arg	Phe	
			260					265					270			
Asp	Thr	Glu	Glu	Asn	Tyr	Ser	Asn	Asp	Leu	Gly	Val	Ile	Lys	Ala	Lys	
			275				280						285			
Phe	Thr	Glu	Leu	Leu	Glu	Asn	Asp	Val	Arg	Glu	Phe	Ala	Ile	Leu	Asn	
	290					295					300					
Asp	Asp	Ala	Ser	Ala	Pro	Ala	Glu	Gly	Ala	Ser	Met	Tyr	Val	Lys	Leu	
	305				310						315				320	
Leu	Thr	Asp	Leu	Thr	Arg	Trp	Leu	Glu	Glu	Glu	Ser	Ser	Thr	Tyr	Phe	
				325											330	
Asp	Leu	Lys	Thr	Asp	Leu	Met	Phe	Cys	Phe	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Asn	
			340					345						350		
Gly	Ser	Ser	Ala	Glu	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	Phe	Val	Asp	Glu	Asn	
						375							380			
Phe	Ala	Asn	Asn	Phe	Met	Asn	Asn	Ile	Ser	Thr	Phe	Phe	Gly	His	Phe	Gly
				385						395						400
Arg	Ala	Asn	Phe	Phe	Arg	Ile	Asn	Trp	Pro	Cys	Ser	Asp	Asn	Ser	Lys	
				405					410						415	
Glu	His	Leu	Ile	Met	Gly	Gly	Asn	Asp	Thr	Phe	Leu	His	Phe	Gly	Val	
			420						425					430		
Asp	Phe	Ser	Lys	Ile	Asp	Gly	Ile	Val	Leu	Asn	Phe	Met	Glu	Glu	Ala	

		435				440				445					
Glu	Ala	Arg	Tyr	Ser	Asp	Thr	Ala	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Thr	Asp	
450						455				460					
Trp	Trp	Arg	Arg	Lys	Pro	Pro	Asp	Glu	Asp	Trp	Asp	Asp	Ser	Pro	
461					470				475					481	
Lys	Tyr	Met	Asp	His	Trp	Ala	Pro	Glu	Trp	Asp	Ser	Ser	Leu	Ala	
			485					490						495	
Leu	Arg	Val	Leu	Ser	Lys	His	Met	Leu	Asp	Ala	Asp	Met	Asp	Gly	Asp
500								505						510	
Val	Arg	Pro	Leu	Pro	Leu	Ser	Val	Ala	Leu	Ala	Pro	Lys	Ser	Glu	Ala
515							520							525	
Pro	Lys	Val	Lys	Tyr	Asp	Gly	Pro	Asp	Ser	Leu	Lys	Glu	Asp	Ala	Leu
530					535									540	
Glu	Leu	Ala	Ala	Glu	His	Leu	Asn	Leu	Glu	Lys	Ala	Ala	Asp	Tyr	Tyr
545					550					555					560
Lys	Asn	Asn	Pro	Gly	Asn	Glu	Arg	Thr	Arg	Asp	Glu	Glu	His	Tyr	Trp
					565					570					575
Leu	Asn	Lys	Arg	Glu	Asp	Leu	Met	Asp	Ala	Ala	Glu	Gly	Tyr	Leu	Lys
					580					585					590
Ser	Ala	Glu	Ala	Glu	Glu	Glu	Gly	Asp	Asp	Glu	Asa	Ala	Thr	Ala	Asn
					595					600					
Lys	Ser	Glu	Ala	Glu	Gly	Ala	His	Glu	Lys	Ser	Lys	Thr	Tyr	Gly	Pro
610					615										
Asp	Lys	Val	Asp	His	His	Leu	Leu	Lys	Asa	Glu	Val	Gly	Val	Glu	His
621					625					630					635
Val	Pro	Pro	Trp	Lys	Ser	Met	Lys	Ala	Asp	Leu	Ser	Val	Val	His	Gly
					640					645					650
Ser	His	Val	Asp	Pro	Leu	Arg	Trp	Ala	Thr	Tyr	Trp	Pro	Ser	Asp	Asp
					650					655					660
Glu	Asp	Asp	Pro	Thr	Gly	Asp	Trp	Asp	Asp	Leu	Trp	Asp	Asp	Asp	Ala
					665					670					
Ser	Leu	Val	Leu	Val	Lys	Asn	Pro	Asp	Arg	Leu	Asp	Val	Gly	Leu	
					675					680					
Tyr	Val	Gly	Val	Lys	Lys	Asn	Pro	Glu	Thr	Leu	Asp	Asp	Val	His	
705					710					715					720
Pro	Leu	Met	Gly	Ala	Asn	Ser	Asn	Pro	Asp	Asp	Thr	Met	Glu	Lys	Ala
					725					730					735
Lys	His	Glu	Lys	His	Val	Asp	Gly	Arg	Leu	Trp	Leu	Asp	Leu	Glu	Glu
					740					745					750
Gly	Val	Glu	Tyr	Thr	Met	Pro	Pro	Asp	Thr	Lys	Val	Glu	Asp	Thr	Asp
					755					760					
Leu	Lys	Val	Arg	Gly	Val	Arg	Leu	Trp	Ala	Thr	Glu	Asp	Asp	Glu	Asp
					765					770					
Thr	Pro	Leu	Gly	Val	Arg	Asp	Trp	Asp	Val	Asp	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser
					775					780					785
Asp	Ser	Gly	Val	Pro	Thr	Asp	Pro	Ser	Leu	Leu	Arg	Pro	Glu	Ser	Pro
					800					805					810
Glu	Val	Tyr	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Asp	Leu	Leu	Asp	Gly	Asp	Asp	Asp
					815					820					
Thr	Gly	Val	Arg	Lys	Lys	Leu	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Ser	Leu	Ala	Gly
					825					830					
Glu	Pro	His	Gly	Leu	Asp	Leu	Gly	Lys	Glu	His	Lys	Leu	Arg	Gly	His
					835					840					
Arg	Pro	Val	His	Gly	Lys	Asn	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Arg	Lys	Trp	Asp
845					850					855					860
Lys	Pro	Lys	Leu	Glu	Lys	Ser	Leu	Asp	Asn	Glu	Ser	Trp	Thr	Thr	His
					865					870					875
Lys	Glu	Lys	Asp	Lys	His	Gly	Ala	Pro	Ala	Gly	Lys	Asp	Val	His	Glu
					880					885					
Glu	Ser	Pro	Glu	His	Pro	Glu	Ser	Ala	Lys	Trp	Leu	Asp	Leu	Thr	Asn
					890					895					
Met	Glu	Asn	Trp	Asn	Lys	Trp	Ser	Thr	Thr	Ser	Glu	Trp	Ala	His	His
900					905					910					

944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494	1495	1496	1497	1498	1499	1500
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

```

1445
Val Ser Glu Ala Ala Ser Glu Ala Asp Lys Asp Lys Ala Asp Tyr Thr
1440
Ser Asp Glu Ile Asp Glu Ile Val Ile Asp Leu Asp Ala Ser Ile Lys
1475
Ala Leu Val Lys Glu Thr Pro Glu Val Asp Lys Thr Asp Leu Gly Glu
1490
Met Ile Asp Glu Gly Lys Ser Leu Leu Asp Glu Ser Val Glu Gly Phe
1525
Asp Val Gly Glu Tyr His Lys Gly Ala Lys Asp Gly Leu Thr Val Glu
1535
Thr Asp Lys Ala Glu Glu Val Ser Asp Lys Glu Asp Ala Thr Glu Glu
1541
Ile Ile Asp Leu Ala Lys Thr Ser Leu Glu Gly Asp Ile Ala Asp Phe
1560
Asp Ser Leu Leu Ile Glu Glu Ser Thr Gly Asp Phe Asp Gly Asp Gly
1570
Lys Ile Asp Ile Gly Asp Leu Ala Met Val Ser Lys Asp Ile Gly Ser
1585
Ser Ser Asp Thr Ser Leu Asp Leu Asp Lys Asp Gly Ser Ile Asp Glu
1615
Lys Glu Ile Ser Phe Ile Asp His Arg Ile Ser Asp
1620

```

<210> 36  
 <211> 435  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Hiyalüronidaz-1 [Prekürsör]

```

10
<400> 36
Met Ala Ala His Leu Leu Pro Ile Cys Ala Leu Phe Leu Thr Leu Leu
10
Asp Met Ala Glu Gly Phe Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Arg Pro Phe
20
Thr Thr Val Trp Asp Ala Asn Thr Glu Trp Cys Leu Ser Asp His Gly
35
Val Asp Val Asp Val Ser Val Phe Asp Val Val Ala Asn Phe Gly Glu
41
Thr Phe Arg Gly Pro Asp Met Thr Ile Phe Tyr Ser Ser Glu Leu Gly
65
Asp Lys Ser Tyr Tyr Thr Pro Thr Gly Glu Pro Val Phe Gly Gly Leu
81
Pro Glu Asp Ala Ser Leu Ile Ala His Leu Ala Arg His Phe Glu Asp
100
Ile Leu Ala Ala Ile Pro Ala Pro Asp Phe Ser Gly Leu Ala Val Ile
115
Asp Arg Glu Ala Trp Arg Pro Arg Trp Ala Phe Asp Arg Asp Thr Lys
130
Asp Ile Tyr Arg His Arg Ser Arg Ala Leu Val Glu Ala Glu His Thr
145
Asp Arg Ser Ala Trp Glu Val Glu Ala Val Ala Glu Asp Glu Thr Glu
160
Gly Ala Ala Arg Ala Trp Met Ala Gly Thr Ser Glu Ser Gly Arg Ala
180
Met Arg Pro Arg Gly Leu Thr Gly Phe Tyr Gly Phe Pro Asp Cys Tyr
195
Asp Tyr Asp Phe Leu Ser Pro Asp Tyr Thr Gly Glu Cys Pro Ser Gly
210
Ile Arg Ala Glu Asp Asp Glu Leu Gly Thr Leu Thr Gly Glu Ser Arg

```



225  
 Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Met Ser Ala Val Leu Ser Gly Thr Gly  
 245  
 Lys Ser Gln Met Tyr Val Ser His Arg Val Ala Gln Ala Phe Arg Val  
 260  
 Ala Val Ala Ala Gly Asp Pro Asp Leu Pro Val Leu Pro Tyr Val Gln  
 275  
 Leu Phe Tyr Asp Thr Thr Asn His Pro Leu Pro Leu Asp Gln Leu Gln  
 290  
 His Ser Leu Gly Gln Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu  
 305  
 Arg Val Ser Trp Gln Asn Ser Arg Thr Lys Gln Ser Lys Gln Ala Ile  
 320  
 Lys Gln Tyr Met Asp Thr Ser Leu Gly Ser Phe Ile Leu Asn Val Thr  
 340  
 Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg  
 355  
 Cys Val Arg Arg Thr Ser His Phe Lys Ala Leu Leu Leu Leu Asn Phe  
 370  
 Ala Ser Phe Ser Ile Gln Leu Thr Pro Gly Gly Gly Phe Leu Ser Leu  
 385  
 Arg Gly Ala Leu Ser Leu Ser Asp Gln Ala Gln Met Ala Val Gln Phe  
 400  
 Lys Lys Arg Cys Tyr Pro Gly Arg His Ala Pro Arg Cys Gln Arg Lys  
 420  
 Ser Met Arg  
 435

<210> 37

<211> 473

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Hiyaluronidaz-2 [Prekursör]

10

<400> 37

Met Arg Ala Gly Pro Gly Phe Thr Val Thr Leu Ala Leu Val Leu Ala  
 5  
 Val Ala Arg Ala Met Gln Asn Lys Ser Thr Ala Pro Pro Ile Phe Thr  
 20  
 Gly Arg Pro Phe Val Val Ala Arg Asp Val Pro Thr Gln Asp Cys Gly  
 35  
 Pro Arg Leu Lys Val Pro Leu Asn Leu Asn Ala Phe Asp Val Gln Ala  
 50  
 Ser Pro Asn Gln Gly Phe Val Asn Gln Asp Ile Thr Ile Phe Tyr Arg  
 65  
 Asp Arg Leu Gly Leu Tyr Pro Arg Thr Asp Ser Ala Gly Arg Ser Val  
 80  
 His Gly Gly Val Trp Gln Asn Val Phe Leu Trp Ala His Arg Lys Met  
 100  
 Leu Gln Lys Arg Val Gln His Tyr Ile Arg Thr Gln Gln Ser Ala Gly  
 115  
 Leu Ala Val Ile Asp Trp Gln Asp Trp Arg Pro Val Trp Val Arg Asp  
 130  
 Tyr Gln Asp Lys Asp Val Tyr Arg Arg Leu Ser Arg Ser Leu Val Ala  
 145  
 Ser Arg Arg Pro Asp Arg Pro Pro Asp Arg Leu Val Lys Gln Ala Gln  
 160  
 Lys Gln Phe Gln Phe Ala Ala Gln Gln Phe Met Leu Gln Thr Leu Arg  
 180  
 Tyr Val Lys Ala Val Arg Pro Arg His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe  
 190

```

      195                200                205
Pro Asp Cys Tyr Asp His Asp Tyr Val Glu Asp Asp Glu Ser Tyr Thr
210 215 220
Gly Arg Cys Pro Asp Val Glu Val Ala Arg Asp Asp Glu 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 Glu His Ala Asn His Ala Leu
275 280 285 290
Pro Val Tyr Val Phe Thr Arg Ser Thr Tyr Ser Arg Arg Leu Thr Gly
295 300 305
Leu Ser Glu Met Asp Leu Ile Ser Thr Ile Gly Glu Ser Ala Ala Leu
310 315 320 325
Gly Ala Ala Gly Val Ile Leu Trp Gly Asp Ala Gly Tyr Thr Ser
330 335 340
Pro Glu Ser Cys Cys Tyr Leu Tyr Asp Tyr Ser Thr Arg Leu Leu Val
345 350
Pro Cys Val Val Asn Val Ser Arg Ala Thr Cys Tyr Cys Ser Arg Ala
355 360
Gln Cys His Gly His Gly Arg Cys Val Arg Arg Asn Trp Ser Ala Ser
365 370 375 380
Pro Phe Leu His Ser Ser Ser Phe Arg Leu Val Phe Gly His
385 390 395 400
Ala Pro Gly Glu Pro Glu Leu Arg Ser Val Gly Glu Leu Ser Trp Ala
405 410 415
Asp Le Asp His Ser Glu Ser His Ser Arg Cys Glu Cys Tyr Leu Gly
420 425 430
Thr Ser Gly Glu Glu Cys Glu Thr Asp His Arg Ser Ala Ala Gly Gly
435 440 445
Ala Ser Gly Ala Trp Ala Gly Ser His Leu Thr Ser Leu Leu Ala Leu
450 455 460
Ala Ala Leu Ala Phe Thr Thr Thr Leu
465 470

```

5 <210> 38  
 <211> 417  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Hiyaluronidaz-3 [Prekursör]

10 <400> 38

```

Met Thr Thr Glu Leu Gly Phe Ala Leu Val Leu Gly Val Ala Leu Cys
5 10 15
Leu Gly Cys Gly Glu Pro Leu Thr Glu 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 Phe Leu Asn Ala Leu Gly Ile Leu Ala Asn Arg Gly Glu His
50 55 60
Phe His Gly Glu Asn Met Thr Ile Phe Tyr Lys Asn Glu Leu Gly Leu
65 70 75 80
Tyr Phe 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 Glu Ile
100 105 110
His His Ser Leu Arg Pro Gly Phe Ala Gly Pro Ala Val Leu Asp Trp
115 120 125
Gln Glu Trp Cys Pro Leu Trp Ala Gly Asn Trp Gly Arg Arg Ala

```

```

130          135          140
Tyr His Ala Ala Ser Asp Ala Thr Ala Glu Gln Val Phe Ser Asp Leu
145          150          155
Arg Phe Glu Glu Gln Leu Tyr Lys Ala Tyr Thr Gly Phe Glu Glu Ala
160          165          170
Ala Arg Ala Leu Met Gln Asp Thr Leu Arg Val Ala Ser Ala Leu Arg
175          180          185
Phe His Gly Leu Thr Gly Phe Tyr His Tyr Phe Ala Cys Gly Asn Gly
190          195          200
Arg His Ser Met Ala Ser Asn Tyr Thr Gly Arg Cys His Ala Ala Thr
205          210          215
Leu Ala Arg Asn Thr Gln Leu His Trp Leu Trp Ala Ala Ser Ser Ala
220          225          230
Leu Phe Ser Ser Ile Tyr Leu Phe Ser Arg Leu Phe Phe Ala His His
235          240          245
Gln Ala Phe Val Arg His Arg Leu Gln Glu Ala Phe Arg Val Ala Leu
250          255          260
Val Gly His Arg His Pro Leu Phe Val Leu Ala Tyr Val Arg Leu Thr
265          270          275
His Arg Arg Ser Gly Arg Phe Leu Ser Gln Asp Asp Ser Val Gln Ser
280          285          290
Phe Gly Val Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Val Val Leu Trp Gly
295          300          305
Arg Leu Ser Leu Ser Ser Ser Glu Glu Glu Cys Trp His Leu His Asp
310          315          320
Tyr Leu Val Asp Thr Leu Gly Phe Tyr Val Phe Asn Val Thr Arg Ala
325          330          335
Ala Met Ala Cys Ser His Ser Arg Cys His Gly His Gly Arg Cys Ala
340          345          350
Arg Arg Asp Phe Gly Gln Met Glu Ala Phe Leu His Leu Trp Phe Asp
355          360          365
Gly Ser Leu Gly Asp Trp Lys Ser Phe Ser Cys His Cys Tyr Trp Gly
370          375          380
Arg Ala Gly Ser Thr Cys Gln Glu Ser Arg Pro Gly Phe Lys Glu Ala
385          390          395
Val          400          405          410

```

5 <210> 39  
 <211> 481  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> Hiyalüronidaz-4

```

<400> 39
Met Lys Val Leu Ser Gln Gly Glu Leu Lys Leu Tyr Val Val Glu Pro
5          10          15
Val His Leu Thr Ser Arg Leu Leu Ile Phe Phe Ile Leu Lys Ser Thr
20          25          30
Ser Cys Leu Lys Pro Ala Arg Leu Pro Ile Tyr Glu Arg Lys Pro Phe
35          40          45
Ile Ala Ala Trp Asn Ala Phe Thr Asp Gln Cys Leu Ile Lys Tyr Asn
50          55          60
Leu Arg Leu Asn Leu Lys Met Phe Ser Val Ile Gly Ser Phe Leu Ala
65          70          75
Lys Ala Arg Gly Gln Ser Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu Gly
80          85          90
Tyr Tyr Phe Trp Tyr Thr Ser Glu Gly Val Pro Ile Asn Gly Gly Leu
95          100          105          110
Pro Glu Asn Ile Ser Leu Gln Val His Leu Gln Tyr Ala Asp Glu Asp

```

```

118          119          124
Leu Asn Tyr Tyr Leu Pro Ala Glu Asn Phe Ser Gly Leu Ala Val Leu
130          135          140
Asn Thr Glu Tyr Trp Arg Pro Glu Trp Ala Arg Phe Thr Asp Ser Lys
145          150          155
Asn Val Tyr Arg Gln Lys Ser Arg Lys Leu Ile Ser Asp Met Gly Lys
155          160          165
Asn Val Ser Ala Thr Asp Leu Glu Tyr Ser Ala Lys Val Thr Thr Glu
165          170          175
Gln Ser Ala Lys Ala Phe Ser Lys Glu Thr Ile Lys Leu Gly Ile Lys
180          185          190
Ser Arg Thr Lys Gly Ser Trp Gly Tyr Tyr Leu Lys Leu Asp Lys His
190          195          200
Asn Lys Asn Val Tyr Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Ser Cys Pro Gln Asp
205          210          215
Gln Val Leu Arg Asn Asn Gln Leu Ser Trp Leu Arg Asn Ser Ser Ala
215          220          225
Ala Leu Tyr Ser Ser Ile Gly Val Trp Lys Ser Ser Gly Asp Ser Gln
225          230          235
Asn Ile Leu Arg Phe Ser Lys Phe Arg Val His Ala Ser Met Arg Ile
235          240          245
Ser Thr Met Thr Ser His Arg Tyr Ala Leu Pro Val Phe Val Tyr Thr
245          250          255
Arg Leu Gly Tyr Arg Arg Gln Ser Leu Phe Phe Ser Ser Lys Gln Asp
255          260          265
Leu Val Ser Thr Ile Gly Ser Ser Ala Ala Leu Gly Ala Ala Gly Ile
265          270          275
Val Ile Trp Gly Asp Met Asn Leu Thr Ala Ser Lys Ala Asn Cys Thr
275          280          285
Lys Val Lys Gln Phe Val Ser Ser Asp Leu Gly Ser Tyr Ile Ala Asn
285          290          295
Val Thr Arg Ala Ala Gln Val Cys Ser Leu His Leu Cys Arg Asp Asp
295          300          305
Gly Arg Cys Ile Arg Lys Met Thr Asn Ala Pro Ser Tyr Leu His Leu
305          310          315
Asn Pro Ala Ser Tyr Gln Leu Gln Ala Ser Gln Arg Gly Gln Pro Thr
315          320          325
Val Lys Gly Lys Ala Ser Asp Thr Asp Leu Ala Val Met Ala Asp Thr
325          330          335
Phe Ser Lys His Cys Tyr Ser Gly Tyr Gln Gly Asn Asp Cys Arg Gln
335          340          345
Ile Lys Thr Ala Asp Gly Lys Ser Gly Val Ser Pro Ser Pro Gly Ser
345          350          355
Leu Met Thr Leu Cys Leu Leu Leu Ala Ser Tyr Arg Ser Ile Gln
355          360          365
Leu

```

- <210> 40
- <211> 467
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-467

```

10 <400> 40
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1          10
Ser Ser Gly Val Ser Ser Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20          30
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro

```

```

      35              40              45
Phe Leu Thr Ala Trp Ser Ala Pro Ser Glu Phe Cys Met Gly Lys Phe
  80
Asn Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
  85
Phe Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu
  90
Gly Tyr Tyr Arg Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Trp Val Asn Gly
  100
Gly Ile Lys Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
  110
Lys Asn Ile Thr Thr Tyr Met Lys Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
  120
Ile Asn Arg Gln Gln Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asp Thr Lys Pro
  130
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Ser Val Gln Gln Gln Asn
  140
Val Gln Leu Ser Arg Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Thr
  150
Thr Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
  160
Ser Leu Arg Arg Asn His Ser Asp Gly Tyr Tyr Lys Phe Pro Asp Cys
  170
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
  180
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
  190
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Thr Tyr Leu Asn Thr Gln Ser Ser Pro Val
  200
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Arg Ile Arg Val
  210
Ser Lys Ile Arg Asp Ala Lys Ser Arg Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
  220
Arg Ile Val Thr Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
  230
Ser Val Tyr Thr Thr Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
  240
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
  250
Ser Leu Asp Asn Tyr Met Trp Thr Ile Leu Asn Pro Lys Ile Ile Asn
  260
Val Ser Leu Ala Ala Lys Ser Cys Ser Gln Val Leu Lys Gln Gln Gln
  270
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Lys Leu His Leu
  280
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Leu Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr
  290
Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys
  300
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Trp Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
  310
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Asn Asp Gly Val Cys
  320
Ile Asp Ala
  330

```

- <210> 41
- <211> 477
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-477
- 10 <400> 41

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 Ser Ser Gly Va Ser G n e Val Thr Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20 20 25
Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Ser Pro Val e Pro Asp Val Pro
35 35 40
Phe Leu Thr Ala Trp Asp A a Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
40 45
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
50 50
Le Asp Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
60 60
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asp Gly
70 70 75
Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp Ser Leu Asp Lys Ala Lys
80 80 85
Lys Asp Ile Thr the Tyr Ser Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
90 90 95
Le Asp Ser Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asp Ser Lys Trp
100 100 105
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asp
110 110 115
Val Ile Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Ser
120 120 125
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
130 130 135
Leu Leu Arg Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys
140 140 145
Tyr Asp His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Ser Asp
150 150 155
Val Ile Ile Lys Arg Asp Asp Arg Leu Ser Trp Leu Trp Asp Glu Ser
160 160 165
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu Ser Ser Phe Val
170 170 175
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
180 180 185
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Ser Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
190 190 195
Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
200 200 205
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
210 210 215
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
220 220 225
Leu Leu Asp Asp Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asp Pro Cys Ile Ile Asp
230 230 235
Val Trp Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu
240 240 245
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
250 250 255
Asp Pro Asp Asp Phe A a e Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
260 260 265
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys
270 270 275
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
280 280 285
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
290 290 295
Le Asp Ala the Leu Lys Pro Leu Met Glu Thr Glu Ile
300 300 305
465 470 475

```

- <210> 42
- 5 <211> 478
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 prekürsörü 1-478

<400> 42

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe
35
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg
65
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
80
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100
Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe
145
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn
160
Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Ser
180
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Leu Leu Arg Trp Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Leu Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
240
Ser Ala Leu Tyr Trp Ser Leu Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Leu Val
260
Leu Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
280
Ser Lys Ile Trp Asp Ala Lys Ser Leu Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile
340
Val Ile Arg Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
360
Leu Leu Asn Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
380
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu
400
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Arg Asn Ser Ser Asp Lys Leu His Leu
420
Asn Phe Asp Asn Phe Asn Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
440
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys
460
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
480
Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
500
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Ser Met Glu Thr Glu Glu Ser
520

```

5

<210> 43  
 <211> 479  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-479

<400> 43

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

5

<210> 44

<211> 480

<212> PRT

10



<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-480

5

<400> 44

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Leu Arg Leu Asn Phe Arg Ala Ser Ser Val Ile Pro Asn Val Ser
35
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Asp Ile Arg Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg
61
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Asn Leu
85
Gly Lys Tyr Arg Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ile Val Asn Gly
100
Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Thr Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Leu Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Arg Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Ser
145
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ile Glu Glu Asn
160
Val Phe Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe
180
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys
210
Lys Asn His Glu Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Ser Asn
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
240
Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
255
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val
270
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
285
Arg Ile Val Phe Thr Asp Leu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
300
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
315
Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
330
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Ile Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
345
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu
360
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu Val Leu
375
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
390
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys
405
Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
420
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Arg Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
435
Ile Arg Ala Ser Leu Lys Pro Arg Met Glu Thr Ser Glu Pro Glu Ile
450
465
480

```

10 <210> 45

<211> 481  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 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 Phe Cys
20      25      30
Lys Ser Ser Leu Asn Phe Arg Ala Ser Ser Val Ile Pro Asn Val Ser
35      40      45
Phe Leu Thr Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Ser Gly Lys Phe
50      55      60
Asp Glu Ser Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg
65      70      75
Le Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu
80      85      90      95
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100     105     110     115
Gly Ile Ser Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
120     125     130     135
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Ser Gly Met Ala Val
140     145     150     155
Le Asn Thr Glu Glu Tyr Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asn Thr Lys Ser
160     165     170     175
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Ser Val Glu Glu Glu Asn
180     185     190     195
Val Glu Leu Ser Met Thr Gln Ala Thr Glu Tyr Ala Lys Gln Glu Phe

```

```

180                               185                               190
Leu Lys Ala Gly Lys Ser Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Leu Leu Arg Pro Ser His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
235
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Arg Leu Thr Asn His Ser
245
Ser Ala Leu Tyr Pro Ser Le Tyr Leu Asn Thr His His Ser Thr Val
260
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg His Ala His Arg Val
285
Ser Lys Ile Thr Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
300
Arg Le Val Phe Thr Asp His Val Leu Lys Phe Leu Ser His Asp His
315
Leu Val Tyr Thr Phe Gly His Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly His
330
Val Ile Asp Gly Thr Leu Ser His Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Cys Thr His His Leu Asn Pro Cys His His Asn
360
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys His His His
375
Gly Val Cys Ile Arg Lys Ser Thr Asn Ser Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
390
Ser Pro Asp Asp Phe Ala Ile His Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu His Asn Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys
420
Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys His Lys Ala Asp
435
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys His Ala Asn Gly Val Cys
450
Le Asn Ala Thr Ser Lys Pro Pro Met His Thr His His Pro His His
465
Phe

```

<210> 46

<211> 483

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-483

10

<400> 46

```

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

```

Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115  
 Lys Asp Ile Thr Phe Lys Met Ser Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130  
 Ile Asp Top Glu Glu Top Arg Ser Thr Top Ala Arg Asn Top Lys Phe  
 145  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn  
 160  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Phe Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 180  
 Thr Lys Ala Gly Lys Arg Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195  
 Ser Leu Arg Ser Asn His Leu Arg Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 210  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Ser Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Glu Asn  
 225  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Asp Ser Top Asn Glu Ser  
 240  
 Ser Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Thr Val  
 260  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275  
 Ser Lys Ile Thr Asp Ala Lys Ser Thr Val Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 290  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 320  
 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340  
 Leu Leu Asn Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 355  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 370  
 Gly Val Lys Ile Arg Lys Ser Thr Asp Ser Ser Phe Tyr Leu His Leu  
 385  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Leu Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 400  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys  
 420  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Ser Met Glu Thr Glu Glu Phe Glu Ile  
 465  
 Phe Tyr Asn  
 480

<210> 47  
 <211> 432  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 olgun 36-467

10 <400> 47  
 Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Ser Leu Top

```

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
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
500

```

- <210> 48
- <211> 448
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <220>
- <223> PH20 olgun 36-483
- 10 <400> 48

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 Leu Asp Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65  
 Gln Lys Ile Ser Ile Gln Asn His Leu Asp Tyr Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95  
 Gln Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 110  
 Val Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 125  
 Ser Ser Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asp Phe Ile Val Gln Thr Ile Lys Ile Glu Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 170  
 His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Gln Ser Thr Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 200  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 230  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 245  
 Phe Thr Asp Glu Val Ile Lys Phe Ile Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 275  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 290  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Ser Gly Val Cys  
 320  
 Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ile His Ile Asn Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Ile Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350  
 Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 365  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Ile Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp Val Lys Asp  
 380  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala  
 395  
 Phe Leu Lys Thr Thr Met Glu Thr His Glu Pro Glu Ile Thr Tyr Asn  
 410  
 425  
 440

<210> 49  
 <211> 1446  
 5 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> çözünebilen rHuPH20 "prekürsörü" kodlayan DNA  
 10 <400> 49

```

atggggagggc tcaactttaa ggaattatct atgagcaggt ttagtcaatt aaggggggta 60
tcccagatag ttccacatt cctctcatt cccacttct tgaactccca ttccagacca 120
cctactgaca tctcaaatg cctctctctt cagggctcga atgpcctcag tcaatctctg 180
ctgggaaact ctgatgagc actagatag agcctctct ctctccagg aagcctccga 240
ataatggca cgggcaagg ccttcaata tttctgtt atagcttgg ctactatct 300
tactatgatt caaccaggg agcaactctg aatggaggaa tcccacaga gactcccta 360
cagcctatc cggctcaag cagggcagc atactctt atagctcag agcctatct 420
ggcaatggct ttactgact ggcagcagg agcaactct ggcaagcaa ctggcaact 480
aaactgatt caaacatg ctctattca ttgattcag ccaaacatg caaacctcgt 540
ctctcaggg cctctcaga agcaactca gactctgca aggcagggca ggcctctctg 600
ctacagacta tcaactcag aaacttact cagcccaact cctctctcag ttactactt 660
ttcagggatt ctctcaact tcaactcag caactcctt caactcctt caactcctt 720
ctacacata aacacata tcaactcag tcaactcct tcaactcct atcaaacat 780
caactcctt atctcagc caactcct cctctcctg ctctcctc atcaactca tctctcctt 840
cagcttggg agcctcag agctctca atactctg caactcct caactcct 900
ctctctata cagcctcag ctctctcag cagctcctg caactcct caactcct 960
ctctctata cctctcag caactcct cagctcctg caactcct caactcct 1020
cagctcctg caactcct caactcct cagctcctg caactcct caactcct 1080
ctctctata cagcctcag ctctctcag cagctcctg caactcct caactcct 1140
tcccagatag ttccacatt cctctcatt cccacttct tgaactccca ttccagacca 1200
cctactgaca tctcaaatg cctctctctt cagggctcga atgpcctcag tcaatctctg 1260
ctgggaaact ctgatgagc actagatag agcctctct ctctccagg aagcctccga 1320
ataatggca cgggcaagg ccttcaata tttctgtt atagcttgg ctactatct 1380
tactatgatt caaccaggg agcaactctg aatggaggaa tcccacaga gactcccta 1440
cagcctatc cggctcaag cagggcagc atactctt atagctcag agcctatct 1440
ctctcaggg cctctcaga agcaactca gactctgca aggcagggca ggcctctctg

```

- <210> 50
- <211> 509
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- <220>
- <223> PH20 varyantı P48A

10

```

<400> 50
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Ser Cys
20
Lys Ser Arg Leu Asn Phe Arg Ala Ser Ser Val Ile Pro Asn Val Ala
35
Phe Ser Arg Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Ser
50
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg
65
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu
80
Gly Tyr Tyr Ser Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly
100
Gly Ile Asp Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Ile Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
145
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn
160

```

168 170 172  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Leu Ala Thr Gln Lys Phe Lys Gln Gln Phe  
 180 182 184  
 Gln Lys Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Val Gln Thr Phe Lys Leu Gly Tyr  
 190 192 194 200 202 204  
 Leu Leu Arg Phe Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 210 212 214 220 222  
 Tyr Asp His His Tyr Lys Lys Trp Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Phe Asp  
 225 230 232 234 240 242  
 Val Gln Ile Lys Arg Asn Arg Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser  
 245 250 252 254 260 262  
 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Ser Gln Ser Phe Val  
 265 270 272 274 280 282  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val  
 285 290 292 294 300 302  
 Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 295 300 302 304 310 312  
 Arg Ile Val Ser Thr Arg Phe Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln  
 315 320 322 324 330 332  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 335 340 342 344 350 352  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Ile  
 345 350 352 354 360 362  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Phe Thr Ile Leu Asp Phe Pro Tyr Ile Ile Asn  
 365 370 372 374 380 382  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln  
 385 390 392 394 400 402  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Arg Asn Ser Ser Arg Tyr Leu Arg Leu  
 405 410 412 414 420 422  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Ser Thr  
 425 430 432 434 440 442  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Ser Thr Ala Asp Leu Gln Thr Phe Ser Gln Lys  
 445 450 452 454 460 462  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp  
 465 470 472 474 480 482  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Phe Ala Asp Gly Val Cys  
 485 490 492 494 500 502  
 Ile Asp Ala Phe Ser Lys Phe Leu Met Gln Thr Gln Gln Phe Thr Ile  
 495 500 502 504 510 512  
 Phe Tyr Asp Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 515 520 522 524 530 532  
 Ser Ile Leu Phe Leu Ile Phe Ser Ser Val Ala Ser Leu  
 535 540 542 544 550 552

<210> 51  
 <211> 509  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> prekürsör PH20 varyantı L499W

10

<400> 51  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 5 10 12  
 Ser Ser Gly Val Ser His Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Lys  
 15 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 Asp Ala Leu Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60



Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105  
 Gly Ile Thr Gln Tyr Ile Ser Leu Gln Asp His Ile Asp Lys Ala Tyr  
 110 115 120  
 Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Ile Gly Met Ala Val  
 125 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Gln Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 145 150 155  
 Lys Asn Val Tyr Tyr Asn Arg Ser Ile Gln Ile Val Gln Gln Asp  
 160 165 170  
 Val Gln Leu Ser Ile Thr Gln Ala Thr Gln Tyr Ala Tyr Gln Gln Phe  
 180 185 190  
 Gln Lys Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Tyr  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Thr Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Thr Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His Val Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Gln Ile Tyr Arg Asn Asn Asp Leu Ser Trp Ile Trp Asn Gln Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Thr Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Ile Ser Thr Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Arg 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 Gln  
 305 310 315  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 320 325 330  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 335 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asp Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Lys Gln Gln 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 Asp Phe Ala Ile Gln Leu Gln Tyr Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Tyr  
 420 425 430  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Ile Tyr Phe Pro Phe Met Gln Thr Gln Gln 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 Thr Phe Tyr Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Ser  
 500 505

- <210> 52
- <211> 6630
- 5 <212> DNA
- <213> Yapay dizi
  
- <220>
- <223> HZ24 vektörü
  
- 10 <400> 52





```

1          5          10          15
Lys Lys Asp Gly Asp Met Phe Met Met Pro Met Leu Arg Asp Glu Phe Lys
10 Phe Phe Glu Arg Met Phe Phe Met Ser Ser Val Glu Gly Lys Glu Arg
15 Leu Val Ile Met Gly Arg Lys Thr Top Phe Ser Ile Phe Glu Lys Asp
20 Arg Phe Leu Lys Asp Arg Thr Asp Ile Val Met Ser Arg Glu Leu Lys
25 Glu Phe Phe Arg Gly Ala His Phe Leu Ala Lys Ser Leu Asp Asp Ala
30 Leu Arg Leu Thr Glu Glu Phe Glu Leu Ala Phe Lys Val Asp Met Val
35 Arg Ile Val Gly Gly Ser Ser Val Tyr Glu Glu Ala Met Arg Glu Phe
40 Gly His Leu Arg Leu Phe Val Thr Arg Ile Met Glu Glu Phe Glu Ser
45 Asp Thr Phe Thr Pro Glu Ile Asp Leu Gly Lys Tyr Lys Leu Leu Phe
50 Glu Tyr Pro Gly Val Leu Ser Glu Val Glu Glu Glu Lys Gly Ile Lys
55 yr Lys Phe Glu Val Tyr Glu Lys Lys Asp
180

```

5 <210> 54  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Yapay dizi

10 <220>  
 <223> His etiketi

<400> 54  
**His His His His His His**  
 1 5

15 <210> 55  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Yapay dizi

20 <220>  
 <223> Flag etiketi

<400> 55  
**Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys**  
 1 5

25 <210> 56  
 <211> 1449  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

30 <220>  
 <223> Gen2 mRNA dizisi

<400> 56  
 atgagagatgag caagattctca caagctctctt tctcaagagat cctctctctctt acgagagagat 60

```

atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 120
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 150
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 180
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 210
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 240
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 270
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 300
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 330
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 360
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 390
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 420
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 450
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 480
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 510
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 540
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 570
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 600
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 630
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 660
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 690
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 720
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 750
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 780
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 810
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 840
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 870
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 900
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 930
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 960
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 990
atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg atpaaagatg 1020

```

<210> 57  
 <211> 17  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-447'den bölünen C-ucu peptidi  
 10 <400> 57  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Gln Thr Gln Glu Pro Gln Ile Phe  
 1 5 10 15  
 Tyr

<210> 58  
 15 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 20 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-446'den bölünen C-ucu peptidi  
 <400> 58  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Gln Thr Gln Glu Pro Gln Ile Phe  
 1 5 10 15

<210> 59  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 30 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-445'den bölünen C-ucu peptidi  
 <400> 59  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Gln Thr Gln Glu Pro Gln Ile  
 1 5 10 15

35

<210> 60  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5  
 <220>  
 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-444'ten bölünen C-ucu peptidi  
  
 <400> 60  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Arg Met Glu Lys Glu Glu Arg Glu  
 10       :                       :                       :                       :

<210> 61  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15  
 <220>  
 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-443'ten bölünen C-ucu peptidi  
  
 <400> 61  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Arg Met Glu Lys Glu Glu Arg  
 20       :                       :                       :                       :

<210> 62  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25  
 <220>  
 <223> çözünebilen rHuPH20 aa 431-442'den bölünen C-ucu peptidi  
  
 <400> 62  
 Asp Ala Phe Lys Leu Pro Arg Met Glu Lys Glu Glu  
 30       :                       :                       :                       :

<210> 63  
 <211> 520  
 <212> PRT  
 <213> Ovis aries  
 35  
 <220>  
 <223> PH20  
 40  
 <400> 63  
 Leu Asp Phe Pro Ala Pro Phe Leu Ile Ser Asp Thr Ser Phe Leu Trp

1  
 Ala Thr Asn Met Pro Ala Ser Arg  
 20  
 Pro Arg Leu Arg Leu Phe Ser Val  
 30  
 Thr Gly Phe Phe Thr Thr Leu Phe  
 40  
 His His Leu Asp Thr Lys Thr Ser  
 50  
 Glu Leu Gly Asn Leu Lys Asn His  
 60  
 Asn Tyr Tyr Leu Pro Asn Asp Ser  
 70  
 Glu Asn Leu Arg Phe His Arg Ala  
 80  
 Tyr Arg Asp Glu Ser Val Glu Leu  
 90  
 Ser Phe Pro Glu Ala Ser Lys Glu  
 100  
 Gly Lys Ser Phe Ser Glu Glu His  
 110  
 Phe Asn His Leu Leu Gly Lys Val  
 120  
 Asn Lys Asn Glu Phe His Lys Asn  
 130  
 Arg Arg Asn Asp Asp Ser Asp Thr  
 140  
 Phe His Val Val Tyr Ser Ser Thr  
 150  
 Ala Phe Tyr Val Asn Arg Arg Val  
 160  
 Leu Ala Ser Val Leu Ser Pro Val  
 170  
 Val Phe Leu Arg Asp Gly Ser Thr  
 180  
 Asn Ser Val Gly Glu Glu Val Ala  
 190  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 200  
 Val Phe Leu Arg Asp Gly Ser Ser  
 210  
 Asn Ser Val Gly Glu Glu Val Ala  
 220  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 230  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 240  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 250  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 260  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 270  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 280  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 290  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 300  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 310  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 320  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 330  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 340  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 350  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 360  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 370  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 380  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 390  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 400  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 410  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 420  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 430  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 440  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 450  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 460  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 470  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 480  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 490  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 500  
 Thr Gly Ser Leu Asn Leu Ser Lys  
 515  
 Gln Asn Ile Lys Asn Gln Thr Thr  
 520

- <210> 64
- <211> 474
- <212> PRT
- <213> Bos taurus

<220>

<223> prekürsör inek PH20'si

<400> 64

```

Met Gly Met Phe Arg Arg His His Ile Ser Phe Arg Ser Phe Ala Gly
1 5
Ser Ser Gly Thr Pro Glu Ala Val Phe Thr Phe Leu Leu Leu Phe Cys
20 25 30
Tyr Leu Ala Leu Asp Phe Arg Ala Phe Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser
35 40 45
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Val Glu Arg Cys Val Asn Arg Arg
50 55 60
Phe His Leu Phe Pro Asp Leu Arg Leu Phe Ser Val Lys Gly Ser Phe
65 70 75
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 Phe Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala
130 135 140
Val Ile Asp Trp Gln Asn Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys
145 150 155
Phe Lys Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ser Val Gln Leu Val Leu Glu Lys
160 165 170
Asn Pro Gln Leu Ser Phe Pro Gln Ala Ser Lys Ile Ala Lys Val Asp
175 180 185
Phe Glu Thr Ala Gly Lys Ser Phe Met Glu Gln Thr Leu Lys Leu Gly
190 195 200
Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Lys Leu Thr Leu Asp
205 210 215
Tyr Tyr Asn Phe Asn His Asn Glu Thr Thr Tyr Asn Gly Asn Lys Pro
220 225 230
Asp Val Glu Lys Arg Arg Asn Asn Asp Leu Glu Trp Leu Thr Lys Glu
235 240 245
Ser Thr Ala Leu Thr Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Arg Leu Lys Ser
250 255 260
Thr Ile Asn Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Thr Glu Ala Le
265 270 275
Arg Leu Ser Lys Ile Ala Ser Val His Ser Pro Leu Pro Val Thr Val
280 285 290
Lys Ala Arg Pro Val Phe His Asn Gly Ser Ser Thr Lys Leu Ser Glu
295 300 305
Gly Asn Leu Val Asp Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser
310 315 320
Gly Ile Ile Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Val Glu Ser
325 330 335
Cys Met Asn Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Leu Tyr Ile
340 345 350
Ile Asn Val Thr Thr Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Lys His
355 360 365
Asp Gly Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu
370 375 380
His Leu Asn Phe Met Asn Phe Ala Ile Glu Thr Gly Gln Gly Lys Lys
385 390 395
Lys Thr Val Pro Gly Thr Leu Ser Leu Glu Asp Leu Glu Lys Thr Ser
400 405 410
Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Lys Tyr Ser Asn Leu Ser Lys Lys Lys Asp
415 420 425
Val Ser Ile Lys Asn Val His Ser Val Asp Val Cys Met Ala Glu Asp
430 435 440
Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Ser Ser
445 450 455

```

5

<210> 65

<211> 517

<212> PRT

10



<213> Ovis aries

<220>

<223> PH20

5

<400> 65

Asp Phe Arg Ala Phe Phe Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Asp Ala  
 1 5  
 Trp Asn Ala Ser Ala Glu Arg Lys Ile Lys Ile Phe Lys Leu Phe Ser  
 10 20  
 Arg Leu Arg Leu Phe Ser Val Lys Gly Ser Phe Glu Lys Ser Ala Thr  
 25 35  
 Gly Glu Phe Ile Thr Leu Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Phe  
 40 50  
 His Ile Asp Glu Lys Thr Tyr Asn Thr Val Tyr Gly Gly Ile Phe Glu  
 55 65  
 Leu Gly Asn Leu Lys Asn His Leu Glu Lys Ala Lys Lys Asp Ile Ala  
 70 80  
 Tyr Tyr Ile Phe Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu  
 85 95  
 Asn Arg Arg Ser Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val Tyr  
 100 110  
 Arg Asp Glu Ser Val Glu Leu Val Leu Glu Lys Asn Phe Glu Leu Ser  
 115 125  
 Phe Phe Glu Ala Ser Lys Phe Ala Lys Val Asp Phe Glu Thr Ala Gly  
 130 140  
 Lys Ser Phe Met Glu Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Ser  
 145 155  
 Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys Tyr Asn His Asn  
 160 170  
 Tyr Asn Glu Ser Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Ser Asp Leu Glu Lys Arg  
 175 185  
 Arg Asn Asn Asp Leu Asp Arg Leu Thr Lys Cys Ser Thr Ala Leu Phe  
 190 200  
 Phe Ser Val Tyr Leu Asn Ile Lys Leu Lys Ser Thr Phe Lys Ala Ala  
 205 215  
 Phe Tyr Val Arg Asn Arg Val Glu Glu Ala Ile Arg Leu Ser Lys Ile  
 220 230  
 Ala Ser Val Glu Ser Phe Leu Leu Val Thr Val Tyr His Arg Leu Val  
 235 245  
 Phe Thr Asn Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Cys Gly Asp Leu Val Asn  
 250 260  
 Ser Val Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile Met Trp  
 265 275  
 Gly Ser Leu Asp Ile Ser Leu Thr Met Cys Ser Cys Met Asn Leu Gly  
 280 290  
 Asn Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 295 305

Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys His Asp Gln 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 Pro Ala Ile Gln Thr Cys Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Val Pro Gly  
 370 375 380  
 Lys Val Thr Leu Gln 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 Gly Asp Le Cys Ile Gly Gly  
 420 425 430  
 Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Arg His Ser Ser Ser Gln Asn Gln Ala  
 435 440 445  
 Ser Ser Thr Thr Val Ser Ser Ile Ser Pro Ser Ser Thr Ala Thr Thr  
 450 455 460  
 Val Ser Thr Cys Thr Pro Gln Lys Gln Ser Pro Gln Cys Leu Lys Val  
 465 470 475 480  
 Arg Cys Leu Gln Ala Ile Ala Asn Val Thr Gln Ser Gly Cys Gln Gly  
 485 490 495  
 Val Lys Thr Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Le Gln Asn Ile Lys  
 500 505 510  
 Asn Gln Thr Thr Tyr  
 515

<210> 66  
 <211> 1620  
 5 <212> DNA  
 <213> Ovis aries

<220>  
 <223> koyun PH20'si kodlayan

10 <400> 66  
 atcctcggcgt aggtcggpctc tggpctcctcag agcaactcctt ctacttcctc caa caactctctc 66  
 cctccaggggc cagactgcac cagctcagccg ctgctctcaca ctacttcctc caa tcactcaccga 120  
 tctggagcttc tctctctgtaa aaggaagctc ccaaaaaagc gcaacgggac caatctacta 180  
 ctactctctc cagctcagcc ctgctcacta tctctctctc caactcaaca cagggcaaac 240  
 tctctctgga ggaattctct agtctgggaaa ctcaaaaaat caattggaaa aagctcaaaa 300  
 agcctctccc tctctctctc caactcagcc cctcagcttg cccctctctc cctcagggaa 360  
 ctggagggctc cctcggggca gcaactcga aactcagct gctcaggggc cagctctctc 420  
 ctgacttctt ctgcaaaaaa ctcaaaaaat cagctcagca cagctcagca agactcagaa 480  
 cgtggctctt cggactcggc gcaagctctt cagcaagcag caatctaaa tgggcaactc 540  
 cctccagggca cctcaaaaaat cagctcagca tctctctctc cagctcagca caactcacta 600  
 tcaactcagct caatcaaaty gcaatctgctc tctctctgaaa caactcagca ctgctctctc 660  
 cagctcagctc tcaactcagca caactcagct ctctctctct ctctctctctc ctctctctctc 720  
 ctcaactcctc ctcaactcctc ctctctctctc tctctctctc ctctctctctc ctctctctctc 780  
 ctcaactcctc ctcaactcctc ctctctctctc tctctctctc ctctctctctc ctctctctctc 840  
 tctctctctc tctctctctc caatctctca cgtctgactc ctctctctc ctctctctc 900  
 cagctcagctc cagctcagctc cagctcagct ctctctctct ctcaactcctc ctctctctctc 960  
 gcaactcagct ctcaactcctc gcaactcctc gcaactcctc ctctctctctc ctctctctctc 1020  
 cagctcagctc ctcaactcctc tctctctctc cagctcagct cagctcagct cagctcagct 1080  
 cagctcagct tggactcctc gcaactcctc caactcagct caactcagct caactcagct 1140  
 caactcagct cagctcagct caactcagct tggactcctc caactcagct caactcagct 1200  
 gctctctctc caactcagct gcaactcctc tggactcctc caactcagct caactcagct 1260  
 tctctctctc ctctctctc ctactcagct tctctctctc cagctcagct tctctctctc 1320  
 tctctctctc ctctctctc ctactcagct cagctcagct cagctcagct cagctcagct 1380  
 cagctcagct tctctctctc ctactcagct cagctcagct cagctcagct cagctcagct 1440  
 gctctctctc tggactcctc tggactcctc gcaactcctc gcaactcctc caactcagct 1500  
 ctctctctct ctcaactcctc cagctcagct cagctcagct cagctcagct ctactcagct 1560  
 caactcagct tctctctctc caactcagct gcaactcctc caactcagct caactcagct 1620

<210> 67  
 15 <211> 793  
 <212> PRT  
 <213> Arthrobacter türü

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; hiyalüronan liyaz (suş FB24)

5 &lt;400&gt; 67

Met 1  
Ser 5  
Thr 10  
Arg 15  
Glu 20  
Phe 25  
Ser 30  
Arg 35  
Arg 40  
Trp 45  
Ala 50  
Leu 55  
Lys 60  
Gly 65  
Ala 70  
Ala 75  
Leu 80  
Met 85  
Glu 90  
Phe 95  
Ser 100  
Ala 105  
Leu 110  
Ala 115  
Ala 120  
Ser 125  
Gly 130  
Glu 135  
Ala 140  
Ala 145  
Val 150  
Ala 155  
Gly 160  
Glu 165  
Ala 170  
Ala 175  
Ala 180  
Ala 185  
Ala 190  
Ala 195  
Gly 200  
Val 205  
Ala 210  
Ala 215  
Ala 220  
Ala 225  
Ala 230  
Ala 235  
Ala 240  
Ala 245  
Ala 250  
Ala 255  
Ala 260  
Ala 265  
Ala 270  
Ala 275  
Ala 280  
Ala 285  
Ala 290  
Ala 295  
Ala 300  
Ala 305  
Ala 310  
Ala 315  
Ala 320  
Ala 325  
Ala 330  
Ala 335  
Ala 340  
Ala 345  
Ala 350  
Ala 355  
Ala 360  
Ala 365  
Ala 370  
Ala 375  
Ala 380  
Ala 385  
Ala 390  
Ala 395  
Ala 400  
Ala 405  
Ala 410  
Ala 415  
Ala 420  
Ala 425  
Ala 430  
Ala 435  
Ala 440  
Ala 445  
Ala 450  
Ala 455  
Ala 460  
Ala 465  
Ala 470  
Ala 475  
Ala 480  
Ala 485  
Ala 490  
Ala 495  
Ala 500  
Ala 505  
Ala 510  
Ala 515  
Ala 520  
Ala 525  
Ala 530  
Ala 535  
Ala 540  
Ala 545  
Ala 550  
Ala 555  
Ala 560  
Ala 565  
Ala 570  
Ala 575  
Ala 580  
Ala 585  
Ala 590  
Ala 595  
Ala 600  
Ala 605  
Ala 610  
Ala 615  
Ala 620  
Ala 625  
Ala 630  
Ala 635  
Ala 640  
Ala 645  
Ala 650  
Ala 655  
Ala 660  
Ala 665  
Ala 670  
Ala 675  
Ala 680  
Ala 685  
Ala 690  
Ala 695  
Ala 700  
Ala 705  
Ala 710  
Ala 715  
Ala 720  
Ala 725  
Ala 730  
Ala 735  
Ala 740  
Ala 745  
Ala 750  
Ala 755  
Ala 760  
Ala 765  
Ala 770  
Ala 775  
Ala 780  
Ala 785  
Ala 790  
Ala 795  
Ala 800  
Ala 805  
Ala 810  
Ala 815  
Ala 820  
Ala 825  
Ala 830  
Ala 835  
Ala 840  
Ala 845  
Ala 850  
Ala 855  
Ala 860  
Ala 865  
Ala 870  
Ala 875  
Ala 880  
Ala 885  
Ala 890  
Ala 895  
Ala 900  
Ala 905  
Ala 910  
Ala 915  
Ala 920  
Ala 925  
Ala 930  
Ala 935  
Ala 940  
Ala 945  
Ala 950  
Ala 955  
Ala 960  
Ala 965  
Ala 970  
Ala 975  
Ala 980  
Ala 985  
Ala 990  
Ala 995  
Ala 1000

439  
 A a Ser Ser Arg Ile A a Trp Tyr Glu Cys Gly Asn Gly Glu Asp Asp  
 435 440 445  
 Arg Gly Tyr His Thr Gly Ser Gly Met Thr Tyr Val Tyr Asp Gly Asp  
 450 455 460 465  
 Leu Gly Glu Tyr Asp Asp Ala Phe Trp Ala Thr Ala Asn His Cys Arg  
 465 470 475 480  
 Leu Phe Gly Ile Thr Val Asp Thr Ser Ser Leu Phe Asp Lys Val Glu  
 485 490 495  
 Gly Glu Trp Gly Ala Ala Thr Phe Ala Asn Glu Trp Thr Gly Ser Thr  
 500 505 510  
 Ala Lys Gly Asp Val Ala Ala Val Gly Glu His Leu Ile Gly Ser Gly  
 515 520 525  
 Gly His Gly Leu Thr Ala Arg Lys Ser Trp Phe Val Ser Lys Asp Val  
 530 535 540  
 Leu Val Cys Leu Gly Ala Asp Le Arg Thr Cys Ser Gly Ser Arg Ile  
 545 550 555  
 His His Val Val Asp His Arg Asn Leu His Ala Gly Phe Asn Ala Met  
 560 565 570  
 Gly His Ala Ala Gly Thr Val Ala Ala Thr Phe Gly His Leu Glu Val  
 575 580 585  
 Ser His Val Asp Arg Trp Val His Leu Glu Gly Phe Gly Gly Tyr Val  
 590 595 600  
 Val Leu Asp Ala A a Pro Leu Glu Val Leu Arg Gly Ser Arg Glu Gly  
 605 610 615 620  
 Ser Trp Ser Glu Val Ser Val Lys Gly Ser Ala A a Arg Glu Thr Arg  
 625 630 635 640  
 Ser Tyr Ala Thr Leu Tyr Phe Asp His Gly His Gly Phe Glu Ala A a  
 645 650 655  
 Ser Tyr Ala Tyr Leu Val Ala Phe Gly Ala Ser Ala Ser Met Thr Ser  
 660 665 670  
 Ser Leu Ser Gly Glu Ser Phe His Thr Val Leu Arg Asn Asp Glu Val  
 675 680 685  
 Ala Glu Ala Val Lys Phe Lys Lys Glu Lys Thr Thr Ala Ala Thr Phe  
 690 695 700 705  
 Trp Arg Leu Gly Thr Val Gly Asp Leu Ala Ser Ser Gly Leu Ala Lys  
 710 715 720  
 Val Val Val Lys Thr Val Gly Asp Arg Leu Ser His Ala Val Ser Asp  
 725 730 735 740  
 Phe His Glu Asn Ala Ser His Leu Thr Leu Arg Leu Lys Thr Lys Arg  
 745 750 755  
 Phe Phe Arg Ile Ile Glu Gly Glu Gly Ala Ser Leu Ser His Gly A a  
 760 765 770  
 Asn Gly Phe Thr Val Leu Glu Val Asp Ile Ala Asn His Ala Gly Arg  
 775 780 785  
 Trp Lys Glu Ile Glu Leu Ser Ala Glu  
 790 795

- <210> 68
- <211> 557
- 5 <212> PRT
- <213> Bdellovibrio bacteriovorus

- <220>
- <223> hyaluronan liyaz

10 <400> 68  
 Met Thr Lys Phe Phe Phe Leu Leu Thr Trp Leu Ser Ala Thr Ala Phe  
 1 10 11  
 Ala Glu Ser Glu Pro Asp Trp Thr Ala Gly Val Phe Val Phe Pro Gly  
 20 30  
 Gly Arg Ser Asn Ile Tyr Ser Trp Asn Asp Phe Asp Phe Glu Ala Thr

	25				45						45			
160	Asn	Tyr	Gly	Lys	Thr	Phe	Ala	Gln	Val	Thr	Trp	Val	Thr	Val
65	Gly	Met	Trp	Pro	Pro	Tyr	Ser	Thr	Val	Arg	Arg	Ile	Thr	Glu
80	Asn	Ser	Asn	Pro	Leu	Arg	Lys	Trp	Thr	Glu	Ser	Ile	Met	Lys
100	Met	Gly	Phe	Arg	Ser	Phe	Leu	Asp	Val	Ile	Lys	Asp	Ile	Gly
115	Lys	Lys	Pro	Leu	Gln	Asp	Gln	Arg	Gly	Val	Tyr	Ala	Val	Trp
130	Asn	Gln	Leu	Arg	Pro	Asp	Thr	Leu	Met	Lys	Gly	Lys	Ile	Glu
145	Asn	Gly	Ala	Gln	Gly	Phe	Leu	Phe	Ser	Lys	Ala	Ala	Gly	Ala
160	Asn	Leu	Phe	Gly	Lys	Ile	Val	Leu	Gly	Met	Thr	Asn	Arg	Phe
175	Ala	Asn	Ala	Phe	Phe	Ile	Lys	Ala	Lys	Lys	Val	Met	Arg	Leu
190	Phe	His	Ile	Phe	Gln	Ala	Lys	Thr	Arg	Ala	Thr	Asn	Ala	Glu
205	Leu	Leu	Val	Gln	Ser	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Ser	Val	Ala	Leu
220	Phe	Ile	Ala	Leu	Gly	Leu	Asp	Thr	Ser	Leu	Ala	Gln	Val	Leu
235	Leu	Asn	Arg	Arg	Lys	Lys	Asp	Lys	Tyr	Ala	Asn	Tyr	Phe	Asp
250	Ala	Arg	Met	Pro	Asp	Lys	Asp	Lys	Thr	Leu	Asp	Asp	Lys	Ser
265	Met	Lys	Pro	Ala	Val	Trp	Trp	Asp	Val	Lys	Tyr	Lys	Asp	Asp
280	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Ser	Lys	Asp	Ile	Ile	Leu	Met	Asp
295	Trp	Asn	Ile	Ile	Gly	Arg	Gly	Ala	Asp	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln
310	Leu	Ala	Asp	Asn	Asp	His	Ile	Ile	Lys	Gln	Leu	Thr	Thr	Ala
325	Ala	Ser	Ile	Ala	Phe	His	Ile	Thr	Asp	Phe	Thr	Pro	Ala	Glu
340	Asp	Trp	Gly	Arg	Lys	Lys	Ala	Ser	Gln	Gln	Thr	Phe	Lys	Tyr
355	Ala	Lys	Lys	His	Gly	His	Tyr	Gln	Lys	Ala	Trp	Ala	Trp	Pro
370	Leu	Val	Leu	Ser	Ala	Ala	Gln	Arg	Leu	Lys	Thr	Val	Gln	Val
385	Lys	Gln	Lys	Thr	Pro	Val	Val	Asn	Val	Lys	Thr	Asp	Pro	Thr
400	Gln	Gly	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Asp	Leu	Gln	Ile	Ser
415	Lys	Asn	Gly	Ile	Val	Ile	Lys	Ala	Ile	Ile	Gly	Tyr	Val	Leu
430	Leu	Val	Gly	Ile	Arg	Ala	Arg	Trp	Phe	Tyr	Met	Asp	Asn	Asp
445	Pro	Asn	Leu	Lys	Val	Leu	Leu	Thr	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Arg
460	Lys	Lys	Ser	Gly	Gln	Ala	Leu	Asn	Lys	Asp	Thr	Asp	Tyr	Asp
475	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Ile	Gly	Asp	Lys	Thr	Phe	Lys	Ala	Thr
490	Asp	Gln	His	Leu	Lys	Asp	Thr	Asn	Asn	Phe	Gln	Met	Gly	Asp
505	His	Asp	Gln	Gly	Thr	Phe	Thr	Lys	Asp	Gly	Lys	Gln	Thr	Ser
520	Glu	Asp	Lys	Lys	Asn	Leu	Ile	Gln	Phe	Leu	Gln	Thr	Leu	Leu
535														

- <210> 69
- <211> 813
- <212> PRT
- <213> Propionibacterium acnes

<220>

<223> hiyalüronan liyaz

<400> 69

Met	Pro	Gly	Thr	Pro	Ser	Arg	Arg	Thr	Pro	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	Tyr	Ser	Ala	Leu	Cys	Gln	Arg	Tyr	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	Gln	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	Gln	Gln	Ser	Pro	Pro	Ile	Thr	Lys	Thr	Ala	Arg	Ala	Ile	Gln	
		100						105						110		
Ser	Met	Ala	Cys	Ala	Tyr	Ala	Thr	Pro	Gly	Ser	Ser	Tyr	His	Lys	Asp	
		115						120					125			
Pro	Gln	Ile	Leu	Ser	Ala	Tyr	Ile	Gln	Gly	Leu	Arg	Asp	Pro	Cys	Arg	
		130				135						140				
Leu	Arg	Tyr	Asn	Pro	Ser	Ser	Asp	Gln	Tyr	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	
		145			150					155					160	
Ser	Asp	Gly	Ala	Ser	Arg	Ala	Val	Ala	Asp	Val	Met	Cys	Ile	Leu	His	
			165						170					175		
Asp	Val	Leu	Pro	Pro	Gln	Val	Met	Ser	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Ile	Asp	
		180						185						190		
His	Pro	Ile	Pro	Asp	Pro	Tyr	Pro	Gln	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Lys	Pro	
		195					200						205			
Pro	Ala	Asn	Pro	Val	Gln	Pro	Val	Val	Ser	Thr	Gly	Ala	Asn	Arg	Met	
		210					215					220				
Asn	Leu	Thr	Arg	Ala	Val	Met	Lys	Arg	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Asp	Gln	
		225			230					235					240	
Lys	Arg	Leu	Arg	His	Ala	Val	Asn	Gly	Leu	Pro	Asp	Ala	Thr	Arg	Val	
			245					250						255		
Pro	Thr	Gln	Gly	Asp	Gly	Pro	Arg	Ala	Asp	Gly	Gly	Pro	Ile	Gln	His	
		260						265						270		
Ser	His	Ile	Pro	Tyr	Thr	Lys	Gly	Tyr	Gly	Asp	Val	Leu	Pro	Ser	Gly	
		275					280						285			
Leu	Ala	Met	Leu	Thr	Pro	Leu	Val	Ser	Gly	Met	Arg	Pro	Asn	Ile	Val	
		290				295					300					
Ile	Ser	Ala	Arg	Lys	Ala	Pro	His	Asp	Gln	Val	Gln	Arg	Gly	Pro	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	Gln	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	Gln	
		355					360						365			
Gln	Arg	Arg	Gly	Ile	Val	His	Gly	Thr	Met	Ala	Arg	Asn	Thr	Thr	Asp	
		370				375					380					
His	Leu	Ser	Gln	Pro	Ser	Thr	Leu	Val	Asp	Ile	Ser	Leu	Pro	Asp	Ala	
		385			390					395					400	

5

Ala Ala Lys Ala Arg Pro Val Phe Glu Ser Ser Thr Phe Ser Tyr Phe  
 407  
 Ala Ser Met Asp Arg Leu Val His Arg Thr Ala Asp Tap Leu Ile Thr  
 420 425 430  
 Val Ser Asn Cys Ser Arg Arg Ile Ala Trp Tyr Ser Tyr Gly Asn Gly  
 435 440 445  
 Glu Asn Glu Thr Ala Ser Arg Thr Ser Glu Gly Met Asp Tyr Leu Leu  
 450 455 460  
 Leu Phe Gly Asp Met Gly Ser Tyr Glu Asp Gly Tyr Tap Ala Thr Val  
 465 470 475 480  
 Arg Tyr Ser Ala Pro Thr Gly Thr Thr Val Asp Ser Thr Pro Leu Tyr  
 485 490 495  
 Arg Ala Val Gly Ala Ser Tap Ala Ala Lys Thr Phe Thr Asn Glu Tap  
 500 505 510  
 Ser Gly Gly Leu Ala Ser Gly Ser Tap Ser Ala Ala Ala Ser Asp Ile  
 515 520 525  
 Thr Ser Thr Asp Ser Ala Ser Lys Ala Arg Arg Ser Tap 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 Ser His Arg Lys Val Ala Ser Ser Ser Thr  
 565 570 575 580  
 Lys Leu Leu Val Asp Gly Asn Arg Val Ser Ser Ala Thr Ser Ser Thr  
 585 590 595 600  
 Asn Phe Arg Tap Ala Ala Leu Arg Gly Val Gly Gly Tyr Val Phe Ala  
 605 610 615 620  
 Thr Asp Thr Asp Leu Ser Asn Asp Val Ala Thr Arg Lys Gly Thr Tap  
 625 630 635 640  
 Ile Asp Val Asn Pro Ser Arg Lys Val Lys Gly Ala Asp Glu Val Ile  
 645 650 655 660  
 Glu Arg Ala Tyr Ala Ser Leu His Val Thr His His Asp Arg Phe Val  
 665 670 675 680  
 Ala Tap Ala Leu Leu Pro Thr Ala Ser Arg Ser His Thr Met Ala Leu  
 685 690 695 700  
 Ala Thr Arg Phe Gly Val Ser Phe Phe Thr Val Leu Arg Asn Asp Ala  
 705 710 715 720  
 Thr Val Glu Ala Val Arg Ser Ala Gly Ala Leu Leu Thr Lys Asp Pro  
 725 730 735 740  
 Val Ala Val Asn Arg Phe Ala Leu Val Glu Thr Arg Glu Ser Ala Asn  
 745 750 755 760  
 Ser Met Glu Val Val Leu Val Glu Thr Thr Glu Lys Arg Gly Ser Leu  
 765 770 775 780  
 Thr Val Thr Ile Glu Gly Ser Tap Lys Val Lys Thr Ala Asp Ser His  
 785 790 795 800  
 Val Asp Val Ser Cys Glu Asn Ala Ala Gly Thr Leu His Val Asp Thr  
 805 810 815 820  
 Ala Gly Leu Gly Gly Glu Ser Val Arg Val Thr Leu Ala Arg Glu Val  
 825 830 835 840  
 Thr Glu Thr Phe Ser Gly Gly Gly Arg His Asp Arg Ala  
 845 850 855 860

- <210> 70
- <211> 1072
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus agalactiae
  
- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz
  
- 10 <400> 70

Met Glu Thr Lys Leu Lys Tyr Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Ser Thr  
 1 17  
 Thr Gly Thr Thr Leu Val Asp Asp Ser Tyr Glu Ala Lys Ala Thr Thr  
 21 25  
 Thr Thr Lys Thr Thr Ser Thr Ser Glu Ile Arg Asp Thr Thr Thr  
 29 33  
 Asp Ile Glu Val Leu Thr Thr Thr Ala Ser Thr Thr Val Lys Thr Thr  
 37 41  
 Thr Thr Thr Thr Ser Glu Asp Leu Ser Asp Ser Thr Thr Ala Ser Thr  
 45 49  
 Thr Ala Thr Ala Thr Asp Ser Thr Thr Met Lys Glu Val Val Asp Asp  
 53 57  
 Thr Glu As Lys Glu Ser Val Tyr Asp Asp Gly Asp Thr As Glu Thr Asp  
 61 65  
 Thr Val Ser Lys Ser Thr Ser Ser His Thr Ser Ala Arg G Thr Thr Ala  
 69 73  
 Thr Ile Asp Lys Ser Asp Thr Ala Asp Tyr Ser Thr Thr Thr Thr Thr  
 77 81  
 Thr Glu Glu Lys Glu Val Ser Leu Ser Ser Arg Asp Lys Gly Thr Arg  
 85 89  
 Ala Val Thr Glu Lys Val Asp Ile Arg Ser Thr Thr Lys Lys Tyr Glu Val  
 93 97  
 Lys Glu Arg Ile Thr Thr Ser Ser Asp Lys Ala Gly Glu Ala Thr Thr Arg  
 101 105  
 Thr Met Glu Lys Leu Ser Asp Asp Thr Arg Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 109 113  
 Thr Ser Gly Thr Thr Ser Tyr His Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 117 121  
 Tyr Leu As Val Ser Glu Val Tyr Thr Thr Glu Thr Thr Thr Thr Thr  
 125 129  
 Thr Gly Ser Ala Thr Thr Asp Asp Ile Ser Met Lys Ala Lys Thr Thr  
 133 137  
 Lys Asp Ser Thr Ser Ser Thr Thr Thr Val Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 141 145  
 Val Asp Thr Ala Leu Asp Lys Asp Tyr Val Thr Asp Lys Ala Asp Lys  
 149 153  
 Glu Tyr Thr Leu Thr Asp Thr Ser Ser Leu Gly Lys Thr Val Gly Gly Thr  
 157 161  
 Leu Tyr Ser Asp Ala Thr Thr Ser Ser Thr Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp  
 165 169  
 Ser Gly Lys Thr Thr Lys Glu Val Thr Thr Ser Ser Val Thr Ala Ser Thr  
 173 177  
 Glu Asp Tyr Thr Thr Lys Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 181 185  
 Gly Asp Thr Val Thr Ser Thr Thr Asp Asp Asp Ser Asp Met Thr Thr Thr  
 189 193  
 Glu Lys Thr Asp Glu Thr Asp Ala Ala Tyr Asp Asp Ile Lys Thr Thr Thr  
 197 201  
 Asp Ser Asp Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 205 209  
 Ser Ala Glu Leu Thr Ala Thr Thr Tyr Arg Arg Leu Glu Asp Thr Thr Thr  
 213 217  
 Glu Ile Thr Asp Ser Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 221 225  
 Arg Thr Val Lys Glu Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 229 233  
 Val As Lys Asp Thr Glu Gly Ser Ala As Thr Thr Asp Thr Thr Thr Thr  
 237 241  
 Gly Val Thr Arg Ser Thr Thr Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 245 249  
 Thr Thr Asp Ala Thr Thr Lys Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 253 257  
 Val Thr Arg Ala Gly Lys Thr Arg Lys Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 261 265



			309				312				311					
Ala	Leu	Gly	Gly	Asn	Leu	Val	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Thr	Thr	Ala		
575							313				314					
Gly	Leu	Leu	Arg	Lys	Asp	Asn	Thr	Thr	Thr	Glu	Lys	Thr	Ser	His	Ser	
530							315				316					
Leu	Lys	Asn	Leu	Phe	Thr	Thr	Ala	Thr	Lys	Ala	Glu	Gly	Phe	Tyr	Ala	
521							317				318				567	
Asp	Gly	Ser	Tyr	Thr	Asp	His	Thr	Asp	Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Ala	Tyr	
561							319				320				565	
Gly	Asn	Val	Leu	Thr	Asp	Gly	Met	Thr	Leu	Leu	Leu	Leu	Thr	His	His	
580							321				322				563	
Glu	Thr	Asn	Tyr	Lys	Thr	Ser	Met	Leu	Leu	Leu	Asp	Met	Val	Tyr	Lys	
595							323				324				562	
Trp	His	Asn	Ala	Ser	Phe	Ala	Pro	Leu	His	Val	Lys	Gly	Glu	Leu	Met	
619							325				326				561	
Asp	Met	Ser	Arg	Gly	Arg	Ser	His	Ser	Arg	His	Ala	Ala	Ser	Ser	His	
625							327				328				641	
Ala	Ala	Ala	Val	Ala	Val	Leu	Asn	Gly	Phe	Leu	Asp	Leu	Ala	Asn	Met	
641							329				330				655	
Ser	Asn	His	His	Arg	Asn	Leu	Asp	Leu	Lys	Ser	Ala	Leu	Lys	Thr	His	
659							331				332				632	
His	His	Ser	Asn	Lys	Phe	Lys	Asn	Val	His	Ser	Asn	Leu	Lys	Ser	Lys	
675							333				334				633	
Ser	Asn	His	Ala	Asn	Met	Asn	Lys	Met	Leu	Ser	Asp	Ser	Thr	Val	Ala	
680							335				336				635	
Thr	Lys	Pro	Leu	Lys	Ser	Asn	Leu	Ser	Thr	His	Asp	Ser	Met	Asp	Asp	
711							337				338				637	
Leu	Ala	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Leu	Lys	Asp	Phe	Gly	Phe	Ala	Leu	Ser	Leu	
721							339				340				639	
His	Ser	Tyr	Arg	Thr	Leu	Asn	Tyr	Leu	Gly	Met	Asp	Asp	Glu	Asp	Thr	
740							341				342				638	
Asp	Gly	Trp	Lys	Thr	Gly	Asp	Gly	Met	Leu	Tyr	Leu	Tyr	Asp	Ser	Asp	
755							343				344				636	
His	Ser	His	Lys	Ser	Asn	His	Phe	Trp	Leu	Thr	Val	Asn	Leu	Tyr	Lys	
779							345				346				634	
Met	Ala	Gly	Thr	Thr	His	Lys	Asp	Ala	Lys	Arg	His	Asp	Thr	Thr	Lys	
730							347				348				631	
Glu	Pro	Met	Ser	Lys	His	Ser	Lys	Asp	Ala	Lys	Leu	Lys	Thr	Gly	His	
800							349				350				615	
Val	Thr	Gly	Thr	Ser	Asp	Phe	Val	Gly	Ser	Val	Lys	Leu	Asp	Asp	His	
820							351				352				621	
Pro	Ala	Leu	Ala	Ala	Met	Asp	Phe	Thr	Asp	Trp	Asn	Arg	Thr	Leu	Thr	
835							353				354				620	
Ala	Glu	Tyr	Gly	Trp	Val	Thr	Met	Asp	Asp	Lys	Leu	Val	Thr	Leu	Gly	
850							355				356				622	
Ser	Asp	Leu	Lys	Asn	Thr	Asn	Leu	Thr	Gly	Asp	Val	Ser	Thr	Thr	His	
870							357				358				623	
Asp	Glu	Arg	Lys	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr	Thr	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Val	Asp	
885							359				360				625	
Gly	Lys	Leu	His	Asp	Leu	Lys	Ala	Ser	Ser	His	Glu	His	Leu	Thr	Asp	
900							361				362				612	
Phe	Lys	Ser	Val	Phe	Leu	His	Ser	Lys	His	Pro	Gly	Arg	Asp	His	Gly	
915							363				364				624	
Tyr	His	Phe	Phe	Lys	Asn	Asp	Thr	His	Asp	His	His	Arg	Lys	Glu	His	
930							365				366				610	
Thr	Gly	His	Trp	Asn	Ser	His	Asn	Arg	His	Ser	Lys	Asn	Thr	Ser	His	
945							367				368				961	
Val	Ser	Asn	Phe	Phe	His	His	His	Ser	Glu	Lys	His	Asp	Asn	Lys	Gly	
961							369				370				935	
Asp	Ser	Lys	Gly	Lys	Met	Met	Val	Phe	Asn	Leu	Asp	Asp	Thr	Ser	Pro	
980							371				372				930	
Asn	Lys	Leu	Ala	Asn	Ser	Tyr	Glu	Val	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	Ser	
995							373				374				931	
Lys	Glu	Glu	Val	Thr	Tyr	Asp	Lys	Asn	Ser	Glu	Thr	Trp	Ala	Val	Leu	
1010							375				376				932	
Lys	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Ser	Leu	His	Asp	Asn	Glu	Thr	His	Lys	Met	Arg
1025							377				378				1042	
Lys	Ala	Gly	Leu	Tyr	Leu	Val	Glu	Lys	Val	Gly	Asn	Asp	Tyr	Glu	Asn	
1045							379				380				1045	
Val	Lys	Tyr	Glu	Pro	Glu	His	Met	Thr	Lys	Thr	Asp	Glu	Leu	Ala	His	
1060							381				382				1032	

<210> 71  
 <211> 1072  
 <212> PRT  
 <213> Streptococcus agalactiae 18RS21

5

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

<400> 71

```

Met  Glu  Ile  Lys  Lys  Lys  His  Arg  Ile  Met  Leu  Tyr  Ser  Ala  Leu  Ile
1      15      15
Leu  Gly  Thr  Ile  Leu  Val  Asn  Asn  Ser  Tyr  Glu  Ala  Lys  Ala  Glu  Glu
20      20      25      30
Ser  Thr  Lys  Thr  Thr  Ser  Thr  Ser  Glu  Ile  Arg  Asp  Thr  Glu  Thr  Asn
35      40      45
Asn  Ile  Glu  Val  Leu  Glu  Thr  Glu  Ser  Thr  Thr  Val  Lys  Glu  Thr  Ser
50      55      60
Thr  Thr  Ser  Thr  Glu  Glu  Asp  Leu  Ser  Asn  Pro  Thr  Ala  Ser  Thr  Ala
65      70      75      80
Ser  Ala  Thr  Ala  Thr  His  Ser  Thr  Met  Lys  Glu  Val  Val  Asn  Asn  Glu
85      90      95
His  Glu  Asn  Lys  Glu  Leu  Val  Lys  Asn  Gly  Asp  Phe  Asn  Glu  Thr  Asn
100     105     110
Pro  Val  Ser  Gly  Ser  Trp  Ser  His  Thr  Ser  Ala  Asn  Glu  Thr  Ser  Ala
115     120     125
Arg  Ile  Asn  Lys  Glu  Asn  Ser  Ala  Asn  Lys  Ser  Pro  Le  Ile  Glu  Arg
130     135     140
Ser  Glu  Glu  Gly  Glu  Val  Ser  Leu  Ser  Ser  Asp  Lys  Gly  Thr  Arg  Gly
145     150     155     160
Ala  Val  Thr  Glu  Lys  Val  Asn  Ile  Asn  Pro  Thr  Lys  Lys  Tyr  Glu  Val
165     170     175
Lys  Phe  Asp  Ile  Glu  Thr  Ser  Asn  Lys  Ala  Gly  Glu  Phe  Thr  Leu  Arg
180     185     190
Ile  Met  Glu  Lys  Lys  Asp  Asn  Asn  Thr  Arg  Phe  Trp  Ser  Ser  Glu  Met
195     200     205
Thr  Ser  Gly  Thr  Thr  Asn  Lys  His  Thr  Leu  Thr  Lys  Thr  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  Asn  Ser  Glu  His  Pro  Ser  Phe  Val  Thr  Thr  Glu  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
Thr  Lys  Ser  Leu  Thr  Asn  Pro  Ser  Leu  Gly  Lys  Ile  Val  Gly  Gly  Ile
290     295     300
Ser  Lys  Thr  Asn  Ala  Thr  Gly  Ser  Thr  Thr  Val  Lys  Le  Ser  Asp  Lys
305     310     315     320
Ser  Gly  Lys  Ile  Ile  Lys  Glu  Val  Ser  Leu  Ser  Val  Ser  Ala  Ser  Thr
325     330     335
Glu  Asn  Lys  Phe  Thr  Lys  Leu  Leu  Asn  Lys  Trp  Asn  Asp  Val  Thr  Ile
340     345     350
    
```

10

Gly Asp His Val Thr Arg Thr Asp Asp Ser Asp Met Ala Leu Thr Asp  
 340  
 Glu Tyr Leu Asp Thr Thr Thr Asp Ala Tyr Asp His Lys Thr Thr Lys Leu  
 345  
 Asp Ser Asp His Thr His Leu Trp Tyr Asp Leu Asp Asp Leu Asp Asp  
 350  
 Ser Ala Glu Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Arg Leu His Asp Leu Ala Lys  
 355  
 Glu His Thr Asp Arg Arg Asp Ser Thr His Lys Tyr Asp Glu Lys Ala His  
 360  
 Arg Thr Val Lys Glu Ser Leu Ala Arg Leu His Glu Asp His Lys Asp  
 365  
 Val Asn Tyr Asp Thr Glu Gly Ser Tyr Ser His Asn Thr Thr Asp Thr Glu Thr  
 370  
 Gly Val Thr Arg Ser Thr Thr Thr Thr Ala Thr Leu Ala Thr Met Asp Ser Tyr  
 375  
 Phe Thr Asp Ala Thr Thr Lys Thr Tyr Thr Asp Phe Thr Leu Thr His Phe  
 380  
 Val Arg Asp Ala Gly Tyr Thr Arg Lys Thr Leu Asp Asp His Phe Lys  
 385  
 Ala Leu Gly His Asp Leu Val Asp Met Gly Asp Val Lys His His His  
 390  
 Gly Leu Asp Arg Lys Asp Asp Asn Thr His His Ala Lys His Ser Ser Ser  
 395  
 Thr Tyr Asn Thr Thr Thr Thr Thr Ala Thr Tyr Ala Glu Gly Thr Tyr His  
 400  
 Asp Gly Ser Thr Thr Ser His Thr Asp Val Ala Thr Thr Thr Gly Glu Tyr  
 405  
 Gly Asn Val Thr Thr Ser Gly Thr Thr Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Glu  
 410  
 Glu Thr Asp Tyr Lys Thr Ser Asp Asn Glu Glu Thr Asp Met Val Tyr Lys  
 415  
 Asp His Asp Thr Ser His Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 420  
 Asp Met Asp Arg Gly Arg Ser His Val Arg Arg His Ala Ala Ser Asp His  
 425  
 Ala Ala Ala Val Glu Val Leu Arg Gly Asp Leu Arg Leu Ala Asn Met  
 430  
 Ser Asp Glu Glu Arg Asp Leu Asp Leu His Ser Thr His Lys His His  
 435  
 His Thr Ser Asp Lys His Lys Asp Asn Val Asp Asp Asp Leu Lys Ser Lys  
 440  
 Ser Asp Thr Ala Asp Val Asp Thr Thr Tyr Val Thr Asp Thr Thr Thr Thr Thr  
 445  
 Thr Tyr Thr Leu Leu Asp Asp Asp Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 450  
 Thr Ala Tyr Tyr Asp Ala Leu Leu Tyr Asp Phe Gly Thr Ala Leu Asp Leu  
 455  
 His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr Glu Gly Met Asp Asp Asp His Asp His  
 460  
 Arg Gly Trp Tyr Thr Tyr Asp Tyr Asp Tyr Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asp Asp  
 465  
 Glu Ser Asp Lys Ser Asp His Asp Thr Arg Asp Thr Val Asp Asp His Lys Lys  
 470  
 Met Ala Gly Thr Thr Glu Tyr Asp His His Tyr Asp Glu Asp Thr Thr Tyr  
 475  
 Glu Thr Met Ser Lys His Ser Tyr Asp Ala Tyr Glu Tyr Thr Thr Gly Glu  
 480  
 Val Thr His Thr Ser Asp Thr Val Gly Ser Val Tyr Leu Asp Asp His  
 485  
 Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp Phe Thr Asp Trp Asp Arg Thr Thr Thr Thr  
 490  
 Ala Glu Tyr His Trp Val His Leu Asp Asp Lys His Val His Leu Tyr

```

      850          885          890
Ser Asp Ile Lys Asp Thr Ser Gly Ile Gly Asp Val Ser Thr Thr Ile
885          890          895
Arg Gly Arg Lys Asp Arg Ser Lys Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asp
887          892          897
Gly Lys Ser Ile Asp Ser Lys Gly Ala Ser Ser Ser Gly Thr Thr Asp
900          905          910
Thr Lys Ser Val Phe Ser Ala Ser Lys Gly Pro Gly Arg Asp Ile Gly
911          916          921
Lys Ile Phe Phe Lys Asp Ser Thr Ile Asp Ile Gly Arg Lys Gly Gly
920          925          930
Ser Gly Thr Thr Asp Ser Ile Asp Arg Thr Ser Lys Asp Thr Ser Ile
935          940          945
Val Ser Asp Thr Phe Ile Ser Ile Ser Ile Lys His Asp Asp Lys Gly
946          951          956
Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met Val Pro Asp Ile Asp Arg Thr Ser Phe
960          965          970
Arg Lys Leu Ala Asp Ser Lys Gly Val Gly Leu Leu Gly Asp Ser Ser
975          980          985
Lys Gly Gly Val Ile Lys Asp Lys Asp Ser Gly Thr Thr Ala Val Ile
990          995          1000
Lys His Asp Asp Gly Gly Leu Ile Asp Asp Gly Phe Lys Met Asp
1005          1010          1015
Lys Ala Gly Leu Tyr Leu Val Gly Lys Val Gly Asp Asp Tyr Gly Asp
1020          1025          1030
Val Tyr Tyr Gly Pro Gly His Met Thr Lys Thr Asp Gly Leu Ala Ile
1035          1040          1045

```

<210> 72  
 <211> 1081  
 5 <212> PRT  
 <213> Streptococcus agalactiae serotip Ia

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

10

```

<400> 72
Met Gly Ile Lys Lys Lys His Arg Ile Met Leu Tyr Ser Ala Leu Ile
1          5
Leu Gly Thr Ile Leu Val Asp Asp Ser Tyr Gly Ala Lys Ala Gly Gly
20          25
Phe His Lys Thr Thr Ser His Ser Gly Ile Arg Asp His Gly Thr Asp
30          35
Asp Val Gly Val Tyr Gly Ser Gly Ser Thr Thr Val Lys Gly Thr Ser
40          45
Thr Thr Thr Thr Gly Gly Asp Leu Ser Asp Ser Thr Asp Ser Thr Ala
50          55
Thr Ala Thr Ala Thr His Ser Thr Met Lys Gly Val Val Asp Asp Gly
60          65
Thr Gly Asp Tyr Gly Thr Thr Val Tyr Asp Gly Asp Thr Lys Gly Lys Ile
70          75
Ile Asp Lys Lys Ile Asp Lys Lys Ser Gly Ser Thr Asp Leu Tyr Gly
80          85
Phe Lys Asp Thr Asp Thr Tyr Ile Asp Gly Thr Lys Ser Val Asp Lys
90          95
Ser Phe Ile Ile Gly Arg Thr Gly Gly Gly Val Ser Leu Ser Ser
100          105
Arg Lys Gly Phe Arg Gly Ala Val Thr Gly Lys Val Asp Ile Asp Ser
110          115
Thr Lys Lys Tyr Gly Val Lys Phe Asp Ile Gly Thr Ser Asp Lys Val
120          125
Gly Gly Ala Phe Ser Arg Ile Met Lys Lys Lys Asp Lys Asp Thr Arg
130          135

```



Asn Asp Ser Thr Val Ala Thr Lys Phe Leu Lys Ser Asn Leu Ser Thr  
 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790  
 Phe Asn Ser Met Asp Arg Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys Asp Phe  
 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880  
 Gly Phe Ala Leu Ser Leu His Ser Lys Arg Thr Leu Asn Tyr Glu Gly  
 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970  
 Met Asn Asp Glu Asp Thr Arg Gly Thr Tyr Thr Gly Asp Gly Met Phe  
 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060  
 Tyr Leu Tyr Asn Ser Arg His Ser His Tyr Ser Asn His Phe Thr Pro  
 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150  
 Thr Val Asn Phe Tyr Lys Met Ala Gly Thr Thr Ser Lys Asp Thr Gly  
 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240  
 Arg Glu Asn Thr Phe Lys Lys Leu Met Asp Arg Tyr Asp Lys Thr Asp  
 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330  
 Lys Asn Ser Lys Val Met Thr Gly Glu Val Thr Gly Thr Ser Asp Phe  
 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420  
 Val Gly Ser Val Lys Leu Asn Arg His Phe Ala Leu Ala Ala Met Asp  
 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510  
 Phe Thr Asn Thr Asp Arg Thr Leu Thr Ala Glu Lys Gly Thr Val Phe  
 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600  
 Met Asn Asp Lys Phe Val Phe Leu Gly Ser Asn Phe Lys Asp Thr Asp  
 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690  
 Gly Val Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile Asp Glu Arg Lys Asp Asp Ser  
 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785  
 Lys Thr Asp Tyr Thr Tyr Val Asn Gly Lys Thr Val Asp Thr Lys  
 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880  
 Glu Ala Ser Ser Glu Glu Phe Thr Asn Thr Lys Ser Val Phe Thr Glu  
 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975  
 Ser Lys Glu Met Gly Arg Asn Ile Gly Tyr Phe Phe Phe Lys Asp Ser  
 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070  
 Phe Ile Asp Ile Glu Arg Lys His His Thr Gly Phe Ser Asp Ser Ile  
 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165  
 Asn Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Asp Phe Ile Thr  
 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260  
 Phe Ser Glu Lys His Asn Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Tyr Met Met  
 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355  
 Val Phe Asn Ile Asp Arg Thr Ser Thr Asp Lys Ser Ala Asn Ser Lys  
 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450  
 His Val His Leu Ser Glu Asn Ser Ser Lys Glu His Val Ile Tyr Asp  
 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545  
 Lys Asn Ser Glu Thr Thr Ala Val Ile Lys His Asp Asn Glu Glu Ser  
 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640  
 Ser Ile Asp Asn Glu Phe Lys Met Asn Lys Ala Gly Leu Tyr Ser Val  
 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735  
 His Lys Val Gly Asp Asp Tyr His Asn Val Lys Lys His Asp Thr Thr  
 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830  
 Met Thr Lys Thr Asp Glu Leu Ala His  
 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925

- <210> 73
- <211> 984
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus agalactiae serotip III

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 73  
 Met Lys Glu Val Val Asp Asn Glu Thr Ser Asn Lys Glu Leu Val Lys  
 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90  
 Asn Gly Asp Phe Asn Phe His Asn Pro Val Ser Gly Ser Lys Ser His  
 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180

208 Ser Ala Arg Leu Trp Ser Ala Trp Ile Asp Lys Glu Asp Thr Ala  
 21  
 211 Asp Lys Ser Thr Leu Trp Leu Asp Thr Glu Glu Gly Asp Val Asp Leu  
 22  
 214 Ser Ser Asp Lys Lys Phe Arg Gly Asp Val Thr Glu Lys Val Asp Thr  
 23  
 217 Asp Pro Thr Lys Lys Lys Leu Val Lys Phe Asp Ile His Thr Ser Asp  
 24  
 220 Lys Ala Gly Ser Ala Phe Leu Arg Ile Met Glu Lys Lys Asp Asp Asp  
 25  
 223 Ile Arg Leu Asp Leu Ser Phe Met Lys Ser Gly Thr Ser Asp Lys His  
 26  
 226 Thr Trp Trp Lys Trp Tyr Ser Pro Tyr Trp Asn Val Ser Glu Val Thr  
 27  
 229 Leu Glu Trp Tyr Ser Leu Lys Gly Gly Thr Glu Ser Ala Thr Lys Asp Asp  
 28  
 232 Ile Ser Met Lys Ala Lys Gly Pro Tyr Asp Ser Glu His Pro Leu Pro  
 29  
 235 Val Thr Ser His Ile Leu Leu Ser Val Asp Thr Ala Leu Asp Lys Asp  
 30  
 238 Tyr Val Phe Asp Lys Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Ser His Asp Pro Ser  
 31  
 241 Leu Gly Lys Ile Val Lys Gly Ile Leu Lys Pro Asp Ala Thr Gly Ser  
 32  
 244 Thr Thr Val Lys Trp Ser Ser Tyr Ser Gly Tyr Trp Trp Leu Ser Val  
 33  
 247 Pro Thr Ser Val Thr Asn Ser Thr Thr Glu Asp Tyr Trp Thr Leu Ser Trp  
 34  
 250 Asp Tyr Thr Asp Ser Val Thr Ile Gly Asn His Val Tyr Asp Thr Ser  
 35  
 253 Asp Ser Asn Met Leu Lys Trp Asn Glu Tyr Leu Asp Glu Thr Asp Ala  
 36  
 256 Lys Asn Ile Lys Thr Lys Lys Leu Asp Ser Asn His Thr Ser Ser Tyr  
 37  
 259 Lys Asp Leu Asp Asn Leu Asn Asn Val Ala Glu Leu Thr Ala Thr Lys  
 38  
 262 Arg Arg Leu Ser Asp Ser Ala Lys Glu Ile Thr Asp Leu His Ser Lys  
 39  
 265 Ile Tyr Lys Asn Ser Lys Ala Ile Asp Val Val Lys Ser Ser Leu Ala  
 40  
 268 Ile Leu Asn Ser Asn Phe Lys Asn Val Asp Lys Asp Leu Ser Gly Ser  
 41  
 271 Ala Asn Thr Thr Asp Phe Leu Ile Glu Val Pro Arg Ser Lys Thr Ala  
 42  
 274 Thr Leu Ala Leu Met Ser Asn Tyr Ile Thr Asp Ala Glu Lys Lys Thr  
 43  
 277 Tyr Thr Asp Ser Trp Leu Leu His Pro Val Pro Asp Ala Gly Thr Thr Ser  
 44  
 280 Lys Thr Ser Asp Asn Pro Phe Lys Ala Ser Gly Gly Asp Leu Val Asp  
 45  
 283 Met Gly Arg Val Lys Ile Ile Ile Ile Glu Leu Leu Arg Lys Asp Asp Lys  
 46  
 286 Ile Ile Glu Lys Thr Ser His Ser Leu Lys Asn Leu Phe Thr Lys Ala  
 47  
 289 Thr Tyr Ala Gly Gly Thr Tyr Ala Ser Gly Ser Tyr Trp Asp Thr Thr  
 48  
 292 Asp Val Ala Tyr Thr Gly Ser Tyr Gly Asn Val Thr Trp Asp Gly Trp  
 49  
 295 Thr His Trp Leu Trp Trp Trp Ala Glu Thr Asp Tyr Lys Lys Ser Asp  
 50  
 298 Glu Glu Leu Asp Met Val Lys Lys Arg Ile Asn Glu Ser Phe Ser Pro  
 51  
 301 Leu Ile Val Lys Gly Leu Leu Met Arg Met Ser Arg Gly Arg Ser Ile

```

530          535          540
Ser Arg Glu Ala Ala Ser Ser His Ala Ala Ala Val Gln Val Leu Arg
545
Gly Phe Leu Arg Leu Ala Asn Met Ser Asn Gln Gln Arg Asn Leu Asp
555
Leu Lys Ser Thr Leu Lys Thr Ile Ile Thr Ser Asn Lys Phe Tyr Asn
560
Val Phe Asn Asn Lys Lys Ser Tyr Ser Asp Gln Ala Asn Met Asn Lys
565
Met Leu Asn Asp Ser Thr Val Ala Thr Tyr Lys Pro Leu Lys Ser Asn Leu
570
Ser Thr Phe Asn Ser Met Asn Arg Leu Ala Tyr Tyr Asn Ala Glu Lys
575
Asp Phe Gly Phe Ala Lys Ser Leu His Ser Lys Arg Ser Leu Asn Tyr
580
Gln Gly Met Asn Asp Gln Asn Thr Arg Asp Ser Lys Ser Gly Asn Gly
585
Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Ser Asp Gln Ser His Tyr Ser Asn His Thr
590
Arg Pro Thr Val Asn Pro Lys Lys Met Ala Gly Thr Ser Gln Lys Asp
595
Ala Lys Arg Gln Asp Thr Thr Lys Gln Thr Met Ser Lys His Ser Lys
600
Asp Ala Lys Gln Lys Thr Gly Gln Val Thr Gly Thr Ser Asn Thr Val
605
Gly Ser Val Lys Lys Lys Asn Asp His Phe Ala Lys Lys Ala Met Asp Thr
610
Thr Asn Arg Asp Arg Thr Asn Thr Ala Gln Lys Gly Arg Val Thr Leu
615
Asn Arg Lys Ile Val Phe Leu Gly Ser Asn Ile Lys Asn Thr Asn Gly
620
Phe Gly Asn Val Ser Thr Thr Ile Asn Gln Arg Lys Asn Asn Ser Lys
625
Thr Pro Tyr Thr Thr Tyr Val Asn Gly Lys Thr Phe Asn Leu Lys Gln
630
Ala Ser Ser Gln Gln Phe Thr Asn Thr Lys Ser Val Phe Leu Glu Ser
635
Lys Gln Lys Gly Arg Asn Leu Gly Tyr Ile Phe Phe Lys Asn Ser Thr
640
Phe Asn Ile Gln Arg Lys Gln Gln Thr Gly Thr Arg Asn Ser Ile Asn
645
Arg Thr Ser Lys Asn Thr Ser Ile Val Ser Asn Pro Phe Ile Thr Ile
650
Ser Gln Lys His Asp Asn Lys Gly Asp Ser Tyr Gly Lys Met Met Val
655
Pro Asn Ile Asp Arg Thr Ser Phe Asp Lys Ser Ala Asn Ser Lys Gln
660
Val Glu Leu Leu Gln Asn Ser Ser Lys Gln Gln Val Ile Tyr Asn Lys
665
Asn Ser Gln Thr Trp Ala Val Ile Lys His Asp Asn Gln Gln Ser Ser
670
Phe Asn Asn Gln Thr Lys Met Asn Lys Ala Gly Ser Lys Leu Val Gln
675
Lys Val Gly Asn Asp Tyr Gln Asn Val Tyr Tyr Gln Pro Gln Thr Met
680
Thr Lys Ser Asp Gln Lys Ala Ile
980

```

- <210> 74
- <211> 807
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş COL)
  
- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz
  
- 10 <400> 74



Met 1	Thr	Tyr	Arg	Ile	Leu	Leu	Trp	Gln	Leu	Leu	Sec	Thr	Ile	Thr	Leu
Met 2	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Thr	Leu	Asn	Gly	Gly	Glu	Phe	Arg	Ser	Val
Asn 3	Lys	Phe	Gln	Ile	Ala	Val	Ala	Asn	Thr	Asn	Val	Gln	Thr	Pro	Asp
Tyr 4	Glu	Lys	Leu	Arg	Asp	Trp	Trp	Leu	Asp	Val	Asp	Tyr	Gly	Tyr	Asp
Lys 5	Tyr	Asn	Glu	Asp	Asp	Phe	Asp	Met	Lys	Lys	Lys	Phe	Asp	Ala	Thr
Glu 6	Lys	Glu	Ala	Thr	Asp	Leu	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Thr	Glu	Ser	Gly
Arg 7	Lys	Tyr	Leu	Trp	Ser	Gly	Ala	Glu	Thr	Leu	Glu	Thr	Asn	Ser	Ser
His 8	Met	Thr	Arg	Thr	Tyr	Arg	Asp	Ile	Glu	Lys	Phe	Ala	Glu	Ala	Met
Arg 9	Asn	Pro	Lys	Thr	Thr	Leu	Asn	Thr	Asp	Glu	Asp	Lys	Lys	Lys	Val
Lys 10	Asn	Ala	Leu	Glu	Trp	Leu	Phe	Lys	Asp	Ala	Thr	Gly	Lys	Glu	Pro
Asn 11	Lys	Lys	Val	Lys	Glu	Leu	Ser	Glu	Asp	Phe	Thr	Lys	Thr	Thr	Gly
Lys 12	Asn	Thr	Asn	Leu	Asp	Thr	Thr	Asp	Tyr	Glu	Phe	Gly	Thr	Pro	Lys
Ser 13	Leu	Thr	Asp	Thr	Leu	Ile	Leu	Leu	Asp	Asp	Glu	Phe	Ser	Asp	Glu
Glu 14	Lys	Lys	Lys	Phe	Thr	Ala	Pro	Ile	Lys	Thr	Phe	Ala	Pro	Asp	Ser
Asn 15	Lys	Ile	Leu	Ser	Ser	Val	Gly	Lys	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys	Gly	Gly
Asn 16	Leu	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Val	Lys	Leu	Leu	Glu	Cys	Ile	Ile	Glu
Glu 17	Asn	Lys	Asp	Met	Met	Lys	Lys	Ser	Ile	Asp	Ser	Thr	Asn	Lys	Val
Phe 18	Thr	Tyr	Val	Glu	Asp	Ser	Ala	Thr	Gly	Lys	Glu	Arg	Asn	Gly	Phe
Tyr 19	Lys	Asp	Gly	Ser	Tyr	Phe	Asp	Phe	Glu	Asp	Val	Thr	Tyr	Thr	Gly
Ala 20	Tyr	Gly	Val	Val	Arg	Asp	Glu	Gly	Ile	Ser	Gln	Met	Met	Pro	Met
Ile 21	Lys	Glu	Thr	Pro	Phe	Asp	Asp	Lys	Thr	Glu	Asp	Asp	Thr	Thr	Leu
Lys 22	Ser	Thr	Ile	Asp	Asp	Gly	Phe	Met	Pro	Leu	Ile	Tyr	Lys	Gly	Glu
Met 23	Met	Asp	Leu	Ser	Arg	Gly	Arg	Ala	Ile	Met	Arg	Gln	Asn	His	Thr
Ser 24	His	Ser	Ala	Ser	Ala	Trp	Val	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Arg	Leu	Ser
Asn 25	Ala	Met	Asp	Asp	Ser	Thr	Lys	Ala	Lys	Tyr	Lys	Lys	Ile	Val	Lys
Ser 26	Ser	Val	Glu	Ser	Arg	Ser	Arg	Tyr	Lys	Gln	Asp	Asp	Tyr	Leu	Asp
Ser 27	Tyr	Ser	Asp	Ile	Asp	Lys	Met	Lys	Ser	Leu	Met	Thr	Asp	Asp	Ser
Ile 28	Ser	Lys	Asp	Gly	Leu	Thr	Gln	Leu	Lys	Phe	Tyr	Asn	Asp	Met	
Asp 29	Arg	Val	Thr	Tyr	His	Asp	Lys	Asp	Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Gly	Leu

Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu  
 475 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490  
 Asn Leu Lys Gly Asp His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asn  
 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505  
 Ser Asp Val Lys His Tyr His Asp Asn Phe Arg Val Thr Ala Asp Met  
 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520  
 Lys Asn Leu Ser Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asn Ser Ile Leu Lys Asp  
 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535  
 Thr Asp Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val  
 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550  
 Asp Asp His His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe His Asn His Asp Lys  
 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565  
 Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Ser Ile Thr Asn Asp Lys Ile Val  
 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580  
 Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val  
 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595  
 Ser Ser Ile His Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Ser Leu Tyr Thr Asp  
 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610  
 Asp Lys His Thr Thr Asn Ser Asn Asn His His Asn Asn Ser Val Phe  
 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625  
 Met Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Met Asp  
 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640  
 Lys Phe Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Thr Lys  
 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655  
 Glu Ile Asn Lys Ser Glu Lys Asn Thr Glu Lys Thr Asn Glu Tyr Tyr  
 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670  
 Glu Val Thr Glu Lys His Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val  
 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685  
 Leu Tyr Phe Gly Leu Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Glu  
 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700  
 Val Thr Val Val Lys Glu Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asn  
 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715  
 Ser Ser Val Thr Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Glu Thr Phe  
 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730  
 Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val His Val Lys Ala Lys Gly Met Ser Ile  
 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745  
 Met Lys Lys Lys Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro  
 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760  
 His Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asn Ile His Ser Lys Ile Ser Met Thr  
 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775  
 Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly  
 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790  
 Val His Thr Glu Ser Thr Lys  
 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800

- <210> 75
- <211> 420
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş MRSA252)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 75  
 Met Thr Tyr Arg Met Lys Lys Asp Glu Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu  
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15  
 Ser Met Ala Gly Val Ile Ser Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Ile  
 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34  
 Asp Lys His Glu Thr Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Glu Thr Thr Asp  
 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49  
 Tyr His Lys Leu Arg Asn Ile Thr Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp  
 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60

Lys Tyr Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Glu Ala Thr  
 67 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140  
 Ser Asn Glu Ala Glu Lys Leu Leu Lys Glu Met Lys Thr Glu Ser Asp  
 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220  
 Arg Lys Tyr Leu Trp Glu Ser Ser Lys Asp Leu Asp Thr Lys Ser Ala  
 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300  
 Asn Val Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ser Glu Ala Met  
 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380  
 Lys His Lys Asn Thr Tyr Met Lys Thr Asp Glu Asp Lys Thr Lys Val  
 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460  
 Lys Asp Ala Leu Glu Trp Leu His Lys Asp Ala Tyr Gly Lys Glu Pro  
 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540  
 Asp Lys Lys Val Ala Asp Ser Thr Ser Asp Phe Lys Asp Lys Thr Ser  
 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620  
 Arg Asn Thr Asn Leu Asn Arg Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Thr Arg  
 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700  
 Ala Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Glu Glu Asp Phe Thr Asp Glu  
 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780  
 Glu Lys Lys Lys Tyr Thr Ala Leu Ile Lys Thr Phe Ala Leu Asp Ser  
 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860  
 Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ser Glu Pro Ala Lys Gly Gly  
 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940  
 Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Ser Thr Glu Ser Ile Ile Glu  
 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020  
 Thr Arg Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Phe Asn Thr Val  
 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100  
 Phe Thr Tyr Ala Glu Asn Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asn Gly Phe  
 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180  
 Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Glu Asp Val Pro Tyr Thr Gly  
 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260  
 Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Glu Met Met Phe Met  
 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340  
 Ile Lys Glu Thr Arg Pro Phe Asn Asp Ser Asn Glu Asn Asp Thr Thr Leu  
 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420  
 Lys Ser Thr Ile Asp Asp Gly Phe Met Thr Leu Ile Tyr Lys Gly Glu  
 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500  
 Met Met Asn Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu Thr  
 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580  
 Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Thr Leu Arg Leu Ser  
 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660  
 Asp Thr Met Asp Lys Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys  
 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740  
 Thr Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Lys Glu Thr Asp Tyr Leu Ser  
 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820  
 Ser Lys Ser Asp  
 420

- <210> 76
- <211> 806
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş MRSA252)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10 <400> 76  
 Met Thr Asn Lys Met Lys Lys Trp Glu Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu  
 10 15  
 Leu Met Thr Gly Val Ile Ala Leu Asn Asn Gly Glu Phe Arg Asn Val  
 20 25  
 Asp Lys His Glu Leu Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Glu Thr Pro Asp  
 30 35 40 45

Tyr 60  
 Gln 64  
 Gln 68  
 Arg 72  
 His 76  
 His 80  
 His 84  
 Arg 88  
 His 92  
 Arg 96  
 Arg 100  
 His 104  
 Arg 108  
 Arg 112  
 Arg 116  
 Arg 120  
 Arg 124  
 Arg 128  
 Arg 132  
 Arg 136  
 Arg 140  
 Arg 144  
 Arg 148  
 Arg 152  
 Arg 156  
 Arg 160  
 Arg 164  
 Arg 168  
 Arg 172  
 Arg 176  
 Arg 180  
 Arg 184  
 Arg 188  
 Arg 192  
 Arg 196  
 Arg 200  
 Arg 204  
 Arg 208  
 Arg 212  
 Arg 216  
 Arg 220  
 Arg 224  
 Arg 228  
 Arg 232  
 Arg 236  
 Arg 240  
 Arg 244  
 Arg 248  
 Arg 252  
 Arg 256  
 Arg 260  
 Arg 264  
 Arg 268  
 Arg 272  
 Arg 276  
 Arg 280  
 Arg 284  
 Arg 288  
 Arg 292  
 Arg 296  
 Arg 300  
 Arg 304  
 Arg 308  
 Arg 312  
 Arg 316  
 Arg 320  
 Arg 324  
 Arg 328  
 Arg 332  
 Arg 336  
 Arg 340  
 Arg 344  
 Arg 348  
 Arg 352  
 Arg 356  
 Arg 360  
 Arg 364  
 Arg 368  
 Arg 372  
 Arg 376  
 Arg 380  
 Arg 384  
 Arg 388  
 Arg 392  
 Arg 396  
 Arg 400  
 Arg 404  
 Arg 408  
 Arg 412  
 Arg 416  
 Arg 420  
 Arg 424  
 Arg 428  
 Arg 432  
 Arg 436  
 Arg 440  
 Arg 444  
 Arg 448  
 Arg 452  
 Arg 456  
 Arg 460  
 Arg 464  
 Arg 468  
 Arg 472  
 Arg 476  
 Arg 480  
 Arg 484  
 Arg 488  
 Arg 492  
 Arg 496  
 Arg 500  
 Arg 504  
 Arg 508  
 Arg 512  
 Arg 516  
 Arg 520  
 Arg 524  
 Arg 528  
 Arg 532  
 Arg 536  
 Arg 540  
 Arg 544  
 Arg 548  
 Arg 552  
 Arg 556  
 Arg 560  
 Arg 564  
 Arg 568  
 Arg 572  
 Arg 576  
 Arg 580  
 Arg 584  
 Arg 588  
 Arg 592  
 Arg 596  
 Arg 600  
 Arg 604  
 Arg 608  
 Arg 612  
 Arg 616  
 Arg 620  
 Arg 624  
 Arg 628  
 Arg 632  
 Arg 636  
 Arg 640  
 Arg 644  
 Arg 648  
 Arg 652  
 Arg 656  
 Arg 660  
 Arg 664  
 Arg 668  
 Arg 672  
 Arg 676  
 Arg 680  
 Arg 684  
 Arg 688  
 Arg 692  
 Arg 696  
 Arg 700  
 Arg 704  
 Arg 708  
 Arg 712  
 Arg 716  
 Arg 720  
 Arg 724  
 Arg 728  
 Arg 732  
 Arg 736  
 Arg 740  
 Arg 744  
 Arg 748  
 Arg 752  
 Arg 756  
 Arg 760  
 Arg 764  
 Arg 768  
 Arg 772  
 Arg 776  
 Arg 780  
 Arg 784  
 Arg 788  
 Arg 792  
 Arg 796  
 Arg 800  
 Arg 804  
 Arg 808  
 Arg 812  
 Arg 816  
 Arg 820  
 Arg 824  
 Arg 828  
 Arg 832  
 Arg 836  
 Arg 840  
 Arg 844  
 Arg 848  
 Arg 852  
 Arg 856  
 Arg 860  
 Arg 864  
 Arg 868  
 Arg 872  
 Arg 876  
 Arg 880  
 Arg 884  
 Arg 888  
 Arg 892  
 Arg 896  
 Arg 900  
 Arg 904  
 Arg 908  
 Arg 912  
 Arg 916  
 Arg 920  
 Arg 924  
 Arg 928  
 Arg 932  
 Arg 936  
 Arg 940  
 Arg 944  
 Arg 948  
 Arg 952  
 Arg 956  
 Arg 960  
 Arg 964  
 Arg 968  
 Arg 972  
 Arg 976  
 Arg 980  
 Arg 984  
 Arg 988  
 Arg 992  
 Arg 996  
 Arg 1000

585  
 Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Leu Leu Asn Asp Lys Phe Val Phe Leu Gly  
 585  
 Thr Gly Phe Lys Ser Thr Asn Ser Ser Lys Asn Phe Val Thr Ser Val  
 586  
 Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Lys Leu Phe Lys Asp Asp Ile Glu  
 587  
 Phe Thr Thr Ser Asp Val Asn Ala Gln Gln Thr His Ser Val Phe Leu  
 588  
 Glu Ser Asn Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp Lys  
 589  
 Phe Lys Ile Thr Val Lys Lys Gln Ser His Thr Gly Lys Thr Ser Glu  
 590  
 Ile Asn Lys Ser Gln Lys Lys Asp Asp Lys Lys Asp Gln Tyr Tyr Glu  
 591  
 Val Thr Gln Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val Leu  
 592  
 Lys Phe Gly Leu Ser Lys Ser Asp Ser Lys Ser Lys Asn Asn Asn Val  
 593  
 Ser Ile Val Lys Gln Asp Ser Asp Phe His Val Ile Lys Asp Asn Asp  
 594  
 Gly Val Ser Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Asn Thr Lys Ser Phe Asp  
 595  
 Ile Asn Gly Ile Thr Val Val Val Leu Lys Gln Lys Gly Met Phe Val Ile  
 596  
 Lys Lys Lys Asp Asp Lys Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Tyr Asn Phe Glu  
 597  
 Arg Ser Asn Thr Ala Ser Asn Ile Gln Ser Lys Ile Phe Ile Lys Gly  
 598  
 Lys Ser Ile Thr Asn Lys Ser Val Ile Asn Ser Asn Asn Ala Gly Val  
 599  
 Asn Phe Gln Leu Thr Lys  
 801

- <210> 77
- <211> 815
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş MSSA476)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10 <400> 77  
 Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Gln Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu  
 1  
 Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Ser Phe Arg Ser Ile  
 20  
 Asp Lys Tyr Gln Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Gln Thr Phe Asp  
 35  
 Tyr Gln Lys Leu Arg Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp  
 50  
 Lys Lys Asp Gln Lys Asn Arg Ala Met Lys Lys Lys Phe Gln Ala Thr  
 65  
 Thr Asn Gln Ala Lys Lys Leu Leu Ser Gln Met Lys Thr Gln Ser Asp  
 80  
 Arg Lys Tyr Leu Trp Gln Asn Ser Lys Asp Arg Asp Thr Lys Ser Ala  
 95  
 Asp Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asp Ile Gln Lys Le Ala Gln Ala Met  
 110  
 Lys His Lys Asp Thr Lys Leu Lys Ile Asp Gln Asn Lys Lys Lys Val  
 125  
 Lys Asn Ala Leu Thr Trp Leu His Lys Asn Ala Lys Gly Lys Thr Pro  
 140



Ser Asp Ile Asn Lys Ser Ser Lys Glu Asp Ser Lys Thr Asn Glu Tyr  
 668 669 670  
 Tyr Glu Val Thr Glu Lys His Ser Asn Thr Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr  
 671 672 673 674 675  
 Val Leu Tyr Phe Gly Leu Ser Lys Asp Asp Phe Asn Thr Lys Lys Asp  
 676 677 678 679 680  
 Lys Val Thr Val Val Lys Leu Asn Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp  
 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720  
 Ser Glu Ser Val Asp Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Ser Thr Glu Thr  
 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739  
 Phe Ile Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Phe  
 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759  
 Leu Leu Lys Lys Lys Asp Asn Lys Thr Tyr Glu Lys Ser Phe Tyr Asp  
 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779  
 Pro Glu Ser Thr Asp Phe Ala Ser Asn Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met  
 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800  
 Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asp Thr Ser Thr Ser Asp Glu Ser  
 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822  
 Gly Val Arg Phe Glu Ser Ala Ala Thr Leu Asn Lys Asn Asp Asn  
 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845

- <210> 78
- <211> 807
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş NCTC 8325)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 78  
 Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Trp Glu Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu  
 5 10 15  
 Leu Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Phe Phe Arg Ser Val  
 20 25 30  
 Asp Lys His Glu Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Glu 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 Lys Asp Glu Asn Asn Pro Asp Met Lys Lys Lys Phe Asp Ala Thr  
 65 70 75 80  
 Thr 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 Thr Thr Asn Ser Ser  
 100 105 110  
 His Met Thr Arg Thr Lys Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met  
 115 120 125  
 Arg Asn Thr 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 Lys Gly Lys Glu Pro  
 145 150 155 160  
 Asp Lys Lys Val Lys Glu Leu Ser Glu Asn Phe Thr Lys Thr Thr Gly  
 165 170 175 180  
 Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro Lys  
 185 190 195  
 Ser Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Asn Asp Phe Phe Ser Asn Glu  
 200 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225  
 Ser Lys Lys Lys Phe Thr Ala Phe Ile Lys Thr Phe Ala Phe Asp Ser  
 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245  
 Asp Lys Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Asn Ala Lys Gly Gly  
 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000

010 Asp Lys Asp Met Met Lys Lys Ser Ile Asp Ser Thr Asp Lys Val  
 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304  
 Pro Thr Tyr Val Ser Asp Ser Ala Thr Gly Lys Glu Arg Asp Gly Ser  
 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319  
 Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ala Asp His Glu Asp Val Thr Tyr Thr Lys  
 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334  
 Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Val Lys Ile Ser Glu Met Met Ser Met  
 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349  
 Ile Lys Glu Thr Ser Phe Ser Asn Asp Lys Thr Glu Asn Asp Thr Thr Leu  
 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364  
 Lys Ser Thr Ile Asp Asp Gly Phe Met Ser Leu Ile Tyr Lys Gly Ser  
 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379  
 Met Met Asp Thr Ser Ala Gly Arg Ala Thr Ser Asp Glu Arg Gly Thr  
 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394  
 Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Val Lys Ser Ile Thr Arg Leu Ser  
 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409  
 Asn Ala Met Asp Asp Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Lys Ile Val Lys  
 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424  
 Ser Ser Val His Ser Asp Ser Ser Ser Tyr Lys Glu Asn Asp Tyr Leu Asn  
 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439  
 Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Leu Met Thr Asp Asn Ser  
 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454  
 Ile Ser Lys Asn Gly Leu Thr Val Val Leu Lys Ile Tyr Asn Asp Ser  
 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469  
 Asp Arg Val Thr Tyr Thr Arg Tyr Arg Thr Asp Phe Ala Phe Gly Leu  
 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484  
 Ser Met Thr Ser Lys Arg Val Ala Arg Arg Tyr Glu Ser Ile Asn Gly Glu  
 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499  
 Asp Thr Lys Gly Thr Thr Thr Gly Arg Ala Gly Met Ser Tyr Thr Ser  
 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514  
 Ser Asp Val Lys Phe Tyr His Asp Asn Thr Thr Thr Val Thr Asn Asp Met  
 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529  
 Lys Arg Ser Ser Gly Ser Thr Thr Thr Thr Leu Asp Asn His Ile Leu Lys Asp  
 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544  
 Thr Arg Asp Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys Val  
 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559  
 Asp Asp Glu His Ala Ser Ser Leu Gly Met Asp Phe Glu Asn Ser Asp Lys  
 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574  
 Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val  
 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589  
 Phe Leu Gly Thr Ser Leu Lys Ser Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val  
 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604  
 Thr Thr Ile Glu Asp Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Tyr Thr Ile Tyr Thr Asp  
 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619  
 Asn Lys Glu Thr Thr Asn Ser Asp Asn Glu Glu Asn Asp Ser Val Thr  
 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634  
 Thr Thr Ser Thr Asp Thr Ser Lys Asn Ile Gly Tyr His Thr Leu Asn  
 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649  
 Lys Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Thr Lys  
 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664  
 Glu Ile Asn Lys Ser Thr Lys Asp Thr Glu Lys Thr Asp His Tyr Tyr  
 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679  
 Glu Val Thr Ser Lys Asn Ser Asn Ser Asp Asn Lys Tyr Gly Tyr Val  
 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694  
 Thr Tyr Thr Gly Leu Ser Tyr Ser Val Thr Lys Thr Tyr Lys Asp Gly  
 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709  
 Val Thr Val Val Lys Gly Gly Ser Asn Ser Thr Phe Val Val Tyr Asp Ser  
 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724  
 Glu Ser Val Thr Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asn Ser Thr Thr Thr Thr  
 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739  
 Asp Ile Asn Asn Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Thr Ile  
 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754  
 Leu Lys Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Lys Ser Thr Tyr Asn Ser  
 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769  
 Ser Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser Met Thr  
 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784  
 Gly Tyr Ser Ile Thr Asn Lys Asn Thr Ser Thr Ser Asn Glu Ser Gly  
 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799  
 Val His Phe Glu Leu Thr Lys  
 800



<211> 809  
 <212> PRT  
 <213> Staphylococcus aureus (suş büyükbaş hayvan RF122)

5 <220>

<223> hiyalüronan liyaz

<400> 79

```

Met Thr Tyr Arg Met Lys Lys Trp Glu Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu
1      5      10      15
Leu Met Ala Gly Gly Leu Thr Phe Asn Asp Ser Glu Phe Arg Ser Val
20     25     30     35     40
Asp Lys His Glu Ile Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Glu Thr Pro Asn
45     50     55     60     65     70
Tyr Glu Lys Leu Lys Asn Thr Trp Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp
75     80     85     90     95
Lys Tyr Asp Glu Ser Asn Phe Asp Met Lys Lys Lys Phe Glu Ala Thr
100    105    110    115    120
Glu Lys Glu Ala Arg Lys Leu Leu Ser Glu Met Lys Thr Glu Ser Asp
125    130    135    140    145
Arg Lys Tyr Leu Trp Glu Asn Ser Lys Asp Leu Asp Thr Lys Ser Ala
150    155    160    165    170
Asp Met Thr Arg Thr Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Glu Ala Met
175    180    185    190    195
Lys His Phe Lys Thr Thr Leu Lys Asn Asp Glu Asn Lys Lys Lys Val
200    205    210    215    220
Lys Asn Ala Leu Glu Phe Leu Val Lys Asp Ala Thr Gly Lys Glu Pro
225    230    235    240    245
Gly Lys Lys Val Ala Asp Leu Lys Thr Asn Phe Ser Lys Ser Ala Pro
250    255    260    265    270
Glu Lys Asn Thr Asn Leu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Pro
275    280    285    290    295
Arg Ala Leu Thr Asn Thr Leu Ile Leu Leu Tyr Glu Asn Thr Thr Asp
300    305    310    315    320
Glu Glu Lys Lys Lys Tyr Thr Ala Phe Ile Lys Thr Phe Ala Pro Lys
325    330    335    340    345
Ser Asp Glu Ile Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Ser Phe Ala Lys Gly
350    355    360    365    370
Lys Asn Leu Val Asp Ile Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Ser Ile Ile
375    380    385    390    395
Glu Glu Asp Lys Asp Met Met Lys Asn Ser Ile Asp Ser Phe Asn Lys
400    405    410    415    420
Val Phe Ser Tyr Val Glu Asp Ser Ala Thr Asp Lys Glu Asn Asn Gly
425    430    435    440    445
Phe Tyr Lys Asp Gly Ser Tyr Ile Asp His Lys Asp Val Phe Tyr Thr
450    455    460    465    470
Gly Ala Tyr Gly Val Val Leu Leu Glu Gly Ile Ser Glu Met Met Pro
475    480    485    490    495
Met Ile Lys Glu Thr Pro Phe Asn Asp Lys Thr Glu Asn Asn Thr Thr
500    505    510    515    520
Leu Thr Ser Trp Ile Asp Asp Gly Phe Met Phe Leu Ile Tyr Lys Gly
525    530    535    540    545
Glu Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala Ile Ser Arg Glu Asn Glu
550
  
```

```

355                               360                               365
Trp Ser His Ser Ala Ser Ala Thr Val Met Lys Ser Ser Leu Leu Arg Leu
370
Ser Asp Ala Met Asp Glu Ser Thr Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Ile Val
385
Lys Asn Ser Val Lys Ser Asn Ser Ser Tyr Gly Glu Asn Asp Thr Leu
400
Ser Ser Tyr Ser Asp Ile Asp Lys Met Lys Ser Ser Met Thr Asp Ser
420
Asn Ile Ser Thr Asn Gly Ser Thr Glu Glu Leu Lys Ile Tyr Asn Ala
435
Met Asn Arg Val Thr Tyr His Asn Lys Asp Leu Asp Phe Ala Phe Gly
450
Leu Ser Met Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Lys Glu Asn Ile Asp Gly
465
Glu Asn Leu Lys Gly Arg His Tyr Arg Asp Asp Phe Arg Ala Thr Ala Asp
480
Asn Ser Asp Val Arg His Tyr Arg Asp Asp Phe Arg Ala Thr Ala Asp
500
Met Lys Arg Leu Ala Asp Ser Thr Thr Thr Ser Glu Asn Glu Glu Thr Lys
515
Gly Ser Asp Val Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Lys
530
Phe Asn Asp Glu His Ala Ser Ile Gly Met Asp Phe Glu Asn Ile Asp
545
Lys Ser Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Ser Asn Asp Lys Ile
560
Val Phe Leu Gly Thr Gly Leu Lys Thr Thr Asp Ser Ser Lys Asn Phe
580
Val Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Ala His Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr
605
Asn Asp Lys Glu Thr Thr Asn Ser Asn Asp Glu Glu Thr Asn Ser Val
610
Phe Leu Glu Ser Thr Asn Ser Thr Glu Asn Asn Phe Gly Tyr His Phe
625
Leu Asn Lys Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys
640
Arg Ser Asp Ile Asn Lys Ser Glu Lys Asp Thr Glu Lys Thr Asp Glu
660
Tyr Tyr Glu Val Thr Glu Lys His Ser Asp Thr Asp Asp Lys Tyr Ala
675
Tyr Val Leu Tyr Phe Gly Thr Thr Lys Asp Asn Phe Lys Ser Lys Ala
690
Ser Glu Val Thr Val Val Lys Glu Asp Asp Asp Phe His Val Val Lys
705
Asn Asn Glu Ser Val Arg Ala Gly Val Asp Lys Ser Asn Ser Thr Glu
720
Asn Phe Asp Ile Asn Gly Ser Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met
740
Phe Ile Leu Lys Lys Lys Asp Asn Thr Lys Glu Lys Ser Ser Lys
765
Asn Phe Glu Ser Thr Asn Ser Ala Ser Asp Ile Glu Ser Lys Ile Ser
780
Met Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Asn Lys Asn Thr Ser Asn Thr Asn Glu
795
Ser Gly Val Arg Phe Glu Leu Thr Lys
801

```

- <210> 80
- <211> 807
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş büyükbaş hayvan RF122)
- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz
- 10 <400> 80

Met 1	Thr	Tyr	Lys	Met	Lys	Lys	Trp	Gln	Lys	Leu	Sec	Trp	Ile	Thr	Leu
Met 2	Met	Ala	Gly	Val	Ile	Thr	Leu	Asn	Asp	Gly	Glu	Pro	Arg	Asp	Val
Asp	Lys	Met	Gln	Ile	Ala	Val	Ala	Asn	Thr	Asp	Val	Gln	Thr	Pro	Asp
Tyr	Glu	Lys	Leu	Lys	Lys	Trp	Trp	Leu	Asp	Val	Asp	Tyr	Gly	Asp	Asp
Gln	Tyr	Asp	Glu	Asp	Asp	Gln	Asp	Met	Lys	Lys	Lys	Pro	Asp	Ala	Lys
Glu	Asp	Glu	Ala	Lys	Lys	Leu	Leu	Glu	Asp	Met	Lys	Thr	Asp	Thr	Asp
Arg	Thr	Tyr	Leu	Trp	Ser	Gly	Ala	Glu	Asp	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Ser
His	Met	Thr	Lys	Thr	Tyr	Arg	Asp	Ile	Glu	Lys	Ile	Ala	Glu	Ala	Met
Arg	His	Lys	Asp	Thr	Ser	Leu	Lys	Thr	Asp	Glu	Asp	Lys	Leu	Lys	Ile
Lys	Asp	Ala	Ile	Lys	Trp	Leu	His	His	Asp	Val	Tyr	Gly	Lys	Asp	Pro
Asp	Lys	Lys	Val	Ala	Asp	Leu	Thr	Thr	Asp	Arg	Lys	Glu	Lys	Asp	Ser
Ser	Lys	Lys	Asp	Asp	Ser	Leu	Asp	Thr	Trp	Asp	Tyr	Glu	Ile	Gly	Thr
Pro	Arg	Ala	Leu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Met	Asp	Asp	Met	Leu	Thr
Lys	Asp	Glu	Met	Lys	Asp	Tyr	Ser	Lys	Pro	Ile	Ser	Ile	Tyr	Ser	Pro
Ser	Ser	Tyr	Lys	Ile	Leu	Ser	Ser	Val	Gly	Glu	Ser	Glu	Asp	Ala	Lys
Gly	Gly	Asp	Leu	Val	Asp	Ile	Ala	Lys	Val	Lys	Pro	Leu	Glu	Ser	Val
Ile	Glu	Glu	Asp	Val	Asp	Met	Met	Lys	Lys	Ser	Ile	Asp	Ser	Pro	Asp
Lys	Val	Thr	Thr	Tyr	Val	Gln	Asp	Ser	Ala	Thr	Gly	Lys	Ala	Arg	Asp
Gly	Pro	Tyr	Lys	Asp	Gly	Ser	Tyr	Ile	Asp	His	Gln	Asp	Val	Pro	Tyr
Arg	Gly	Ala	Tyr	Gly	Val	Val	Leu	Leu	Glu	Gly	Ile	Ser	Gln	Met	Met
Pro	Met	Ile	Lys	Glu	Ser	Pro	Pro	Lys	His	Thr	Gln	Asp	Lys	Ala	Thr
Met	Ser	Asp	Thr	Ile	Asp	Glu	Gly	Pro	Met	Pro	Leu	Ile	Tyr	Lys	Gly
Gln	Met	Met	Asp	Arg	Ser	Arg	Gly	Arg	Ala	Ile	Ser	Asp	Glu	Asp	Gln
Pro	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Ala	Thr	Val	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Arg	Leu
Ser	Asp	Thr	Met	Asp	Glu	Ser	Thr	Lys	Thr	Lys	Tyr	Lys	Gln	Ile	Val
Lys	Pro	Ser	Val	Lys	Ser	Asp	Arg	Arg	Tyr	Asp	Ser	Asp	Asp	Thr	Arg
Asp	Ser	Tyr	Ser	Asp	Ile	Asp	Lys	Met	Lys	Lys	Leu	Met	Asp	Asp	Ser
Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Leu	Thr	Gln	Gln	Leu	Lys	Ile	Tyr	Asp	Asp
Met	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	His	Asp	Lys	Gln	Arg	Asp	Pro	Ala	Ser	Gly
450						455					460				

Leu Ser Met Thr Ser Lys Asp Ile Ala Arg Tyr Glu Asp Ile Asp Gly  
 475 477  
 Ser Asp Leu Lys Gly Tyr His Thr Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr  
 485 487  
 Asp Ser Asp Val Lys His Lys Arg Asp Asn Phe Lys Ala Thr Ala Asp  
 500 502  
 Met Thr Arg Leu Pro Gly Thr Thr Thr Leu Asn Asp Met Ser Ser Thr  
 515 517  
 Asp Thr Lys Asn Asp Lys Ser Phe Val Gly Gly Thr Lys Leu Asn Asn  
 530 532  
 Lys Tyr Ala Ser Ile Gly Met Asp Thr Glu Asn Glu Asn Lys Thr Leu  
 545 547  
 Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Asn Asn Asp Lys Ile Val Ser Ile  
 560 562  
 Gly Ser Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Thr Ser  
 580 582  
 Val Glu Asn Arg Lys Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Phe Lys Gly Asp Ile  
 595 597  
 Ala Ile Thr Thr Ser Asp Val Asn Ala Ile Glu Thr Phe Ser Val Phe  
 610 612  
 Met Glu Ser Asp Asp Thr Lys Lys Asn Ile Gly Tyr His Phe Leu Asp  
 625 627  
 Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Thr Ser  
 640 642  
 Glu Ile Asp Lys Ser Glu Lys Thr Asp Asp Lys Lys Asp Glu Tyr Tyr  
 660 662  
 Glu Val Thr Glu Thr His Asn Thr Ser Asp Ser Lys Tyr Ala Tyr Val  
 675 677  
 Leu Tyr Phe Gly Leu Ser Lys Ser Asp Phe Lys Ser Lys Asn Asn Asn  
 690 692  
 Val Ser Ile Val Lys Glu Asp Glu Asp Phe His Val Ile Lys Asp Asp  
 705 707  
 Asp Gly Val Phe Ala Gly Val Asn Tyr Ser Asp Ser Thr Lys Ser Phe  
 720 722  
 Asp Ile Asn Gly Thr Ile Val Glu Asn Lys Glu Lys Gly Met Thr Val  
 740 742  
 Leu Lys Lys Lys Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Cys Ser Phe Tyr Asn Pro  
 760 762  
 Thr Ser Thr Asn Ser Thr Ser Asn Lys Glu Ser Lys Ile Ser Val Thr  
 780 782  
 Gly Tyr Thr Ile Thr Asn Lys Ser Val Ser Asn Phe Lys Glu Ser Asp  
 800 802  
 Ile His Thr Glu Thr Thr Lys  
 805

- <210> 81
- <211> 807
- 5 <212> PRT
- <213> Staphylococcus aureus (suş USA300)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 81  
 Met Thr Tyr Arg Ile Lys Lys Asp Glu Lys Leu Ser Thr Ile Thr Leu  
 1 15  
 Ser Met Ala Gly Val Ile Thr Leu Asn Gly Gly Glu Phe Arg Ser Val  
 20 30  
 Asp Lys His Glu Thr Ala Val Ala Asp Thr Asn Val Glu Thr Pro Asp  
 35 45  
 Tyr Glu Lys Leu Arg Asn Thr Thr Leu Asp Val Asn Tyr Gly Tyr Asp  
 50 60

64 Tyr Tyr Asp Glu Asp Asp Ser Asp Met Tyr Tyr Lys Thr Asp Ala Thr 81  
 81 Glu Tyr Glu Ala Thr Asp Ser Leu Leu Tyr Glu Met Lys Thr Glu Ser Lys 97  
 97 Arg Lys Tyr Leu Thr Ser Lys Ala Ala Glu Thr Leu Glu Thr Asp Asp Ser Ser 113  
 113 Glu Met Thr Arg Thr Lys Arg Asp Glu Glu Lys Lys Ala Glu Ala Met 129  
 129 Asp Asp Asp Lys Thr Thr Leu Asp Leu Asp Glu Glu Asp Lys Lys Lys Val 145  
 145 Lys Asp Ala Leu Glu Lys Leu His Lys Asp Ala Lys Gly Lys Glu Asp 161  
 161 Asp Tyr Tyr Val Tyr Glu Ser Ser Glu Asp Phe Thr Tyr Thr Thr Gly 177  
 177 Tyr Asp Thr Asp Leu Asp Asp Thr Thr Asp Tyr Glu His Gly Thr Thr Lys 193  
 193 Ser Leu Thr Asp Thr Leu Thr Leu Leu Asp Asp Asp Glu Phe Ser Asp Val 209  
 209 Glu Tyr Lys Tyr Lys Thr Thr Ala Pro Glu Lys Thr Thr Phe Ala Lys Asp Ser 225  
 225 Asp Lys His Leu Ser Ser Val Gly Lys Ala Glu Leu Ala Lys Gly Gly 241  
 241 Asp Ser Val Asp His Ser Lys Val Lys Leu Leu Glu Lys His Glu Glu 257  
 257 Glu Asp Tyr Asp Met Met Tyr Tyr Ser Thr Asp Ser Phe Asn Tyr Val 273  
 273 Pro Thr Tyr Val Glu Asp Ser Ser Ala Thr Gly Tyr Glu Arg Asn Gly Thr 289  
 289 Ty Tyr Asp Gly Ser Tyr Thr Asp His Glu Asp Val Thr Tyr Thr Gly 305  
 305 Ala Tyr Gly Val Val Leu Ser Glu Gly Thr Ser Glu Met Met Thr Met 321  
 321 His Lys Glu Thr Thr Ser Asp Asp Asp Lys Lys Thr Asp Thr Thr Leu 337  
 337 Lys Ser Thr His Asp Asp Gly Phe Met Ser Leu His Tyr Lys Gly Glu 353  
 353 Met Met Asp Leu Ser Arg Gly Arg Ala His Ser Asp Glu Asp Glu Thr 369  
 369 Ser His Ser Ala Ser Ala His Val Met Lys Ser Leu Leu Asp Leu Ser 385  
 385 Asp Ala Met Asp Asp Ser His Lys Ala Lys Lys Lys Lys Leu Val Lys 401  
 401 Ser Ser Val Glu Ser Asp Ser Ser Tyr Tyr Glu Ser Asp Tyr Leu Asp 417  
 417 Ser Tyr Ser Asp Thr Asp Ser Ser Met Tyr Ser Ser Leu Met Thr Asp Asp Ser 433  
 433 His Ser Lys Asp Lys Leu Thr Thr Glu Glu Thr Tyr Lys His Tyr Asp Asp Met 449  
 449 Asp Arg Val Thr Tyr His Asp Lys Asp Leu Asp Phe Ala His Gly Leu 465  
 465 Ser Met Thr Ser Lys Asp Val Val Ala Arg Lys Glu Ser His Asp Gly Leu 481  
 481 Asp Leu Lys Gly Thr Asp His His Gly Ala Gly Met Ser Tyr Leu Tyr Asp 497  
 497 Ser Asp Val Tyr Thr Tyr Phe Asp Arg Thr Thr Val Thr Ala Asp Met 513  
 513 Tyr Asp Ser Ser Gly Thr Thr Thr Thr Leu Asp Asp Asp Glu His Thr Lys Asp 529  
 529 Thr Asp Asp Tyr Lys Lys Ser Ser Lys Thr Phe Val Gly Gly Thr Tyr Val 545  
 545 Asp Asp Glu Asp Ala Ser His Gly Met Arg Phe Glu Asp Glu Asp Lys 561  
 561 Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe His Leu Asp Asp Lys His Val

568  
 Phe Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser Lys Asp Pro Val  
 580  
 Thr Thr Ile Glu Asp Arg Lys Ala Asp Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr Asp  
 595  
 Asp Lys Gln Thr Thr Arg Ser Asp Asp Gln Glu Arg Asp Ser Val Phe  
 610  
 Met Glu Ser Thr Asp Thr Lys Lys Asp Ile Gly Tyr His Pro Met Asp  
 625  
 Lys Pro Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His Thr Gly Lys Trp Lys  
 645  
 Glu Ile Asp Lys Ser Gln Lys Asp Thr Gln Lys Thr Asp Glu Tyr Tyr  
 660  
 Glu Val Thr Gln Tyr His Ser Asp Ser Asp Asp Lys Tyr Gly Tyr Val  
 675  
 Met Tyr Pro Gly Met Ser Lys Asp Val Phe Lys Thr Lys Lys Asp Gln  
 690  
 Val Thr Val Val Tyr Gln Glu Asp Asp Phe His Val Val Lys Asp Asp  
 705  
 Glu Ser Val Thr Ala Gly Val Asp Tyr Ser Asp Ser Thr Gln Thr Phe  
 725  
 Asp Ile Asp Asp Thr Lys Val Glu Val Lys Ala Lys Gly Met Pro Ile  
 740  
 Met Lys Lys Lys Asp Asp Asp Thr Tyr Gln Cys Ser Phe Tyr Asp Pro  
 755  
 Glu Ser Thr Asp Ser Ala Ser Asp Ile Gln Ser Lys Ile Ser Met Thr  
 770  
 Gly Tyr Ser Ile Thr Asp Lys Asp Thr Ser Thr Ser Asp Glu Ser Gly  
 785  
 Val His Phe Glu Met Thr Lys  
 800

<210> 82

<211> 1066

5 <212> PRT

<213> Streptococcus pneumoniae

<220>

<223> hyaluronan liyaz

10

<400> 82

Met Gln Thr Lys Thr Lys Lys Leu Ile Val Ser Leu Ser Ser Leu Val  
 5  
 Leu Ser Gly Pro Leu Leu Asp His Tyr Met Thr Trp Gly Ala Gln Glu  
 20  
 Arg Thr Arg Asp Thr Lys Asp Asp Val Gln Ser Gln Lys Gln Val Gln Tyr Gln  
 35  
 Trp Arg Asp Thr Lys Asp Asp Val Gln Asp Gln Asp Phe Gly Gln Thr  
 50  
 His Asp Gly Ser Ser Pro Trp Ser Gly Ser Lys Ala His Gly Trp Ser  
 65  
 Ala Thr Val Asp Gln Lys Asp Ser Ala Asp Ala Ser Thr Asp Val Trp  
 80  
 His Ala Lys Asp Gly Ala Leu Ser Ile Ser Ser His His Lys Leu Arg  
 95  
 Ala His Leu Phe Arg Met Val Pro Ile Glu Ala Lys Lys Lys Tyr Lys  
 110  
 Leu Arg Phe Lys Ile Lys Thr Asp Asp Lys Ile Gly Ile Ala Lys Val  
 125  
 Arg Ile Ile Glu Gln Ser Gly Lys Asp Lys Arg Leu Trp Asp Ser Ala  
 140  
 Thr Thr Ser Gly Thr Lys Asp Trp Gln Thr Ile Gln Ala Asp Tyr Ser

				161						171							181
Pro	Thr	Leu	Met	Val	Asp	Tyr	Trp	Ile	Leu	Glu	Leu	Trp	Tyr	Glu	Thr		
189																	190
Gly	Thr	Gly	Thr	Val	Ser	Phe	Leu	Asp	Trp	Glu	Leu	Val	Glu	Val	Ala		
195																	205
Asn	Gln	Leu	Ser	Phe	Asp	Ser	Gln	Thr	Asp	Tyr	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys		
210																	220
Ile	Asn	Leu	Phe	Trp	Lys	Lys	Lys	His	Val	Phe	Leu	Leu	Ala	Asp	Tyr		
224																	247
Thr	Tyr	Lys	Val	Phe	Asp	Phe	Asp	Val	Ala	Ser	Val	Lys	Asn	Gly	Ile		
244																	255
Leu	Gln	Phe	Leu	Lys	Trp	Lys	Trp	Thr	Asp	Val	Leu	Val	Phe	Lys	Asn		
259																	270
Gly	Lys	Ala	Val	Lys	Lys	Ala	Phe	Leu	Lys	Ile	Leu	Ala	Ser	Val	Lys		
275																	285
Asp	Ala	Lys	Thr	Asp	Arg	Leu	Asp	Asp	Trp	Asn	Gly	Ile	Ile	Ala	Gly		
290																	300
Asn	Gln	Lys	Lys	Asp	Ser	Lys	Asn	Ala	Ala	Met	Ala	Lys	Leu	Asn	Ala		
305																	321
Glu	Leu	Ala	Phe	Lys	Val	Ala	Asp	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Ser	Ser	Glu		
320																	335
Ala	Asn	Ala	Thr	Lys	Leu	Lys	Ala	Leu	Ala	Ser	Asn	Tyr	Lys	Thr	Ser		
340																	350
Ala	Asn	Leu	Thr	Ala	Thr	Lys	Arg	Lys	Leu	Glu	Glu	Met	Ala	Lys	Glu		
355																	361
Val	Thr	Asn	Phe	Ser	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Lys	Met	Val	Val	Asp		
370																	381
Thr	Val	Arg	Asp	Ser	Met	Val	Trp	Met	Met	Lys	Phe	Val	Tyr	Asn	Ser		
384																	401
Glu	Lys	Ser	Phe	Val	Lys	Asn	Trp	Trp	Asp	Tyr	Lys	Phe	Ala	Gly	Thr	Phe	
405																	415
Arg	Ala	Ile	Asn	Asn	Trp	Leu	Ser	Leu	Met	Lys	Leu	Tyr	Leu	Ser	Asp		
420																	431
Gln	Gln	Ile	Lys	Lys	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Glu	Lys	Phe	Val	Leu	Asp		
425																	445
Phe	Gln	His	Phe	Arg	Lys	Thr	Thr	Asp	Asn	Trp	Phe	Lys	Ala	Leu	Gly		
450																	460
Gly	Asn	Leu	Val	Asp	Met	Gly	Arg	Val	Lys	Val	Lys	Ala	Gly	Leu	Leu		
461																	469
Arg	Tyr	Asp	Ser	Phe	Phe	Trp	Ser	Thr	Trp	Glu	Arg	Ser	Ile	Glu	Glu		
470																	495
Val	Pro	Tyr	Leu	Val	Asp	Phe	Phe	Glu	Gly	Phe	Tyr	Glu	Asp	Gly	Ser		
500																	510
Tyr	Ile	Asp	His	Thr	Asp	Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Ala	Tyr	Gly	Asn	Val		
505																	520
Leu	Ile	Asp	Gly	Leu	Ser	Leu	Leu	Leu	Phe	Val	Lys	Glu	Lys	Thr	Lys		
530																	540
Asn	Phe	Lys	Asp	Lys	Asp	Lys	Met	Leu	Thr	Met	Tyr	Phe	Trp	Ile	Asn		
545																	560
Lys	Ser	Phe	Ala	Phe	Leu	Leu	Val	Asn	Gly	Glu	Leu	Met	Asp	Met	Ser		
565																	575
Arg	Gly	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Ala	Asn	Ser	Glu	Gly	Asn	Val	Ala	Ala		
580																	600
Val	Gln	Val	Leu	Arg	Gly	Ile	His	Arg	Ile	Ala	Arg	Met	Ser	Glu	Gly		
595																	610
Glu	Thr	Lys	Phe	Lys	Leu	Phe	Ser	Leu	Val	Lys	Ala	Lys	Val	Glu	Ser		
610																	620
Asp	Ser	Lys	Lys	Asn	Val	Phe	Lys	Asn	Leu	Lys	Leu	Tyr	Lys	Asn	Ile		
625																	641
Ser	Leu	Met	Phe	Ser	Leu	Leu	Ser	Asp	Ala	Gly	Val	Ala	Ser	Val	Phe		
645																	655
Arg	Pro	Ser	Tyr	Leu	Ser	Ala	Trp	Asp	Lys	Met	Asn	Tyr	Trp	Ala	Met		
660																	680

Tyr Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly Phe Gly Leu Ser Leu Phe Ser Ser  
 875 885  
 Arg Thr Leu Asn Tyr Glu His Met Asn Lys Glu Asn Lys Arg Gly Trp  
 890 905  
 Tyr Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Gly Asp Leu Ser His  
 915 920  
 Tyr Ser Asp Gly Tyr Trp Phe Thr Val Asn Phe Tyr Lys Met Phe Gly  
 925 935  
 Thr Thr Glu Thr Asp Ala Lys Arg Ala Asp Ser Asp Thr Gly Lys Val  
 740 750  
 Leu Phe Ser Ala Phe Val Gly Thr Ser Lys Leu Asp Arg Ala Asn Ala  
 755 765  
 Thr Ala Thr Met Asp Phe Thr Asn Trp Asn Glu Thr Leu Thr Ala His  
 770 785  
 Lys Ser Trp Phe Met Leu Lys Asp Lys Ile Ala Phe Leu Gly Ser Asn  
 795 800  
 Thr Glu Asn Thr Ser Thr Asp Thr Ala Ala Thr Thr Ile Asp Glu Arg  
 805 815  
 Lys Leu Glu Ser Gly Asn Phe Tyr Lys Val Tyr Val Asn Asp Lys Glu  
 820 835  
 Ala Ser Leu Thr Glu Glu Ser Lys Asp Tyr Phe Glu Thr Glu Ser Val  
 840 845  
 Phe Leu Glu Ser Phe Asp Ser Lys Lys Asn Ile Gly Lys Phe Ser Ser  
 850 865  
 Lys Lys Ser Ser Ile Ser Met Ser Lys Ala Leu Glu Lys Gly Ala Trp  
 870 880  
 Lys Asn Ile Asn His Gly His Ser Asp Lys Glu Val His Asn Glu Thr  
 885 895  
 Leu Thr Ile Ser G - A - His Lys Glu Asn Arg Asp Ser Tyr Gly Tyr  
 900 910  
 Met Leu Ile Thr Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn His Met Ile Lys  
 915 925  
 His Leu Glu Ser Ser Ser Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Glu Ser Val  
 930 940  
 Tyr Asp Ala Lys G - Gly Val Thr Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp Ser  
 945 960  
 Val Ser Thr Ile Ser Asn His Phe Glu Val Ser Lys Arg Gly Val Tyr  
 965 975  
 Thr Ile Arg Lys Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Lys Tyr Asn Ser  
 980 990  
 His Ser Glu Glu Ser Ala Pro Asn Glu Glu Val Phe Lys Lys Leu Glu  
 995 1010  
 His Ala Ala Glu Pro Glu Val Glu Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys Ser  
 1015 1020  
 Glu Glu Glu Lys Asp His Ser Asn Glu Lys Asp Ser Pro Glu Thr Gly  
 1025 1035  
 His Gly Glu Ser His Ser Ala Ser Leu Gly Phe Ser Leu Leu Gly Ala  
 1040 1055  
 Phe Lys Leu Ser Arg Arg Gly Lys Asn Asn  
 1060 1065

- <210> 83
- <211> 1078
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus pneumoniae (suş ATCC BAA-255/R6)
- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz
- 10 <400> 83
- Met Ile Leu Glu Tyr Val Lys Arg Ser Val Tyr Ser Glu Thr Lys Thr
- 1 5 10 15



73 Val Ser Leu Ser Ser Leu Val Leu Arg Gly Ser Leu  
 74 Tyr Met Thr Val Gly Asn Glu Glu Thr Thr Thr Asp Thr  
 75 Ser Ser Lys Ser Val Ser Tyr Glu Glu Glu Arg Asp Thr Lys  
 76 His Asp Val His Asp Gly Asp Phe Gly Glu Thr Glu Asp Gly Ser Ser  
 77 Asp Trp Thr Gly Ser Lys Ala Glu Gly Arg Ser Ala Trp Val Asp Ser  
 78 Lys Asn Ser Ser Ala Asp Ala Ser Lys Arg Val Ile Glu Ala Lys Asp  
 79 Gly Ala Ile Thr Thr Ser Ser Phe Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Leu Arg Thr Lys  
 80 Asp Met Val Thr Thr Leu Ala Ala Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Arg Thr Lys  
 81 Ile Lys Thr Asp Asn Leu Val Gly Thr Ala Tyr Val Arg Thr Thr Thr  
 82 Glu Ser Gly Lys Asp Lys Arg Arg Lys Asp Ser Ala Thr Thr Ser Gly  
 83 Thr Lys Asp Trp Glu Thr Ala Glu Ala Asp Tyr Ser Ser Thr Thr Asp  
 84 Val Asp Lys Thr Lys Leu Glu Leu Phe Lys Glu Thr Gly Thr Gly Thr  
 85 Val Ser Phe Tyr Asp Thr Ser Thr Thr Val Glu Val Ala Asn G Phe Ser  
 86 Glu Asn Ser Ser Thr Asp Tyr Ser Thr Thr Glu Glu Tyr Ile Asp Leu Phe  
 87 Thr Gly Tyr Tyr Thr Val Phe Ser Thr Ala Asn Tyr Thr Tyr Lys Val  
 88 Glu Asn Thr Asp Val Ala Ser Val Tyr Asn Gly Ile Ser Glu Ser Leu  
 89 Lys His Gly Thr Ser Asp Val Thr Val Ser Lys Asp Gly Lys Thr Val  
 90 Lys Lys Ile Thr Leu Lys Lys Thr Leu Ala Ser Val Lys Asp Thr Tyr Thr  
 91 Asp Arg Leu Asp Asp Trp Asn Gly Glu Ile Ala Gly Asn Ser Tyr Tyr  
 92 Asp Ser Lys Asn Glu Glu Met Ala Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu Gly  
 93 Lys Val Ala Asp Ser Leu Ser Ser Ile Ser Ser Glu Ala Asp Asn Leu  
 94 Tyr Leu Trp Glu Lys Thr Ser Asn Tyr Tyr Thr Ser Ala Asn Leu Thr  
 95 Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Thr Thr Val Ala Tyr Glu Val Thr Asp Thr  
 96 Ser Ser Arg Tyr Tyr Glu Asp Thr Thr Val Val Asn Thr Val Asp Asp  
 97 Ser Met Glu Trp Met His Lys His Val Lys Asn Ser Glu Lys Ser Ile  
 98 Val Gly Asn Trp Trp Asp Lys Glu Ile Gly Thr Pro Arg Ala Ile Asn  
 99 Asn His Leu Ser Leu Met Lys Glu Lys Ala Ser Asp Glu Glu Ile Lys  
 100 Tyr Tyr Thr Asn Val Thr Glu Lys Phe Val Phe Asp Thr Glu Thr Phe  
 101 Asp Tyr Thr Thr Asp Asn Phe Phe Tyr Ala Thr Gly Gly Asn Leu Val  
 102 Asp Met Gly Arg Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Thr Leu Arg Lys Asp Asp  
 103 Glu His Ile Ser Ser Thr Thr Arg Ser Ile Glu Glu Val Thr Lys Leu  
 104 Val Asp Glu Gly Thr Gly Phe Lys Glu Arg Gly Ser Tyr Ile Asp His

530	Arg	Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Asp	530	Thr	Gly	Asp	Val	Leu	Thr	Asp	Gly
541	Leu	Ser	Phe	Leu	Leu	Phe	Met	541	Gln	Val	Thr	Lys	Asp	Phe	Thr	Ser
542	Lys	Asp	Lys	Met	Leu	Thr	Met	542	His	Thr	Thr	Asp	Lys	Ser	Phe	Ala
587	Met	Leu	Leu	Val	Asp	Lys	Leu	587	Met	Asp	Met	Ser	Asp	Gly	Arg	Ser
588	His	Ser	Arg	Ala	Asp	Ser	Ala	588	His	Val	Ala	Ala	Val	Gln	Val	Leu
589	Asp	Gly	Leu	His	Arg	Leu	Ala	589	Met	Asp	Gln	Gly	Gln	Ser	Lys	Leu
610	Arg	Leu	Ala	Ser	Leu	Val	Lys	610	His	Val	Gln	Ser	Asp	Ser	Lys	Lys
625	Asp	Val	Phe	Lys	Asp	Leu	Lys	625	Tyr	Lys	Asp	His	Ser	Leu	Met	Ala
626	Ser	Leu	Leu	Ser	Asp	Ala	Gly	626	Ala	Ser	Val	Pro	Asp	Thr	Ser	Lys
670	Leu	Ser	Ala	Phe	Asp	Lys	Met	670	Lys	Thr	Ala	Met	Lys	Asp	Ala	Gln
671	Lys	Gly	Phe	Gly	Phe	Gly	Leu	671	Leu	Ala	Ser	Ser	Asp	Thr	Leu	Asp
710	Lys	Gln	His	Ser	Asp	Lys	Leu	710	Lys	Asp	Gly	Thr	Lys	Thr	Ser	Asp
711	Gly	Met	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Asp	711	Asp	Leu	Phe	His	Tyr	Ser	Asp	Gly
740	Tyr	Ser	Phe	Thr	Val	Leu	Thr	740	Lys	Met	Ser	Gly	Phe	Ser	Gln	Thr
741	Asp	Ala	Lys	Arg	Ala	Asp	Ser	741	Thr	Gly	Lys	Val	Leu	Phe	Ser	Ala
742	Phe	Val	Lys	Thr	Ser	Lys	Leu	742	Asp	Ala	Asp	Ala	Phe	Ala	Thr	Met
755	Arg	Phe	Thr	Asp	Lys	Asp	Ala	755	Leu	Thr	Ala	His	Lys	Ser	Lys	Phe
800	Met	Leu	Lys	Asp	Lys	His	Ala	800	Leu	Gly	Ser	Asp	His	Gln	Asp	Thr
801	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Ala	Thr	801	Leu	Asp	Gln	Asp	Lys	Leu	Gln	Ser
840	Ser	Arg	Phe	Tyr	Lys	Val	Thr	840	Asp	Asp	Lys	Gln	Ala	Ser	Leu	Thr
841	Gln	Gln	Phe	Lys	Ser	Tyr	Phe	841	Thr	Gln	Ser	Val	Phe	Leu	Gln	Ser
880	Ser	Asp	Ser	Lys	Lys	Asp	Thr	880	Tyr	Thr	Thr	Phe	Lys	Lys	Ser	Ser
881	His	Ser	Met	Ser	Lys	Ala	Leu	881	Lys	Gly	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Asp
900	Gln	Gly	Leu	Ser	Asp	Lys	Leu	900	His	Asp	Gln	Phe	Leu	Thr	Thr	Ser
915	Gln	Ala	His	Lys	Gln	Asp	Gly	915	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Met	Leu	Thr	Phe
930	Asp	Val	Asp	Arg	Ala	Thr	Phe	930	Gln	Met	His	Lys	Gln	Leu	Gln	Ser
940	Ser	Leu	His	Ala	Asp	Asp	Gln	940	Leu	Gln	Ser	Val	Tyr	Arg	Ala	Lys
960	Gln	Gly	Val	Lys	Gly	His	Val	960	Lys	Asp	Asp	Ser	Val	Ser	Thr	His
980	Ser	Asp	Gln	Phe	Gln	Val	Leu	980	Ala	Gly	Val	Lys	Leu	Thr	Asp	Lys
990	Gln	Gly	Asp	Gln	Lys	Lys	His	990	Asp	Tyr	Asp	Phe	Gln	Thr	Gln	Gln
1010	Ser	Ala	Phe	Asp	Leu	Phe	Val	1010	Lys	Lys	Thr	Gln	Gln	Ala	Ala	Phe
1020	Phe	Gln	Val	Gln	Asp	Ser	Lys	1020	Gln	Lys	Ser	Gln	Gln	Gln	Lys	Lys
1040	Arg	His	Ser	Arg	Thr	Lys	Asp	1040	Thr	Thr	Thr	Gly	Gln	Gly	Gln	Ser
1060	Thr	Leu	Ala	Ser	Thr	Gly	Phe	1060	Leu	Leu	Leu	Thr	Gly	Ala	Ser	Tyr
1070	Arg	Arg	Gly	Lys	Asp	Asp	Asp	1070	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp

<210> 84  
 <211> 1067  
 <212> PRT  
 <213> Streptococcus pneumoniae serotip 2 (suş D39/N)

5

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

<400> 84

```
Met 1  Glu 2  Thr 3  Lys 4  Thr 5  Lys 6  Lys 7  Leu 8  Ile 9  Val 10 Ser 11  Leu 12 Ser 13 Ser 14  Leu 15  Val
Leu 16 Ser 17 Gly 18 Phe 19 Leu 20 Leu 21 Asn 22 His 23 Tyr 24 Met 25 Thr 26 Val 27 Gly 28 Ala 29 Glu 30 Glu
Thr 31 Ser 32 Ser 33 Asn 34 Thr 35 Ile 36 Glu 37 Glu 38 Ser 39 Glu 40 Lys 41 Glu 42 Val 43 Glu 44 Tyr 45 Glu
Glu 46 Asn 47 Asp 48 Thr 49 Lys 50 Asn 51 Leu 52 Val 53 Glu 54 Asn 55 Gly 56 Asp 57 Phe 58 Gly 59 Glu 60 Thr
Glu 61 Asp 62 Gly 63 Ser 64 Ser 65 Pro 66 Arg 67 Thr 68 Gly 69 Ser 70 Lys 71 Ala 72 Glu 73 Gly 74 Trp 75 Ser
Ala 76 Arg 77 Val 78 Asp 79 Glu 80 Lys 81 Asn 82 Ser 83 Ser 84 Ala 85 Asp 86 Ala 87 Ser 88 Thr 89 Arg 90 Val
Ile 91 Glu 92 Ala 93 Lys 94 Asp 95 Gly 96 Ala 97 Ile 98 Thr 99 Ile 100 Ser 101 Ser 102 Arg 103 Glu 104 Lys 105 Trp
Arg 106 Ala 107 Ala 108 Val 109 His 110 Arg 111 Met 112 Val 113 Arg 114 Ile 115 Glu 116 Ala 117 Lys 118 Lys 119 Lys 120 Tyr
Lys 121 Leu 122 Arg 123 Glu 124 Lys 125 Ile 126 Lys 127 Thr 128 Asp 129 Asn 130 Lys 131 Val 132 Gly 133 Glu 134 Ala 135 Lys
Val 136 Asn 137 Ile 138 Ile 139 Glu 140 Glu 141 Ser 142 Gly 143 Lys 144 Asp 145 Lys 146 Arg 147 Leu 148 Trp 149 Asn 150 Ser
Ala 151 Thr 152 Thr 153 Ser 154 Gly 155 Thr 156 Lys 157 Asn 158 Trp 159 Glu 160 Thr 161 Ile 162 Glu 163 Ala 164 Asp 165 Tyr
Ser 166 Pro 167 Thr 168 Leu 169 Asp 170 Val 171 Asn 172 Lys 173 Ile 174 Lys 175 Leu 176 Glu 177 Leu 178 Phe 179 Tyr 180 Glu
Thr 181 Gly 182 Thr 183 Gly 184 Thr 185 Val 186 Ser 187 Phe 188 Lys 189 Asp 190 Ile 191 Glu 192 Leu 193 Val 194 Glu 195 Val
Ala 196 Asn 197 Glu 198 Pro 199 Ser 200 Glu 201 Asn 202 Ser 203 Glu 204 Thr 205 Asn 206 Lys 207 Glu 208 Leu 209 Glu 210 Glu
Lys 211 Ile 212 Asp 213 Leu 214 Pro 215 Ile 216 Gly 217 Lys 218 Lys 219 His 220 Val 221 Phe 222 Ser 223 Leu 224 Ala 225 Asp
Lys 226 Thr 227 Tyr 228 Lys 229 Val 230 Glu 231 Asn 232 Pro 233 Asp 234 Val 235 Ala 236 Ser 237 Val 238 Lys 239 Asn 240 Gly
Ile 241 Leu 242 Glu 243 Pro 244 Leu 245 Lys 246 Glu 247 Gly 248 Thr 249 Thr 250 Asn 251 Val 252 Ile 253 Val 254 Ser 255 Leu
Asn 256 Gly 257 Lys 258 Glu 259 Val 260 Lys 261 Lys 262 Ile 263 Arg 264 Leu 265 Lys 266 Lys 267 Ile 268 Leu 269 Ala 270 Ser 271 Val
Lys 272 Arg 273 Ser 274 Tyr 275 Thr 276 Arg 277 Arg 278 Leu 279 Asp 280 Asn 281 Arg 282 Asn 283 Gly 284 Ile 285 Ile 286 Ala
Gly 287 Asn 288 Glu 289 Tyr 290 Tyr 291 Asp 292 Ser 293 Lys 294 Asn 295 Glu 296 Glu 297 Ser 298 Ala 299 Lys 300 Leu 301 Asn
Glu 302 Glu 303 Leu 304 Glu 305 Gly 306 Lys 307 Val 308 Ala 309 Asn 310 Ser 311 Leu 312 Ser 313 Ser 314 Ile 315 Ser 316 Ser
Glu 317 Ala 318 Asp 319 Arg 320 Ile 321 Tyr 322 Leu 323 Thr 324 Glu 325 Lys 326 Phe 327 Ser 328 Asn 329 Tyr 330 Lys 331 Thr
332
```

10

Ser Ala Asp Leu Thr Ala Thr Tyr Arg Tyr Leu Glu Glu Met Ala Lys  
 340  
 Glu Val Thr Asp Ser Asp Ser Arg Arg Tyr Tyr Glu Asp Glu Thr Val Val  
 345  
 Arg Phe Val Arg Asp Ser Ser Ser Leu Trp Met His Lys Phe Val Tyr Asp  
 350  
 Ser His Lys Ser His Val Gly Asn Arg Arg Asp Tyr Glu His Gly Thr  
 355  
 Asp Arg Ala Leu Asn Asn His Leu Ser Leu Met Lys Glu Tyr Phe Ser  
 360  
 Asp Phe Glu Leu Lys Lys Lys Thr Asp Val Leu Glu Lys Phe Val Arg  
 365  
 Asp Phe Glu Val Thr Asp Trp Thr Thr Asp Asp Trp Phe Tyr Ala Leu  
 370  
 Gly Gly Asp Leu Val Asp Met Gly Arg Val Tyr Val His Ala Gly Leu  
 375  
 Phe Asp Lys Asp Asp Ala Ser Ser Ser Thr His Arg Ser Ser His Val  
 380  
 Glu Val Phe Tyr Leu Val Asp Glu His Gly Glu Gly Phe Tyr Glu Asp Gly  
 385  
 Ser Tyr His Asp Ala His Thr Asn Val Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn  
 390  
 Val Leu His Asp Gly Leu Ser Ser Glu Leu Leu Phe Val His Glu Lys Thr  
 395  
 Tyr Asn Phe Thr Asp Leu Asp Asp Tyr Val Glu Thr Met Tyr Trp Trp  
 400  
 Asp Tyr Ser Thr Asp Trp Leu Leu Leu Val Asp Gly Glu Thr Met Asp Met  
 405  
 Ser Asp Gly Ala Ser Thr Ser Arg Ala Phe Asp Ser Glu Gly Thr Val Ala  
 410  
 Ala Val Glu Val Leu Arg Arg Gly Thr His His Arg Leu Ala Asp Met Ser  
 415  
 Gly His Thr Tyr Ser Arg Asn Ser Leu Ser Ser Ser Val Lys Thr His Val  
 420  
 Ser Arg Ser Tyr Tyr Asp Val Phe Lys Asn Leu Lys Thr Tyr Lys Asp  
 425  
 His Ser Leu Met Ser Ser Leu Leu Ser Asp Ala Gly Val Ala Ser Val  
 430  
 Phe Asp Thr Ser Tyr Leu Ser Ala Phe Asn Lys Met Asp Lys His Ala  
 435  
 Met Lys Asn Ala Ser Lys Gly Phe Gly Phe Gly Leu Ser Leu Phe Ser  
 440  
 Ser Asp Thr Leu Asp Tyr Val His Val Asp Tyr Glu Asp Tyr Asp Ala  
 445  
 His Tyr Thr Ser Asp Gly Tyr Trp Phe Tyr Leu Tyr Asp Gly Asp Leu Ser  
 450  
 His Tyr Ser Asp Gly Tyr Trp Phe Thr Val Asp Trp Tyr Lys Met Ser  
 455  
 Gly His Thr His Thr Asp Ala Lys Arg Ala Asp Ser Asp Thr Gly Lys  
 460  
 Val Leu Asp Ser Ala Phe Val Gly Ser Ser Lys Ser Asp Arg Ala Asn  
 465  
 Ala His Ala Thr Met Asp Phe Thr Asn Arg Asp Glu Thr Leu Ser Ala  
 470  
 His Tyr Ser Thr Thr Met Val Ser Tyr Arg Tyr Thr Ala Thr Ser Gly Ser  
 475  
 Asp His Glu Asn Thr Ser Thr Ser Thr Ala Thr Ala Thr Thr Asp Ser  
 480  
 Arg Tyr Leu His Ser Ser Ser Ser Phe Tyr Tyr Val Tyr Val Asp Asp Lys  
 485  
 Glu Ala Ser Ser Thr His His His Lys Arg Tyr Pro His Thr His Ser  
 490  
 Val Phe Ser His Ser Ser Asp Ser Lys Tyr Asn His Gly Tyr Thr Phe

```

      850          885          910
Phe Lys Lys Ser Ser Ile Ser Met Ser Lys Ala Met Glu Lys Gly Ala
885          897          905          910
Tyr Lys Asp Ile Asn Glu Gly Glu Ser Asp Lys Glu Val Glu Asn Glu
887          897          905          910
Phe Leu Ser Ile Ser Glu Ala Arg Lys Glu Asn Gly Asp Ser Tyr Gly
900          905          910          910
Tyr Met Leu Ile Pro Asn Val Asp Arg Ala Thr Phe Asn Glu Met Trp
911          920          925          925
Lys Glu Leu Glu Ser Ser Ser Ile Glu Asn Asn Glu Thr Leu Glu Ser
930          935          941          941
Val Tyr Asp Ala Lys Glu Gly Val Trp Gly Ile Val Lys Tyr Asp Asp
945          951          955          960
Ser Val Ser Thr Ile Ser Asn Glu Ser Ile Val Leu Lys Arg Gly Val
955          960          965          970
Tyr Thr Ile Arg Lys Glu Gly Asp Glu Tyr Lys Ile Ala Tyr Tyr Asp
980          985          990          995
Phe Glu Thr Glu Glu Ser Ala Phe Asp Glu Glu Val Phe Lys Lys Leu
995          1000          1005          1010
Glu Glu Ala Ala Glu Pro Glu Val Glu Asn Ser Lys Glu Lys Glu Lys
1010          1015          1020          1025
Ser Glu Glu Glu Lys Asn His Ser Asp Glu Lys Asn Leu Phe Glu Thr
1025          1030          1035          1040
Gly Glu Gly Glu Ser Ile Leu Ala Ser Leu Gly Phe Leu Leu Ser Gly
1045          1050          1055          1060
Ala Phe Tyr Leu Phe Arg Arg Gly Lys Asn Asn
1061          1061          1061          1061

```

- <210> 85
- <211> 805
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus pyogenes serotip M1

```

<220>
<223> hiyalüronan liyaz

```

10

```

<400> 85
Met Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His Lys Glu Leu Leu Leu Tyr Ser
5          5          10          15
Asn Leu Ser Leu Ser Phe Ala Met Met Gly Glu Gly Thr Ala Ile Tyr
20          25          30          35
Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu Pro Asn Asn Thr Tyr Phe Glu
35          40          45          50
Ser Glu Thr Leu Thr Thr Thr Ser Asp Ser Glu Lys Lys Val Val His Pro
55          60          65          70
Glu Glu Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu Leu Asn Glu Thr Asp Ser Ile
65          70          75          80
Ile Ala Gly Asp Asp Ala Tyr Asp Lys Thr Asn Pro Asp Met Val Thr
85          90          95          100
Phe His Asp Tyr Asn Glu Lys Asn Ala Glu Asn Thr Ile Tyr Ser Tyr
100          105          110          115
Glu Gly Thr Asp His Glu Asn Arg Thr Tyr Leu Arg Glu His Ala Lys
115          120          125          130
Asp Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Lys Thr Tyr Arg Asp Ile Glu
130          135          140          145
Lys Ile Ala Lys Glu Ile Thr Asn Pro Glu Ser Lys Tyr Tyr Glu Asp
145          150          155          160
Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu
165          170          175          180
His Ala Tyr Asn Leu Asp Arg Glu Asn His Glu Thr Thr Gly Lys Glu
180          185          190          195
Asn Lys Glu Asn Tyr Arg Val Tyr Glu Ile Gly Ser Leu Arg Ala Ile

```



Phe Gly Ala Ile Lys Gln Val Ser Asn Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln  
 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780  
 Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala Tyr Met Met Leu Pro Asn  
 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860  
 Met Ser Asp Gln Gln Phe Gln Ser Tyr Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp  
 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940  
 Leu Ser Gln Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala Val Lys Asp His Asp Ser  
 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020  
 Ile Gln Met His Val Ile His Tyr Gly Lys Lys Ala Phe Met Gln Ser  
 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100  
 Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Phe Tyr Ser Phe Phe His Pro Val  
 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180  
 Arg Gln Asp Gln Gln  
 1185 1190 1195 1200 1205

<210> 86  
 <211> 780

5

<212> PRT  
 <213> Streptococcus pyogenes serotip M2 (suş MGAS10)

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

10

<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 Asp Ser Gln  
 50 55 60  
 Phe Asn Asn Thr Tyr Phe Gln Thr Gln Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser  
 65 70 75 80  
 His Lys Lys Val Val Gln Phe Gln Gln Lys Asp Tyr Tyr Thr Gln Leu  
 85 90 95  
 Met Asp Gln Trp Asn Ser Ile Ile Ala Gly Asp Asp Ala Tyr Asp Lys  
 100 105 110  
 Thr Asn Trp Asp Met Val Thr Phe His Asn Lys Phe Gln Lys Asp Ala  
 115 120 125  
 Gln Asn Ile Ile Tyr Ser Tyr Gln Gly Pro Asp His Gln Asp Arg Thr  
 130 135 140  
 Tyr Leu Trp Gln His Ala Lys Asn Tyr Ser Ala Ser Phe Asn Ile Thr  
 145 150 155 160  
 Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Gln Lys Ile Ala Tyr Ser Ile Thr Asp Pro  
 165 170 175  
 Gln Ser Cys Tyr Tyr Gln Asp Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Tyr Asp  
 180 185 190  
 Gly Met Ala Phe Met Tyr Gln His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Gln Asp  
 195 200 205  
 His Gln Thr Thr Gly Lys Gln Asn Lys Gln Asn Trp Trp Val Tyr Gln  
 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 Gln Gln Ile Leu Lys Tyr Thr Asn Phe Ile Gln Lys  
 245 250 255  
 Phe Val Phe Asp Phe Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser  
 260 265 270  
 Phe Phe Gln Ala Asn Ser Gly Asn Leu Leu Asp Met Gly Arg Val Lys  
 275 280 285 290  
 Met Ile Ser Gly Ile Met Arg Lys Asp Asp Leu Gln Ile Ser Asp Thr  
 295 300 305 310

115 Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly  
 125 Phe Tyr Glu Asp Gly Ser Leu Ile Asp His Val Val Thr Asn Thr Glu  
 Ser Phe Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn  
 Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Glu Leu Leu Phe Ile Ile Glu Lys Thr  
 Lys Ser Phe Ile Glu Asn Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile  
 Asn His Ser Phe Phe Phe Ile Ile Val Arg Gly Phe Met Met Asp Met  
 Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Phe Ser His Val Ala  
 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu  
 Thr Phe His Arg Leu Glu Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr  
 Glu Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His  
 Asp Ile Lys Leu Met Lys Ser Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Phe Val  
 Thr Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu  
 Ala Leu Tyr Asn Asp Lys His Asp Thr Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe  
 Ser Asn Arg Thr Glu Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His  
 Gly Thr Thr Thr Ser Asn Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu  
 Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr Ser Ala Thr Val Asn Ser Tyr Arg Leu  
 Phe Gly Thr Thr Glu Thr Glu Glu Lys Pro Leu Glu Gly Thr Thr Glu  
 Ser Ile Lys Thr Ser Tyr Glu Glu Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp  
 Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asp Asn Thr Ser Ala Leu Ala  
 Ala Met Thr Phe Thr Ser Thr Asn Lys Ser Tyr Leu Leu Asn Tyr Gly  
 Thr Phe Ile Leu Gly Ser Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys  
 Asn Glu Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Glu Glu Arg Lys Glu  
 Ser Glu Lys Val Phe Tyr Tyr Lys Ser Tyr Val Asn Asn Glu Phe Val Asp  
 Leu Asn Asn Glu Leu Val Asp Phe Thr Ser Thr Lys Ser Ile Phe Thr  
 Ser Ser Asp Asp Phe Ala Ser Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Phe  
 Arg Thr Leu Ser Ile Ser Lys Lys Ala Leu Glu Thr Gly Lys Trp Glu Asn  
 Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Ser Glu Ala Ile Lys Glu Val Ser Asn  
 Thr Phe Ile Thr Thr Met Thr Asn His Thr Glu Ser Glu Asp Asp Tyr  
 Ala Lys Met Met Leu Phe Asn Met Thr Arg Glu Ser Phe Glu Thr Tyr  
 Leu Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asn

<210> 87

<211> 868

5 <212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotip M4 (suş MGAS10)

<220>

<223> hiyalüronan liyaz



<400> 87

Met Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His Lys Glu Leu Leu Leu Tyr Ser  
 1  
 Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met Gly Glu Gly Thr Ala Ile Tyr  
 20  
 Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Lys Pro Asp Asp Thr Tyr Phe Glu  
 40  
 Thr Glu Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser Glu Lys Lys Val Val Glu Phe  
 60  
 Ser Glu Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu Leu Asp Glu Trp Asn Ser Ile  
 80  
 Phe Ala Gly Asn Asp Ala Thr Asn Lys Thr Asp Pro Asp Met Val Thr  
 100  
 Phe His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala Glu Asn Ile Ile Lys Ser Tyr  
 120  
 Ser Glu Phe Asp His Glu Asn Arg Thr Tyr Leu Trp Ser His Ala Lys  
 140  
 Asp Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Lys Thr Tyr Arg Asn Ile Glu  
 160  
 Lys Ile Ala Lys Glu Ile Thr Asn Phe Glu Ser Cys Tyr Tyr Glu Asp  
 180  
 Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp Gly Met Ala Phe Met Tyr Glu  
 200  
 His Ala Tyr Asn Leu Asp Arg Glu Asn His Glu Thr Thr Gly Lys Glu  
 220  
 Asn Lys Glu Asn Trp Trp Asp Tyr Glu Ile Gly Thr Phe Arg Ala Ile  
 240  
 Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Phe Tyr Phe Thr Ser Glu Glu Ile  
 260  
 Leu Lys Tyr Thr Ala Phe Ile Glu Lys Phe Val Phe Asp Phe Thr Arg  
 280  
 Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Phe Phe Phe Glu Ala Asn Ser Gly  
 300  
 Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys Leu Ile Ser Gly Ile Leu Arg  
 320  
 Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr Ile Lys Asn Ile Glu Lys Val  
 340  
 Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly Phe Tyr Glu Asp Gly Ser Leu  
 360  
 Ile Asp His Val Val Thr Asn Ala Glu Ser Phe Leu Tyr Lys Lys Gly  
 380  
 Ile Ala Tyr Thr Gly Ala Tyr Gly Asn Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser  
 400  
 Ser Leu Ile Phe Ile Ile Ser Lys Thr Lys Ser Phe Ile Glu Ala Asp  
 420  
 Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Trp Ile Asn His Ser Phe Phe Ser Ile  
 440  
 Ile Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met Thr Arg Gly Arg Ser Ile Ser  
 460  
 Arg Phe Asn Ala Glu Ser His Val Ala Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala  
 480  
 Ile Leu Arg Ile Ala Asp Met Ser Glu Glu Phe His Arg Leu Ala Leu  
 500  
 Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr Glu Gly Asn Val Phe Tyr Asn  
 520  
 Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu

```

      435      440      445
Met Leu Ser Asp Thr Ser Val Phe Val Glu Lys Leu Asp Ser Tyr Val
450      455      460
Ala Ser Phe Asp Ser Met Asn Lys Leu Ala Leu Tyr Asn Asn Lys Val
465      470      475
Asn Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe Ser Asn Arg Thr Glu Asn Tyr
480      485      490
Gln Ala Met Asn Asn Gln Asn Leu His Gly Asp Phe Trp Ser Asp Gly
495      500      505
Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asn Leu Gly His Tyr Ser Glu Asn Tyr
510      515      520
Trp Ala Thr Val Asn Pro Lys Arg Leu Thr Gly His Thr Glu Thr Glu
525      530      535
Gln Lys Arg Leu Gln Gly His Pro Gln Asn His Lys His Asn Tyr Gln
540      545      550
Gln Val Gly Met Thr Ser Asn Ser Asp Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys
555      560      565
Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala Ala Met Thr Phe Thr Asn Trp
570      575      580
Asn Lys Ser Leu Thr Lys Asn Lys Gly Trp Phe His Leu Lys Gly Asn Lys
585      590      595
His His Phe Val Gly Ser Asn His Lys Asn Gln Ser Ser His Lys Ala
600      605      610
Tyr His Ser His Gln Gln Arg Lys Gln Asn Gln Lys His Pro Tyr Cys
615      620      625
Ser Tyr Val Asn Asn Gln Phe Val Asp Leu Asn Asn Ser Leu Val Asp
630      635      640
Phe Thr Asn Thr Tyr Ser Thr Phe Leu Glu Ser Asp Asp Thr Ala Gln
645      650      655
Asn Phe Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Thr Thr Thr Leu Ser His Ser Lys
660      665      670
Ala Leu Gln Thr Gly Lys Trp Gln Asn His Lys Ala Asp Asn Lys Ser
675      680      685
Pro Gln Ala His Lys Gln Val Ser Asn Thr Phe His Ser His Met Gln
690      695      700
Asn His Thr Gln Asp Gly Asp Arg Tyr Ala Tyr Met Met Leu Lys Asn
705      710      715
Met His Arg Gln Gln Phe Ser Thr Tyr His Ser Lys Leu Arg His Asp
720      725      730
Leu Leu Gln Asn Asn Asp Lys Leu Ala Ala Val Tyr Asp His Asp Ser
735      740      745
Gln Gln Met His Val His Tyr Gln Lys Lys Ala Ser Thr Thr Ser
750      755      760
Asn His Asn Leu Ser His Gln Gly Gln Tyr Ser Phe Pro His His Val
765      770      775
Lys Gln Asn Gln Gln Gln Lys Leu Ala His Gln Gly His Ala Ala Lys
780      785      790
Asn Asn Ala Leu Asn Ser His Lys His Pro His Lys Arg Gln Arg Arg
795      800      805
Leu Phe Arg Thr Gly Tyr Ser Ser Ser Ser Leu Gln Phe Leu Gly Gly
810      815      820
Ala Leu Val Ala Ser Phe Asn His His Thr Lys Phe Phe Arg Lys Lys
825      830      835
Asp Leu Arg Ile
840

```

- <210> 88
- <211> 828
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus pyogenes serotip M6
  
- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz
  
- 10 <400> 88

Met	Val	Tyr	Phe	Tyr	Leu	Val	Arg	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	Gln	Gln
			20					25					30		
Cys	Gln	Leu	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asn	Leu	Phe	Leu	Ser	Thr	Ala	Met	Met
			35				40					45			
Gly	Gln	Gly	Thr	Ala	Ile	Tyr	Ala	Asp	Thr	Leu	Thr	Ser	Asn	Ser	Gln
						55					60				
Pro	Asn	Asn	Thr	Tyr	Phe	Gln	Thr	Gln	Thr	Leu	Thr	Thr	Thr	Asp	Ser
65					70					75				80	
Gln	Lys	Lys	Val	Val	Gln	Pro	Gln	Gln	Lys	Asp	Tyr	Tyr	Thr	Gln	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	Gln	Lys	Asp	Ala
			115					120				125			
Gln	Asn	Ile	Ile	Lys	Ser	Tyr	Gln	Gly	Pro	Asp	His	Gln	Asn	Arg	Thr
						135					140				
Tyr	Leu	Trp	Gln	His	Asp	Lys	Asp	Tyr	Ser	Ala	Ser	Thr	Asn	Ile	Thr
145					150					155				160	
Lys	Thr	Tyr	Arg	Asn	Ile	Gln	Lys	Ile	Ala	Lys	Ile	Ile	Thr	Asn	Pro
				165					170					175	
Gln	Ser	Cys	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Ser	Lys	Ala	Ile	Ala	Ile	Val	Lys	Asp
				180				185					190		
Gly	Met	Ala	Thr	Met	Tyr	Gln	His	Ala	Tyr	Asn	Leu	Asn	Arg	His	Asn
				195				200				205			
His	Gln	Thr	Thr	Gly	Lys	Gln	Asn	Lys	Gln	Asn	Trp	Thr	Val	Tyr	Gln
						215					220				
Ile	Gly	Thr	Pro	Arg	Ala	Ile	Asn	Asn	Thr	Gln	Ser	Leu	Met	Tyr	Pro
225					230						235				240
Tyr	Phe	Thr	Gln	Gly	Gln	Leu	Leu	Lys	Tyr	Thr	Ala	Thr	Ile	Gln	Lys
				245					250					255	
Phe	Val	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Thr	Arg	Val	Arg	Ala	Ala	Asn	Phe	Ser
			260					265					270		
Pro	Phe	Gln	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	Gln	Ile	Ser	Asp	Thr
				290			295				300				
Ile	Lys	Ala	Ile	Gly	Lys	Val	Thr	Thr	Leu	Val	Arg	Gln	Gly	Asn	Gly
					310					315				320	
Phe	Tyr	Gln	Asp	Gly	Ser	Leu	Ile	Asn	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	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr
				355			360					365			
Lys	Ser	Thr	Ile	Gly	Ala	Asn	Lys	Met	Ala	Thr	Leu	Tyr	His	Trp	Ile
					375					380					
Asn	His	Ser	Pro	Phe	Pro	Ile	Ile	Val	Arg	Gly	Gln	Met	Met	Asp	Met
					390					395					400
Pro	Arg	Gly	Arg	Ser	Ile	Ser	Arg	Thr	Asp	Ala	Gln	Ser	His	Val	Ala
					405				410					415	
Gly	Ile	Gln	Ala	Leu	Arg	Ala	Ile	Leu	Arg	Ile	Ala	Asp	Met	Ser	Gln
					420				425				430		
Gln	Pro	His	Arg	Leu	Ala	Leu	Lys	Thr	Arg	Ile	Lys	Thr	Leu	Val	Thr
							440					445			
Gln	Gly	Asn	Ala	Phe	Tyr	Asn	Val	Tyr	Asp	Asn	Leu	Lys	Thr	Tyr	His
						450					455				
Arg	Ile	Lys	Leu	Ser	Lys	Leu	Leu	Leu	Ser	Asp	Thr	Phe	Val	Pro	Val
460					465					470					480

Ser Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu  
 487 497 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560  
 Ala Leu Tyr Asn Asn Lys His Asp Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe  
 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640  
 Ser Asn Arg Thr Cln Asn Lys Gln Ala Met Asn Asn Gln Asn Ser His  
 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720  
 Gly Asp Phe Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu  
 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800  
 Gly His Tyr Ser Cln Asn Lys Arg Ala Thr Val Asn Ser Tyr Asp Leu  
 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880  
 Pro Gly Thr Thr Cln Thr Cln Gln Lys Pro Cln Gln Gly Thr Ser Cln  
 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960  
 Asn Ile Lys Thr Asp Tyr Cln Gln Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp  
 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040  
 Asp Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Ser Ala  
 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120  
 Ala Met Thr Thr Thr Asn Arg Asp Lys Ser Cln Thr Ser Leu Asn Lys Gly  
 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200  
 Arg Phe Ile Leu Gly Asn Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asn Ile Lys  
 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280  
 Ser Gln Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Ile Gln Gln Asp Lys Cln  
 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360  
 Ser Gln Lys Phe Pro Tyr Lys Ser Tyr Val Asn Ser Gln Pro Val Asp  
 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440  
 Met Asn Asn Gln Ser Val Ser Phe Thr Asn Thr Lys Ser Ile Phe Ser  
 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520  
 Ser Ser Asn Asp Pro Ala Cln Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Pro  
 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600  
 Thr Thr Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Gln Thr Gly Lys Top Gln Asn  
 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680  
 Ile Lys Ala Asp Asp Lys Ser Phe Gln Ala Ile Lys Gln Val Ser Asn  
 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760  
 Thr Phe Ile Thr Ile Met Gln Asn His Thr Gln Asn Gly Asp Arg Ter  
 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840  
 Ala Tyr Met Met Ser Pro Asn Met Thr Arg Cln Gln Phe Gln Thr Tyr  
 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920  
 Ile Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Cln Asn Asn Asp Lys Ser Ala  
 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000  
 Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Gln Cln Met His Val Ile His Tyr Cln  
 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080  
 Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Ser Ser His Cln Gly Phe  
 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160  
 Tyr Ser Phe Thr His Pro Val Lys Cln Asn Cln Ser

- <210> 89
- <211> 556
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus pyogenes serotip M12 (suş MGAS2)

- <220>
- <223> hiyalüronan liyaz

- 10 <400> 89

Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Gln Ser Thr Phe Ile Ile Ser Phe  
 1 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90  
 Leu Tyr Thr Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His  
 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170  
 Lys Gln Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met  
 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250  
 Gly Gln Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Asn Ser Cln

60 Asp Asp Asp Thr Tyr Phe Glu Thr Glu Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser  
 61 Glu Lys Lys Val Val Ser Val Glu Glu Lys Asp Tyr Lys Thr Val Val Leu  
 62 Leu Asp Glu Arg Asp Ser Ile Ile Ala Gly Asp Asp Ala Tyr Asp Lys  
 63 Thr Asp Thr Asp Met Val Thr Phe His Asp Lys Ala Ser Lys Asp Ala  
 64 Glu Asn Thr Thr Tyr Ser Tyr Glu Gly Phe Asp Asp Thr Ser Asp Arg Trp  
 65 Tyr Leu Gly Asp Met His Asp Ile Ile Ser Leu Leu Leu Ile Ser Asp  
 66 Lys Leu Thr Ala Ile His Lys Lys Ile Ser Lys Met Lys Ser Leu Met  
 67 Glu Asp Ser Thr Ile Ser Thr Asp Gly Leu Thr Glu Ser Thr Ile Lys Ile  
 68 Lys Asp Asp Ser Asp Arg Val Thr Tyr His Asp Lys Gly Leu Asp Ala  
 69 Ala Ala Gly Leu Ser Ser Thr Ser Lys Asn Val Ala Arg Tyr Glu Ser  
 70 Ile Asp Gly His Asp Leu Lys Gly Trp His Thr Gly Ala Gly Met Ser  
 71 Tyr Leu Tyr Ser Ser Asp Val Tyr His Tyr Arg Asp Asp Thr Thr Ala  
 72 Thr Ala Asp Met Lys Arg Leu Ala Gly Thr Thr Thr Leu Asp Asp Glu  
 73 Glu Pro Lys Ser Thr Asp Val Lys Lys Ser Ser Lys Thr Thr Val Gly  
 74 Gly Thr Tyr Phe Asp Asp Glu His Ala Ser Thr Gly Met Asp Phe His  
 75 Asp Ser Asp Lys Thr Leu Thr Ala Lys Lys Ser Tyr Phe Ile Thr Asp  
 76 Asp Lys Ile Val Asp Leu Gly Thr Gly Ile Lys Ser Thr Asp Ser Ser  
 77 Lys Asp Thr Val Thr Thr Ile Glu Glu Asn Arg Lys Ala Asp Asp Tyr Lys  
 78 Thr Tyr Tyr Asp Asp Thr Thr His Thr Thr Asn Ser Asp Asp His Thr  
 79 Asp Ser Ser Phe Thr Ser Ser Thr Thr Asp Ser Thr Glu Ser Asp Thr Gly  
 80 Tyr Glu Phe Leu Asn Ser Ser Lys Ile Thr Val Lys Lys Glu Ser His  
 81 Thr Gly Lys Arg Asp Asp Ile Asn Lys Ser Thr Lys Asp Ile Thr Lys  
 82 Thr Asp Glu Tyr Tyr Ile Val Thr Glu Lys His Ser Asp Thr Asp Ser  
 83 Lys Tyr Ala Tyr Val Thr Tyr Thr Gly Thr Ser Lys Asp Val Phe Lys  
 84 Ser Lys Ala Ser Tyr Val Thr Thr Val Val Tyr Ser Glu Asp Phe His  
 85 Val Val Lys Asp Asn Ile Ser Val Trp Ala Gly Ile Asp Tyr Ser Asp  
 86 Ser Ala Tyr Thr Thr Ile His Asn Asp Thr Lys Val Ser Val Tyr Ala  
 87 Lys Gly Met Phe Ile Thr Thr Lys Lys Asp Asp Asn Thr Tyr Glu Lys  
 88 Ser Ala Tyr Asp Ser Glu Ser Thr Asn Ser Val Ser Asp Ile Glu Ser  
 89 Lys Ile Ser Ser Thr Gly Tyr Ser Ile Ile Asp Lys Asp Thr Ser Thr  
 90 Ser Asp Glu Ser Gly Val Arg Phe Ser Thr Thr Tyr Lys

<210> 90

<211> 635

5 <212> PRT

<213> Streptococcus pyogenes serotip M12 (suş MGAS2)

<220>

<223> hiyalüronan liyaz

<400> 90

Met Ala Phe Met Tyr Glu His Ala Tyr Asn Leu Asn Arg Glu Asn His  
 1 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90  
 Gly Thr Phe Arg Ala Ile Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Pro Tyr  
 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160  
 Phe Thr Glu Glu Glu Ile Leu Lys Tyr Thr Ala Phe Ile Glu Lys Phe  
 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230  
 Val Phe Asp Phe Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser Phe  
 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300  
 Phe Glu Ala Ser Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys Leu  
 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370  
 Ile Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asn Asn Leu Glu Phe Ser Asp Thr Ile  
 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440  
 Lys Ala Ile Glu Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asn Gly Phe  
 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510  
 Tyr Glu Asp Gly Ser Leu Ile Asn His Val Val Thr Asn Ala Glu Ser  
 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580  
 Phe Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Tyr Thr Gly Phe Tyr Gly Asn Val  
 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650  
 Ser Ile Asp Gly Ser Ser Glu Leu Ile Pro Ile Leu Glu Lys Thr Lys  
 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720  
 Ser Phe Ile Glu Ala Asn Lys Met Ala Thr Ile Tyr His Thr Ile Asn  
 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790  
 His Ser Phe Phe Pro Ile Ile Val Arg Gly Glu Val Met Asn Met Thr  
 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860  
 Arg Gly Arg Ser Ile Ser Arg Phe Asn Ala Glu Ser His Val Ala Gly  
 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930  
 Ile Glu Ala Leu Arg Ala Leu Leu Arg Leu Ala Asp Met Ser Glu Glu  
 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000  
 Phe His Arg Leu Ala Ser Lys Thr Arg Leu Lys Thr Leu Val Thr Glu  
 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070  
 Gly Asn Ala Phe Tyr Asn Val Tyr Asp Asn Leu Lys Thr Tyr His Asp  
 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140  
 Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Ser Val Glu  
 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210  
 Lys Leu Asp Ser Tyr Val Ala Ser Phe Asn Ser Met Asp Lys Leu Asn  
 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280  
 Leu Tyr Asn Asn Lys His Arg Phe Ala Phe Gly Leu Ser Met Phe Ser  
 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350  
 Asn Arg Thr Glu Asn Tyr Glu Ala Met Asn Asn Glu Asn Leu His Gly  
 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420  
 Thr Phe Thr Ser Asp Gly Met Thr Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu Gly  
 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490  
 His Tyr Ser Glu Asn Tyr Arg Ala Thr Val Asn Phe Tyr Arg Leu Pro  
 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560  
 Gly Thr Thr Glu Thr Glu Glu Lys Pro Leu Glu Gly Thr Pro Glu Asn  
 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630  
 Ile Lys Thr Asn Tyr Glu Glu Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp Asp  
 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700  
 Ala Phe Val Ala Ser Lys Lys Leu Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala Ala  
 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770  
 Met Ser Phe Thr Asn Arg Asn Lys Ser Leu Thr Ser Asn Lys Gly Arg

```

420                               430                               440
Phe Ile Leu Gly Asp Lys Ile Ile Phe Val Gly Ser Asp Ile Lys Asp
430                               440                               445
Ser Ser Ser His Lys Ala Tyr Thr Thr Leu Glu Ser Asp Lys Glu Asp
450                               455                               460
Tyr Lys His His Tyr Cys Ser Tyr Val Asn Asn Ser His Val Asp Leu
465                               470                               475
Asn Asn His Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Cys Ser Ile Pro Leu Glu
480                               485                               490
Ser Asn Asp Ser Ala Glu Asn Ile Gly Tyr Tyr Phe His Lys Pro Thr
490                               500                               505
Ser Leu Ser Ile Ser Lys Ala Leu Glu Thr Gly Lys Ser His Asp Ile
510                               515                               520
Lys Ala Asp Asp Lys Ser Pro His Ala Ile Lys His Val Ser Asp Thr
520                               525                               530
Phe Ile Thr Ile Met Glu Asp His Thr Glu Asn Gly Asp Arg Tyr Ala
535                               540                               545
Tyr Met Met Leu Pro Asn Met Thr Arg Glu Glu Phe Glu Thr Tyr Ile
545                               550                               555
Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asp Asp Lys Leu Ala Ala
560                               565                               570
Val Tyr Asp His Asp Ser Ser Glu Glu Met His Val Ile His Tyr Glu Lys
570                               575                               580
Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His His Gly Pro Tyr
585                               590                               595
Ser Phe Ser His Pro Val Lys His Asn Glu Glu                               600
605                               610                               615

```

<210> 91  
 <211> 828  
 5 <212> PRT  
 <213> Streptococcus pyogenes serotip M12 (suş MGAS9)

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

10

```

<400> 91
Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Glu Ser Thr Phe His Ile Ser Phe
5                               10                               15
Leu Lys Asp Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His
20                               25                               30
Lys His Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser His Ala Met Met
35                               40                               45
Gly His Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asn Ser Glu
50                               55                               60
Pro Asn Asp Thr Tyr Phe Glu Thr Glu Thr Leu Thr Thr Thr Asp Ser
65                               70                               75
Glu Lys Lys Val Val Glu Pro Glu Glu Lys Asp Tyr Tyr Thr Glu Leu
80                               85                               90
Ser Asn His Thr Asp Ser Thr His Ala Gly Asn Asp Ala Tyr Val Tyr
95                               100                              105
Ser Asn His Asp Met Val Ser His His Asn Lys Ala Glu Lys Asp Ala
110                              115                              120
Glu Asn Ile Ile Lys Ser Tyr His Gly Pro Asp His His Asp Arg Thr
125                              130                              135
Tyr Leu Thr Glu His Ala Lys Asp Tyr Ser Ala Ser Thr Asn Ile Thr
140                              145                              150
Lys His Tyr Arg Asn Ile Glu Lys Ile Ala Lys His His Thr Asn Pro
155                              160                              165
His Ser Cys Tyr Tyr Glu Asp Ser Lys Ala His Ala His Val Lys Asp
170                              175                              180
Gly Met Ala His Met Tyr His His Ala Tyr Asn Ser Asn Arg His Asp
185                              190                              195

```





Thr Thr Leu Ser Leu Ser Lys Ala Leu Glu Thr Pyl Lys Tap Glu Asn  
 735 737  
 Leu Lys Ala Asp Asp Lys Ser Ser Glu Ala Leu Lys Glu Val Ser Asn  
 739 741  
 Ser Phe Ile Thr Ile Met Ala Asn His Thr Cln Asp Gly Asp Arg Tyr  
 743 745  
 Ala Tyr Met Met Ser Pro Asn Met Thr Arg Cln Cln Phe Cln Thr Tyr  
 747 749  
 Leu Ser Lys Leu Asp Ile Asp Leu Leu Cln Asn Asp Asp Lys Ser Ala  
 751 753  
 Ala Val Tyr Asp His Asp Ser Cln Cln Met His Val Ile His Tyr Cln  
 755 757  
 Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Ser Ser His Cln Gly Phe  
 759 761  
 Tyr Ser Phe Pro His Pro Val Lys Glu Asn Glu Ser  
 763 765

- <210> 92
- <211> 828
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus pyogenes serotip M28

<220>  
 <223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 92  
 Met Val Tyr Phe Tyr Leu Val Asn Glu Phe Thr Phe Ile Ile Ser Phe  
 1 3  
 Leu Tyr Arg Arg Asn Leu Ser Val Asn Thr Tyr Phe Cys Thr His His  
 5 19  
 Lys Glu Leu Leu Leu Tyr Ser Asn Leu Phe Leu Ser Phe Ala Met Met  
 23 47  
 Gly Glu Gly Thr Ala Ile Tyr Ala Asp Thr Leu Thr Ser Asp Ser Glu  
 51 75  
 Pro Asp Asp Thr Tyr Phe Cln Thr Glu Met Leu Thr Thr Thr Asp Ser  
 83 107  
 Cln Lys Lys Val Val Cln Pro Glu Cln Lys Asp Tyr Tyr Thr Cln Ser  
 111 135  
 Ser Asp Glu Thr Asp Ser Ile Ile Ala Gly Asp Asp Ala Tyr Asp Lys  
 139 163  
 Ser Asp Ser Asp Met Val Ser Phe His Asp Lys Ala Glu Lys Asp Ala  
 171 195  
 Cln Asn Ile Ile Lys Ser Tyr Cln Gly Pro Asp His Cln Asn Arg Thr  
 203 227  
 Tyr Ser Thr Cln His Ala Lys Asn Tyr Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr  
 245 269  
 Lys Ser Tyr Arg Asp Ile Cln Lys Ile Ala Lys Cln Ile Thr Asp Pro  
 281 305  
 Cln Ser Cys Tyr Tyr Cln Arg Ser Lys Ala Ile Ala Ile Val Lys Asp  
 317 341  
 Gly Met Ala Phe Met Tyr Cln Arg Ala Tyr Asn Ser Asp Arg Cln Asn  
 353 377  
 His Cln Ser Thr Gly Lys Cln Asn Lys Cln Asn Arg Tap Val Tyr Cln  
 389 413  
 Leu Gly Thr Phe Arg Ala Leu Asn Asn Thr Leu Ser Leu Met Tyr Phe  
 425 449  
 Tyr Phe Thr Glu Glu Glu Ile Leu Lys Tyr Thr Ala Phe Ile Glu Lys  
 461 485  
 Phe Val Phe Asp Phe Thr Arg Phe Arg Val Arg Ala Ala Asn Phe Ser  
 497 521  
 Pro Phe Glu Ala Asp Ser Gly Asn Leu Ile Asp Met Gly Arg Val Lys  
 533 557

190 Ser His Ser Gly Ile Leu Arg Lys Asp Asp Leu Glu Ile Ser Asp Thr  
 191 Ile Lys Ala Leu Val Lys Val Phe Thr Leu Val Asp Glu Gly Asp Lys  
 192 Phe Tyr Glu Asp Lys Ser Leu Thr Asp His Val Val Thr Asn Ala Lys  
 193 Ser Pro Leu Tyr Lys Lys Gly Ile Ala Lys Thr Gly Ala Tyr Gly Asn  
 194 Val Leu Ile Asp Gly Leu Ser Glu Leu Ile Pro Ile Ile Glu Lys Thr  
 195 Lys Ser Ser Ile Glu Ala Asp Lys Met Ala Thr Ile Tyr Asn Trp Leu  
 196 Asp Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Val Arg Gly Glu Met Met Asp Met  
 197 Thr Arg Gly Arg Ser Thr Ser Arg Phe Asp Ala Glu Ser His Val Ala  
 198 Gly Ile Glu Ala Leu Arg Ala Ala Thr Leu Asp Thr Ala Asp Met Ser Lys  
 199 Glu Pro Arg Arg Leu Ala Leu Lys Thr Arg Ile Lys Thr Leu Val Thr  
 200 Glu Gly Asp Ala His Lys Asn Val Lys Asp Asn Leu Lys Thr Tyr Asn  
 201 Asp Ile Lys Leu Met Lys Glu Leu Leu Ser Asp Thr Ser Val Leu Val  
 202 Glu Tyr Leu Asp Ser Thr Val Ala Ser Pro Asp Ser Met Asn Lys Leu  
 203 Ala Thr Tyr Asp Ser Lys His His Asn Phe Ala Phe Gly Thr Ser Met Thr  
 204 Ser Asn Asp Thr Glu Asn Tyr Glu Arg Met Asn Asn Glu Asn Leu Thr  
 205 Gly Tyr Thr Thr Ser Asp Gly Met Phe Tyr Leu Tyr Asn Asn Asp Leu  
 206 Gly His Tyr Ser Leu Asp Arg Tyr Trp Ala Thr Val Asn Pro Tyr Arg Leu  
 207 Pro Gly Thr Thr Glu Thr Glu Glu Lys Pro Leu Glu Gly Thr Thr Thr  
 208 Asp Ile Lys Thr Asn Lys Glu Glu Val Gly Met Thr Ser Leu Ser Asp  
 209 Asp Ala Glu Val Ala Ser Lys Lys Leu Asp Asn Asn Thr Ser Ala Leu Ala  
 210 Ala Met Thr Ser Thr Asn Glu Asn Lys Ser Leu Thr Leu Asn Lys Leu  
 211 Thr Glu Ile Thr Thr Lys Asp Tyr Thr Thr Thr Thr Val Gly Ser Asn Thr Lys  
 212 Asp Thr Ser Ser Ser Glu Leu Ala Ala Tyr Thr Thr Thr Glu Glu Asp Lys  
 213 Leu Asn Asp Glu Leu Val Asp Phe Thr Asn Thr Lys Ser Thr Thr Leu  
 214 Glu Ser Asp Arg Ser Asn Glu Asn Glu Gly Lys Tyr Glu Glu Lys Pro  
 215 Thr His Leu Ser Thr Ser Lys Ala Leu Glu Thr Gly Lys Trp Glu Asn  
 216 Thr Tyr Ala Asp Arg Leu Ser Ser Pro Glu Ala Thr Tyr Glu Val Ser Asp  
 217 Thr Thr Ile Thr Thr Thr Met Glu Asn His Thr Glu Asp Gly Asp Arg Tyr  
 218 Ala Tyr Met Met Thr Ser Ser Met Thr Thr Asp Glu Glu Thr Thr Thr  
 219 Ile Ser Lys Ser Asp Ile Asp Leu Leu Glu Asn Asp Asp Lys Leu Ala  
 220 Ala Val Tyr Asp Ser Asp Ser Glu Glu Met His Val Ile Asn Tyr Glu  
 221 Lys Lys Ala Thr Met Phe Ser Asn His Asn Leu Ser His Glu Gly Thr  
 222 Tyr Ser Pro Pro His Pro Val Tyr Glu Asp Glu Ser  
 223 820 825

- <210> 93
- 5 <211> 522
- <212> PRT

<213> Streptococcus suis

<220>

<223> hiyalüronan liyaz

5

<400> 93

Met Gly Phe Phe Ile Ser Ser Ser Lys Glu His Tyr Gly Ile Arg Lys  
1 5 16  
Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Met Ser Ile Val Gly  
19 24 30  
Tyr Arg Val Ala Ala Asp Lys Leu Phe Ser Thr Val Thr Ala Ser Pro  
35 41 45  
Ser Ser Ser Glu Leu Val Ser Thr Thr Pro Glu Thr Thr Glu Ala Val  
47 53 61  
Ser Ser Thr Thr Glu Ala Val Met Thr Ser Gly Val Ser Ser Glu Val  
65 71 80  
Ser Phe Val Thr Ser Thr Ser Thr Glu Pro Ser Ser Thr Ala Ala Glu  
85 91 95  
Thr Leu Ala Ser Pro Glu Ala Val Glu Ala Thr Lys Glu Glu Glu Lys  
100 105 110  
Asn Leu Val Ala Asp Gly Ser Phe Ala Ser Thr Thr Ala Ala Ser Gly  
115 120 125  
Asn Thr Ala Asp Pro Ala Ala Thr Asn Thr Glu Thr Thr Ile Pro Asn  
130 135 141  
Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Ser Glu Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu  
145 150 160  
His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr Arg Val Ala Val His Glu 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 Ser Glu Glu Phe Ala Tyr Thr Pro Tyr  
210 215 221  
Lys Asn Gly Ser Glu Ala Glu Ser Ile Glu Glu Ile Leu Thr Val Ser  
225 230 240  
Pro Glu Ser Arg Lys Leu Lys Val Glu Leu Phe Phe Glu Asn Ser Val  
245 250 255  
Gly Glu Ala Thr Leu Arg Asn Ile Ser Leu Val Phe Tyr Val Glu Lys  
260 265 270  
Thr Pro Glu Thr Pro Glu Pro Ser Leu Glu Leu Val Glu Pro Glu Thr  
275 280 285  
Gly Glu Ile Ser Ser Ala Ser Asn Lys Val Tyr Leu Leu Val Arg Pro  
290 295 300  
Asp Leu Thr Tyr Arg Ile Ala Asn Ala Val Ala Ile Val Ile Lys  
305 310 320  
Asn Met Ile Arg Pro Ser Ala Ala Gly Lys Thr Glu Val Asp Val Tyr  
325 330 335  
Asn Lys Asp Thr Lys Met Ser Ser Phe Glu Met Thr Val Thr Glu His  
340 345 350  
Ile Ala Thr Val Phe Asp Thr Leu Arg Asn Asn Arg Glu Asp Ile Ser  
355 360 365  
Leu Ala Asn Lys Arg Tyr Glu Ser Asn Asp Thr Glu Met Lys Ala Phe

```

      310          325          340
Leu Gly Arg Leu Asp Ala Gly Val Ala Ser Ser Leu Lys Lys Trp Val
185 197 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213
Trp Pro Ser Asn Glu Gly Lys Ser Ile Phe Asn Asp Ile Asp Phe Ser
401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413
Lys Ser Ser His Leu Thr Ser Val Tyr Arg Arg Leu Glu Glu Met Ala
420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432
Glu Val Val Glu Asn Pro Asp Ser Ala Tyr Tyr His Asn Arg Ser Leu
433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445
Ile Asp Leu Val Arg Lys Gly Met Asn Trp Leu Lys Thr Asn Val Tyr
450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462
Asn Glu Asn Lys Ser Ile Asp Gly Asn Trp Lys Asp Tyr Glu Ile Gly
463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475
Thr Pro Arg Ala Val Val Asn Thr Leu Ile Tyr Met His Pro Tyr Phe
480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492
Ser Glu Glu Glu Ile Asp Ser Tyr Thr Lys Pro Ile Ser Lys Glu Val
500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512
Phe Asp Phe Thr Thr Ile Ser Val Lys His
513 514 515 516 517 518 519 520

```

- <210> 94
- <211> 1164
- 5 <212> PRT
- <213> Streptococcus suis

- <220>
- <223> hyaluronan liyaz

10

```

<400> 94
Met Gly Phe Pro Ile Ser Ser Ser Lys Glu His Tyr Gly Ile Arg Lys
5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95
Tyr Lys Val Gly Val Cys Ser Ala Leu Ile Ala Leu Ser Ile Leu Gly
100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185
Asp Arg Val Ala Ala Asn Glu Leu Pro Ser Thr Ile Thr Ser Ala Ser Pro
190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275
Ile Ser Ser Glu Leu Val Ser Glu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu Val
280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365
Met Thr Ser Glu Val Ser Glu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Glu
370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455
Thr Glu Val Ser Ser Thr Thr Ala Glu Thr Ile Phe Ser Pro Glu Ala
460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545
Val Glu Ala Thr Lys Glu Glu Lys Asn Ile Val Phe Asn Gly Glu Phe
550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635
Ile Ser Thr Thr Ala Phe Ser Gly Asn Trp Lys Ala Leu Ala Ala Thr
640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725
Asp Trp Glu Thr Trp Ile Pro Ala Asn Val Lys Lys Glu Asn Gly Glu
730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815
Val Arg Ile Asp Glu Gly Arg Leu His Ile Ser Ser Thr Ala Ser Tyr
820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905
Arg Val Ala Val His Glu His Val Asp Val Asp Pro Asn Lys Arg Tyr
910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995
Leu Phe Ser Tyr Asp Val Glu Thr Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val
1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085
Arg Val Arg Leu Arg Ser Ser Thr Ala Glu Gly Lys Asn Leu Ser Pro
1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175
Ser Glu Phe Ala Tyr Thr Pro Tyr Lys Asn Gly Ser Glu Ala Glu His
1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265
Ile Glu Glu Ile Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr Arg Lys Leu Lys Val
1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355
Glu Leu Thr Phe Glu Asn Ser Val Gly Glu Ala Trp Leu Asp Asn Ile
1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445
Ser Leu Val Glu Tyr Val Ser Lys Thr Pro Glu Thr Pro Glu Glu Ser
1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535

```

			269					272									
Pro	Glu	Tyr	Val	Pro	Pro	Pro	Pro	Arg	Gly	Gly	Thr	Ser	Thr	Ala	Ser	Asp	
		275						283									
Tyr	Val	Tyr	Leu	Pro	Val	Arg	Thr	Asp	Leu	Thr	Tyr	Arg	Ile	Ala	Asp		
		290						292									
Ala	Ala	Val	Ala	Thr	Val	Pro	Ser	Asn	Met	Thr	Arg	Thr	Leu	Ala	Ala		
		301						310									
Gly	Lys	Pro	Val	Val	Asp	Val	Tyr	Asp	Lys	Asp	Thr	Lys	Leu	Ser	Ser		
		321						330									
Pro	Glu	Tyr	Ile	Val	Thr	Glu	His	Val	Ala	Thr	Val	Thr	Asp	Thr	Leu		
		340						341									
Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Asp	Trp	Pro	Leu	Ala	Asn	Lys	Arg	Tyr	Glu	Ser		
		355						363									
Asn	Asp	Ala	Ala	Ser	Lys	Ala	Pro	Leu	Gly	Arg	Leu	Asp	Ala	Gly	Val		
		370						375									
Ala	Ser	Ser	Leu	Ala	Lys	Trp	Val	Glu	Ser	Thr	Glu	Ala	Ser	Lys	Thr		
		385						395									
Ile	Pro	Asn	Asp	Ile	Asp	His	Ser	Lys	Ser	Ser	Arg	Leu	Thr	Thr	Val		
		401						410									
Lys	Arg	Asn	Leu	Glu	Glu	Ser	Ala	Ser	Val	Val	Glu	Asn	Ser	Asn	Ser		
		420						428									
Ala	Lys	Lys	His	Asn	Asn	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Val	Arg	Lys	Gly	Ser		
		435						443									
Asn	Leu	Leu	Lys	Ala	Asn	Val	Lys	Asn	Ser	Ser	Lys	Ser	Ile	Asn	Gly		
		450						452									
Asn	Thr	Thr	Asp	Tyr	Pro	Trp	Arg	Thr	Ser	Arg	Ala	Val	Val	Asn	Pro		
		465						47									
Trp	Ile	Tyr	Met	His	Pro	Tyr	Thr	Ser	Leu	Ala	Ala	Trp	Trp	Tyr			
		481						48									
Thr	Lys	Pro	Trp	Ser	Lys	Pro	Val	Pro	Asp	Pro	Thr	Thr	Ile	Asp	Lys		
		500						510									
Pro	Leu	Thr	Asn	Pro	Val	Pro	Ala	Val	Gly	Gly	Asn	Glu	Thr	Asp	Leu		
		515						521									
Ser	Lys	Val	Ala	Leu	Leu	Ala	Gly	Ala	Leu	Arg	His	Asp	Ala	Asp	Arg		
		530						535									
Val	Arg	Ala	Gly	Ala	Glu	Gly	Leu	Thr	Thr	Ile	Met	Lys	Leu	Val	Asp		
		545						555									
Lys	Gly	Glu	Gly	Pro	Lys	Asn	Asp	Leu	Ser	Pro	Leu	Asn	His	Thr	Asn		
		560						570									
Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Ala	Tyr	Glu	Asn	Val	Leu	Trp	Glu	Gly	Pro	Ser		
		580						592									
Glu	Pro	Tyr	Pro	Val	Trp	Glu	Pro	Thr	Glu	Pro	Ala	Thr	Tyr	Glu	Glu		
		595						603									
Glu	Thr	Asn	Ile	Leu	Tyr	Glu	Trp	Thr	Leu	Lys	Ala	Thr	Met	Pro	Ile		
		610						611									
Leu	Val	Arg	Gly	Pro	Leu	Met	Asp	Met	Thr	Arg	Lys	Arg	Ser	Ile	Ser		
		621						63									
Asn	Ala	Thr	Gly	Pro	Ser	His	Val	Leu	Ala	Met	Ala	Thr	Leu	Asn	Ser		
		645						651									
Leu	Val	Arg	Ile	Ala	Glu	Ser	Ala	Glu	Leu	Glu	Glu	Lys	Thr	Lys	Leu		
		660						665									
Leu	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Glu	Leu	Thr	Ser	Asp	Thr	Pro	Tyr	Asp	Ser		
		675						683									
Tyr	Arg	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Lys	Asp	Ile	Asp	Leu	Val	Asn	Lys	Leu		
		690						691									
Leu	Ala	Asp	Asn	Glu	Glu	Pro	Ala	Glu	Val	Asp	Lys	Asp	Tyr	Ile	Ala		
		710						715									
Ala	Pro	Asn	Asn	Met	Asn	Lys	Pro	Val	Lys	Ala	Ser	Ala	Glu	Glu	Gly		
		721						732									
Pro	Ile	Pro	Ala	Leu	Ser	Met	Lys	Ser	Ser	Arg	Leu	Glu	Asn	Lys	Glu		
		740						742									
Asn	Met	Asn	Asn	Pro	Asn	Arg	Ser	Gly	Trp	Tyr	Trp	Ala	Asn	Gly	Met		
		755						763									

Val Tyr Leu Tyr Asn Asp Asp Leu Ser His Tyr Ser Asn His Tyr Trp  
 770 775 780  
 Ala Thr Val Asp Phe Tyr Arg Leu Phe Gly Thr Thr Thr Thr Lys Asp  
 785 790 795  
 Lys Arg Glu Asp Gly Ser Gly Glu Val Thr Leu Ala Ser Asp Phe Val  
 800 805  
 Gly Ala Ser Glu Leu Gly Asn Arg Leu Ala Thr Ile Ala Met Asp Phe  
 810 815 820  
 Asn Asn Trp Asn Asn Ser Leu Thr Ala Arg Lys Ala Trp Ile Val Leu  
 825 830 835  
 Gly Asn Lys Ile Val Phe Leu Gly Thr Asp Ile Ser His Glu Ser Ala  
 840 845 850  
 Glu Gly Ala Glu Thr Thr Ile Glu Asn Arg Lys Leu Leu Thr Gly Glu  
 855 860 865  
 Lys Tyr Ser Tyr Tyr Ile Asn Gly Glu Phe Val Arg Leu Ser Lys Glu  
 870 875 880 885  
 Val Val Thr Asp Lys Thr Glu Ser Phe Tyr Met Thr Asn Gly Lys Asp  
 890 895 900  
 Asn Glu Ser Ile Gly Tyr Val Phe Leu Asn Glu Leu Phe Thr His Ala  
 905 910 915 920  
 Lys Leu Asp Glu Arg Thr Gly Lys Trp Ser Asp Ile Asn Tyr Asn Glu  
 925 930 935 940  
 Ser Lys Glu Glu Val Ser Asn Ser Phe Val Ser Ser Trp His Glu Ser  
 945 950 955 960  
 Ala Glu Thr Ser Ser Asn Tyr Ala Tyr Val Leu Val Phe Asn Glu Ser  
 965 970 975 980  
 Met Glu Lys Val Asn Glu Ala Ala Ala Ser Val Lys Leu Leu His Glu  
 985 990 995  
 Asn Arg Asp Leu Cys Val Val Tyr Asn Cys Cys Ser Asn Val Trp Gly  
 1000 1005 1010  
 Val Val Lys Tyr Thr Asp Thr Ala Tyr Lys Leu Thr Asn Asp Ile Thr  
 1015 1020 1025  
 Leu Thr Asp Ala Gly Asn Lys Thr Ile Glu Lys Val Glu Gly Gly Tyr  
 1030 1035 1040  
 Arg Ile Ala Phe Tyr Asn Phe 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 Thr Thr  
 1060 1065 1070  
 Ala Ala Tyr Ser Ser Thr Val Thr Lys Val Thr Met Asn Glu Gly Ser  
 1075 1080 1085  
 Asp Lys Glu Thr Gly Ser Val Glu Lys Thr Glu Lys Glu Glu Lys Glu  
 1090 1095 1100  
 Ser Lys Glu Asn Glu Phe Ser Ser Glu Val Lys Glu Val Val His His  
 1105 1110 1115  
 Ala Ala Glu Lys Thr Lys Phe Ser Lys Thr Arg Leu Arg Glu Thr Gly  
 1120 1125 1130  
 Glu Glu Ala Ser Ser Gly Asn Gly Thr Ser Gly Leu Leu Thr Ser Gly  
 1135 1140 1145  
 Ala Val Val Asp Phe Lys Tyr Arg Asp Ser His Ser  
 1150 1155 1160

<210> 95  
 <211> 1164  
 5 <212> PRT  
 <213> Streptococcus suis

<220>  
 <223> hyaluronan liyaz

10 <400> 95  
 Met Gly Phe Phe Ile Ser Glu Ser Lys Glu His Tyr Gly Ile Arg Lys  
 1 5 10 15

Tyr Lys Val Gly Val Phe Ser Ala Thr Ile Asp Leu Arg Thr Leu Lys  
 33  
 Thr Arg Val Ala Ala Asp Ser Leu Phe Ser Ser Thr Glu Thr Ala Ser Ser  
 34  
 Glu Ser Ser Glu Leu Val Ser Ser Leu Thr Thr Pro Glu Thr Thr Thr Ala Val  
 35  
 Met Thr Ser His Val Ser Ser Ser Leu Val Ser Pro Val Thr Ser Thr Thr  
 36  
 Thr Glu Asp Ser Ser His His Ala Glu Thr Leu Ala Ser Asp Glu Ala  
 37  
 Val His Ala Thr Lys Glu Glu Lys Asp Leu Val Ala Asp Gly Glu Phe  
 38  
 Thr Ser Thr Thr Ala Thr Ser Ser Gly Ser Thr Thr Lys Glu Thr Ala Thr  
 39  
 Asp Thr Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 40  
 Val Asp Thr Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp  
 41  
 Arg Val Ala Val Val Glu His His Val Arg Val Arg Val Arg Val Arg Val  
 42  
 Leu Phe Ser Tyr Arg Val His Thr Lys Asp Leu Lys Gly Ser Gly Val  
 43  
 Arg Val Arg Ser Arg Ser Ser Thr Ala Glu Gly Lys Asp Ser Ser Ser  
 44  
 Glu Glu Phe Ala Tyr Thr Thr Thr Tyr Lys Ser Gly Ser Glu Ala Glu Thr  
 45  
 Thr Glu Glu Thr Thr Thr Thr Val Ser Pro Glu Thr Asp Lys Thr Lys Val  
 46  
 Glu Thr Phe Thr Glu Ser Ser Val Gly Glu Ala Thr Thr Thr Asp Ser Thr  
 47  
 Ser Thr Val Glu Tyr Val Ser Lys Thr Thr Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 48  
 Pro Thr Ser Val Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 49  
 Lys Val Tyr Ser Thr Val Arg Pro Arg Ser Thr Tyr Arg Thr Ala Asp  
 50  
 Ala Ala Val Ala Thr Val Ser Lys Asp Ser Thr Arg Ser Ser Ala Ala  
 51  
 Gly Lys Thr Glu Val Asp Val Lys Asp Lys Asp Thr Lys Ser Ser Ser  
 52  
 Phe Glu Leu Leu Val His Glu His Glu Ala Thr Val Ser Asp Thr Leu  
 53  
 Asp Asp Asp Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 54  
 Asp Asp Ala Thr Met Thr Ala Ala Phe Thr Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 55  
 Ala Ser Ser Ser Ser Lys Thr Val Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 56  
 Thr Phe Asp Arg Thr Asp Phe Ser Lys Ser Ser Glu Ser Thr Thr Thr Thr  
 57  
 Tyr Arg Arg Ser Thr Thr Ser Ala Thr Val Val Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 58  
 Ala Lys Tyr Asp Asp Arg Ser Ser Leu Thr Arg Ser Val Arg Lys Gly Met  
 59  
 Asp Thr Thr Thr Thr Thr Thr Val Tyr Arg Glu Asp Tyr Ser Thr Thr Thr  
 60  
 Asp Thr Thr Asp Tyr Glu Thr Gly Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 61  
 Thr Thr Tyr Met Thr Ser Tyr Phe Ser Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 62  
 Thr Lys Thr Thr Ser Lys Phe Val Ser Arg Pro Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 63  
 Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr Thr  
 64

		575				575					575				
Ser	Tyr	Val	Met	Thr	Leu	Pro	Val	Leu	Arg	Pro	Asn	Met	Asn	Arg	
530						575									
Val	Arg	Ala	Gly	Asp	Pro	Gly	Leu	Thr	Thr	Trp	Met	Tyr	Trp	Val	Asp
541						575									561
Tyr	Gly	Pro	Gly	Phe	Tyr	Arg	Asp	Gly	Ser	Phe	Trp	Asn	Met	Thr	Asp
				581											565
Val	Ala	Tyr	Thr	Gly	Asp	Tyr	Leu	Asn	Val	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
				589											567
Glu	Leu	Leu	Pro	Val	Trp	Glu	Pro	Thr	Leu	Pro	Asn	Leu	Tyr	Gly	Gly
				595											567
Glu	Ser	Asn	Leu	Leu	Tyr	Leu	Trp	Leu	Leu	Leu	Asn	Trp	Met	Pro	His
				609											567
Leu	Val	Arg	Gly	Glu	Leu	Met	Asp	Met	Glu	Arg	Gly	Asp	Ser	His	Ser
				636											641
Arg	Ala	Leu	Gly	Glu	Ser	His	Val	Glu	Ala	Met	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser
				647											655
Leu	Val	Arg	Glu	Ala	Glu	Ser	Ala	Glu	Pro	Glu	Gly	Tyr	Thr	Lys	Leu
				660											660
Leu	Ser	Phe	Val	Lys	Ala	Glu	Leu	His	Ser	Asp	Leu	Phe	Tyr	Asn	Ser
				675											685
Lys	Arg	Ser	Leu	Lys	Ser	Lys	Lys	Asp	Glu	Asp	Leu	Val	Asn	Lys	Leu
				690											690
Leu	Ala	Asp	Asn	Glu	Glu	Phe	Ala	Leu	Val	Asp	Lys	Asn	Tyr	His	Ala
				710											711
Ala	Pro	Asn	Asn	Met	Asp	Tyr	Thr	Val	Tyr	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly	Gly
				721											730
Pro	Pro	Pro	Ala	Leu	Ser	Met	Tyr	Ser	Ser	Arg	Thr	Gly	Asn	Tyr	Gly
				740											737
Asn	Met	Asn	Asn	Val	Ser	Arg	Lys	Gly	Trp	Tyr	Thr	Ala	Asp	Gly	Met
				755											747
Val	Tyr	Leu	Tyr	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	His	Tyr	Ser	Asn	Gly	Tyr	Trp
				769											761
Ala	Thr	Val	Asp	Phe	Lys	Arg	Leu	Phe	Gly	Thr	Thr	Thr	Thr	Lys	Asp
				780											800
Lys	Arg	Leu	Asp	Gly	Ser	Gly	Glu	Val	Thr	Leu	Ala	Ser	Asp	Phe	Val
				800											815
Gly	Ala	Ser	Glu	Leu	Gly	Asn	Arg	Leu	Ala	Thr	Leu	Ala	Met	Asn	Pro
				820											821
Asn	Asn	Thr	Arg	Arg	Ser	Leu	Thr	Ala	Arg	Lys	Ala	Thr	His	Val	Leu
				835											845
Gly	Asn	Tyr	Thr	Val	Phe	Leu	Gly	Thr	Asp	Leu	Pro	Gly	Ser	Ala	
				850											860
Glu	Gly	Asn	Glu	Thr	Thr	Thr	Ala	Asn	Arg	Lys	Leu	Leu	Thr	Gly	Gly
				860											867
Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Trp	Asn	Leu	Leu	Thr	Val	Asp	Leu	Ser	Lys	Gly
				881											890
Val	Val	Thr	Asp	Lys	Thr	Leu	Ser	Ser	Tyr	Met	Thr	Asn	Gly	Lys	Asn
				900											910
Asn	Glu	Ser	Ala	Gly	Lys	Val	Phe	Leu	Asn	Glu	Leu	Leu	Thr	His	Ala
				915											925
Lys	Leu	Arg	Glu	Arg	Leu	Gly	Lys	Trp	Ser	Asp	Glu	Asn	Tyr	Asn	Glu
				930											940
Ser	Lys	Ala	Glu	Val	Ser	Asn	Ser	Phe	Val	Ser	Leu	Trp	His	Glu	Glu
				945											960
Ala	Glu	Leu	Ser	Ser	Asn	Lys	Ala	Lys	Val	Leu	Val	Phe	Asn	Glu	Ser
				961											965
Met	Glu	Lys	Val	Asn	Glu	Ala	Ala	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Leu	His	Glu
				980											990
Asp	Arg	Asp	Leu	Glu	Val	Val	Lys	Asp	Glu	Glu	Glu	Asn	Val	Trp	Gly
				999											1001
Val	Val	Tyr	Tyr	Thr	Asp	Thr	Ala	Thr	Lys	Leu	Thr	Asn	Asp	His	Thr
				1010											1020



Leu Thr Asp Ala Gly Leu Tyr Thr Ile Glu Lys Val Glu Gly Gly Tyr  
 1035 1039 1035 1041  
 Arg Ile Ala Ser Tyr Asn Pro Ser Thr Arg Thr Val Lys Asn Gly Ile  
 1045 1051 1055  
 His Leu Thr Lys Ala Gly Ser Ser Leu Thr Val His Met His Thr Thr  
 1060 1065 1070  
 Ala Ala Tyr Pro Ser Thr Val Thr Lys Val Thr Met Arg Glu Gly Ser  
 1075 1080 1085  
 Arg Lys Glu Thr Gly Ser Val Glu Lys Thr Glu Lys Glu Glu Lys Glu  
 1090 1095 1100  
 Met Lys Glu Asn Gln Pro Ser Ser Glu Val Lys Glu Val Val His His  
 1105 1110 1115 1120  
 Ala Ala Glu Lys Thr Lys Pro Ser Lys Pro Arg Leu Thr Glu Thr Gly  
 1125 1130 1135  
 His Glu Ala Ser Leu Gly Leu Gly Phe Leu Gly Leu Leu Thr Leu Gly  
 1141 1141 1151  
 Ala Val Val Asp Phe Lys Lys Arg Arg Ser His Ser  
 1155 1160

<210> 96

<211> 802

5 <212> PRT

<213> *Vibrio fischeri* (suş ATCC 700601 / ES114)

<220>

<223> hiyalüronan liyaz

10

<400> 96

Met Tyr Met Ile Lys Lys His Arg Leu Asn Thr Ile Ile Ala Leu Ser Met  
 1 5 10 15  
 Met Phe Leu Phe Thr Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Lys Asn Thr Glu Thr  
 20 25 30  
 Phe Glu Tyr Leu Pro Ser Arg Phe Glu Glu Val Arg Glu Asn Trp Ala  
 35 40 45  
 Thr Asn Tyr Leu Gly Arg Pro Ala Ile Thr Phe Arg Glu Thr Leu Lys  
 50 55 60  
 Asn Met Val Thr Ser Thr Asn Ser Ser Ala Glu Lys His Trp Asp Ser  
 65 70 75 80  
 Met Thr Ser Glu Pro Asn Ala Ser Gly Ile Trp Asp Asp Leu Pro Leu  
 85 90 95  
 Le Asn Lys Asp Thr Thr Leu Gly Thr Asn Ile Arg Asn Ser Tyr Glu  
 100 105 110  
 Arg Leu Phe Thr Met Ala Lys Ala Tyr Arg Leu Arg Asp Gly Asn Leu  
 115 120 125  
 His Asn Asn Glu Ser Met Leu Asn Asp Ile Met Thr Ala Met Asp Tyr  
 130 135 140  
 Le Asn Glu Asn Phe Tyr Phe Val Asn Glu Leu Glu Tyr Gly Asp Trp  
 145 150 155 160  
 Thr Glu Trp Glu Ser Ala Leu Lys Lys Asp Ile His Asn Ile Ser Val  
 165 170 175  
 Met Leu Phe Asp Asp Phe Lys Asn Asn Tyr Glu Thr Ile Ile Thr Ser  
 180 185 190  
 His Leu Asn Ala Thr Arg Tyr Phe Thr Pro Asp Phe Thr His Leu Gly  
 195 200 205  
 Val Ser Thr Gly Ala Ala Glu Ser Thr Asn Pro Asp Tyr Arg Glu Ser  
 210 215 220  
 Thr Gly Gly Asn Arg Thr Arg Asn Ala Glu Val Val Leu Ile Arg Gly  
 225 230 235 240  
 Met Leu Glu Asn Asn Ser Ser Glu Ile Ser Glu Ala Ile Ala Ala Leu  
 245 250 255  
 Phe Ala Val Ile Glu Tyr Val Ser Glu Gly Asp Gly Tyr Tyr Thr Asp  
 260 265 270

Gly Ser Thr Leu Val His Ser Asp Ile Ala Tyr Asp Gly Thr Tyr Leu  
 277 280  
 Asp Val Leu Leu Gly Val Leu Gly Ile Glu Met Asp Ala Val Ala Gly  
 290 293  
 Ser Thr Trp Ser Met Asp Asn Lys Thr Ile Ser Asp Val Tyr Asp Ile  
 303 305  
 Ile Asn Glu Ser Tyr Ile Pro Leu Leu Tyr Lys Gly Ala Met Met Asp  
 311 313  
 Met Val Asn Gly Arg Ser Ile Ser Arg Ser Ala Glu Glu Asn Ala Asp  
 317 319  
 Val Gly Leu Asn Ile Val Asn Ser Met Leu Phe Tyr Thr Asn Gly Pro  
 321 323  
 Asp Ser Asp Tyr Ser Leu Ser Leu Ser Ser Leu Ile Tyr Trp Gly  
 330 332  
 Thr Asp Asp Thr Tyr Val Ser Phe Phe Phe Asp Lys Ile Tyr Tyr Val Ser  
 340 342  
 Thr Tyr Glu Ala Ala Val His Trp Val Asp Asp Pro Thr Val Ser Leu  
 347 349  
 Lys Asp Leu Leu Ile Gly Asn Phe Ser Tyr Pro Ser Met Asp Arg Ile  
 355 357  
 Val His Asp Asn Thr Asp Asp Ala Phe Ala Leu Ala Met Val Ser Tyr  
 365 367  
 Arg Ile Gly Asn Tyr Ile Lys Met Asn Gly Glu Asn Ser Lys Gly Trp  
 371 373  
 Pro Thr Gly Asn Gly Met Trp Tyr Trp Tyr Asp Asp Glu Thr Asp Trp  
 380 382  
 Tyr Thr Gly Tyr Trp Trp Thr Val Arg Ala Ser Asp Met Thr Gly Thr  
 390 392  
 Trp Val Asp Ser Ser Trp Met Arg Arg Cys Ser Gly Glu Arg Val Gly  
 400 402  
 Gly Asn Val Asp Thr Asn Ser Ser Lys Trp Val Gly Ser Thr Ser Leu Asn  
 410 412  
 Asn Tyr Gly Ile Ala Gly Ser Lys Phe Tyr Asn Trp Ser Asp Thr Leu  
 420 422  
 Ser Ala Tyr Lys Ser Trp Phe Met Phe Arg Asn Asn Glu Val Val Met Leu  
 430 432  
 Gly Ser Asn Leu Lys Asp Glu Ser Asn Ala Asn Asn Ile Thr Ser Ile  
 440 442  
 Glu Asn Asp Leu Asn Leu Ala Glu Lys Tyr Leu Phe Ile Asp Gly Thr  
 450 452  
 Glu Glu Ala Asn Leu Phe Cys Glu Gly Ala Phe Ala Thr Phe Ser Leu  
 460 462  
 Asp Asn Tyr Thr Leu Arg Ala Ser Ser Asp Trp Ser Tyr Val Met Leu Thr  
 470 472  
 Pro Lys Thr Ser Ser Thr Ser Ser Lys Asn Asp Val Asp Gly Asn Trp Ser  
 480 482  
 Asn Ile Gly Asp Ser Lys Gly Asp Val Ser Asp Ser Tyr Leu Thr Ala  
 490 492  
 Thr Ser Thr Glu Val Asp Glu Ala Arg Tyr Glu Tyr Ala Ser Leu Pro  
 500 502  
 Asn Glu Asn Asn Asp Thr Val Val Lys Asn Lys Ala Glu Ser Asp Val  
 510 512  
 Thr Val Leu Arg Glu Asp Glu Ser Ala Ser Ala Val Glu Glu Asn Thr  
 520 522  
 Thr Asn Ile Trp Ala Arg Ser Ser Ser Trp Tyr Asn Arg Thr Val Ser Trp  
 530 532  
 Thr Asn Thr Trp Thr Leu Ser Ser Val Met Gly Tyr Met Thr Lys Gly  
 540 542  
 Glu Ser Ser Asp Thr Phe Thr Val Ala Val Ser Glu Ser Thr Thr Thr  
 550 552  
 Ile Asp Ser Val Asn Phe Thr Phe Asp Lys Glu Gly Ile Val Ile Lys  
 560 562  
 Glu Asp Ile Glu Asn Arg Val Val Leu Asn Gly Thr Thr Ser Thr Ile  
 570 572  
 Asn Ser Ser Gly Leu Glu Gly Glu Ser Tyr Ser Phe Glu Val Thr Leu  
 580 582  
 Thr Asp

- <210> 97
- <211> 517
- <212> PRT

<213> Synechococcus türü (suş RCC307)

<220>

<223> hiyalüronan liyaz

5

<400> 97

Met Gly Ala Phe Ala Ile Phe Lys Val Phe Arg Ser Phe Ser Lys Ser  
 1 5 10  
 Ser His Thr Thr Arg Pro Ser Ser Gly Glu Ser Glu Val Val Arg Ser  
 10 15 20 25  
 Ala Gly Glu Leu Phe Glu Ser Thr Leu Val Asn Val Arg Gly Glu Leu  
 25 30 35 40 45  
 Ala Gly Ala Val Ala Ala Leu Glu Ser Ser Val His Arg Ser Glu Leu  
 50 55 60  
 Ser Tyr Gly Glu Ile Phe Leu Arg Asp Asp 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  
 Lys Leu Glu Leu Glu Ser Arg Ser Tyr Arg Thr Arg Gly Val Phe Phe  
 100 105 110  
 Thr Ser Phe Val Glu Glu Asp Asp Lys Ile Leu Ala Arg Tyr Gly Glu  
 115 120 125  
 Arg Ser Ile Gly Arg Ile Thr Ser Val Asp Ala Ser Leu Thr Thr Phe  
 130 135 140 145  
 Val Leu Lys Tyr Met Tyr Val Arg Ala Ser Gly Arg Thr Ser Tyr Gly  
 145 150 155 160  
 Thr Ser Phe Lys Val Glu Arg Ala Val Glu Leu Leu Leu Asp Leu Val  
 165 170 175  
 Leu Glu Phe Ser Phe Tyr Ser Phe Phe Val Leu Phe Val Phe Asp Cys  
 180 185 190  
 Ala Phe Met Ile Asp Arg Pro Met Asp Val Thr Gly Ala Pro Leu Glu  
 195 200 205  
 Val Glu Val Leu Leu Phe Gly Tyr Leu Lys Ser Cys Tyr Glu Leu Met  
 210 215 220 225  
 Ser Leu Val Glu Gly Gly Tyr Glu Gly Gly Pro Ser Ile Glu Glu Arg  
 225 230 235 240  
 Leu Glu Leu Thr Arg Thr Arg Met Arg Asp Leu Arg Val Tyr Leu Leu  
 240 245 250 255  
 Asn His Tyr Thr Val Thr Ser Lys Thr Met Glu Val Leu Arg Arg Arg  
 260 265 270  
 Pro Thr Glu Glu Tyr Gly Asp Tyr Glu Ser Arg Asn Ser Phe Asn Val  
 275 280 285  
 Ala Pro Glu Val Ile Pro His Thr Leu Glu Glu Arg Leu Asn Asp Arg  
 290 295 300  
 Gly Gly Tyr Leu Ile Gly Asn Met Arg Thr Gly Arg Pro Asn Ile Arg  
 305 310 315 320  
 Phe Tyr Ser Leu Gly Asn Ala Leu Gly Ser Ser Phe Gly Leu Leu Thr  
 320 325 330  
 Gly Pro Glu Glu Ile Ala Leu Phe Arg Leu Val Ile His Asn Arg Glu  
 335 340 345  
 His Leu Met Ala Glu Met Pro Met Arg Ile Cys His Pro Leu Met Asp  
 350 355 360  
 Glu Asn Glu Thr Ile Thr Asn Thr Gly Met Asp Pro Lys Asn Thr Thr

```

      310          325          340
Trp Ser Tyr His Asn Gly Gly His Trp Pro Ser Leu Leu Trp Pro Met
185 197 205 213 221 229 237 245 253 261 269 277 285 293 301 309
Ala Ala Ala Val Leu Met His Glu Arg Leu Tyr Pro Asn Asp Asp Leu
401 409 417 425 433 441 449 457 465 473 481 489 497 505 513
Leu Leu Leu Gly Gln Thr Arg Thr Met Leu Gln Gln Lys Tyr Trp Gln
420 428 436 444 452 460 468 476 484 492 500 508 516 524 532
Gln Leu Asn Gln Leu Pro Arg Ala Gln Trp Ala Gln Tyr Gln Asp Gly
430 438 446 454 462 470 478 486 494 502 510 518 526 534 542
Pro Thr Gly Thr Trp Val Gly Glu Gln Ala Arg Ile Asn Gln Thr Trp
450 458 466 474 482 490 498 506 514 522 530 538 546 554 562
Thr Ile Val Gly Phe Leu Leu His His Leu Met Arg Lys Ala Pro
465 473 481 489 497 505 513 521 529 537 545 553 561 569 577
Trp Arg Val Lys Leu Leu Arg Leu Asp Asp Val Gly Arg Leu Arg Leu
480 488 496 504 512 520 528 536 544 552 560 568 576 584 592
Ser Phe Glu Asp Gln His Glu Lys Ser Ser Thr Asp Glu Arg Lys Ser
500 508 516 524 532 540 548 556 564 572 580 588 596 604 612
Phe Leu Lys Asn Tyr
610

```

- <210> 98
- <211> 1021
- 5 <212> PRT
- <213> Proteus vulgaris
  
- <220>
- <223> kondroitin-sulfat-ABC endolizaz

10

```

<400> 98
Met Phe Ile Phe Arg Phe Thr Ala Leu Ala Met Thr Leu Gly Leu Leu
5 13 21 29 37 45 53 61 69 77 85 93 101 109 117 125
Ser Ala Pro Tyr Asn Ala Met Ala Ala Thr Ser Asn Pro Ala Phe Asp
130 138 146 154 162 170 178 186 194 202 210 218 226 234 242 250
Pro Lys Asn Leu Met Gln Ser Glu Ile Tyr His Phe Ala Gln Asn Asn
255 263 271 279 287 295 303 311 319 327 335 343 351 359 367 375
Pro Leu Ala Asp Phe Ser Ser Arg Lys Asn Ser Ile Leu Thr Leu Ser
380 388 396 404 412 420 428 436 444 452 460 468 476 484 492 500
Asp Lys Arg Ser His Met Gly Asn Gln Ser Leu Leu Thr Lys Trp Lys
505 513 521 529 537 545 553 561 569 577 585 593 601 609 617 625
Gly Gly Ser Ser Phe Thr Leu His Lys Lys Leu Ile Val Phe Thr Asp
630 638 646 654 662 670 678 686 694 702 710 718 726 734 742 750 758
Lys Glu Ala Ser Lys Ala Thr Gly Arg Ser Ser Thr Thr Val Phe Ser
765 773 781 789 797 805 813 821 829 837 845 853 861 869 877 885 893
Phe Thr Leu Tyr Asn Gln Lys Phe Ile Asp Gly Tyr Leu Thr Ile Asp
900 908 916 924 932 940 948 956 964 972 980 988 996 1004 1012 1020 1028
Phe Gly Gln Lys Leu Ile Ser Thr Ser Gln Ala Gln Ala Gly Phe Lys
1035 1043 1051 1059 1067 1075 1083 1091 1100 1108 1116 1124 1132 1140 1148 1156 1164
Val Lys Leu Asp Phe Thr Gly Thr Arg Ala Val Gly Val Ser Leu Asn
1170 1178 1186 1194 1202 1210 1218 1226 1234 1242 1250 1258 1266 1274 1282 1290 1298
Asn Arg Leu Glu Asn Arg Gln Met Thr Leu Asn Ala Thr Asn Thr Ser
1310 1318 1326 1334 1342 1350 1358 1366 1374 1382 1390 1398 1406 1414 1422 1430 1438
Ser Asp Gly Thr Gln Asp Ser Ile Gly Arg Ser Leu Gly Ala Lys Val
1450 1458 1466 1474 1482 1490 1498 1506 1514 1522 1530 1538 1546 1554 1562 1570 1578
Asp Ser Ile Arg Phe Lys Ala Leu Ser Asn Val Ser Gln Gly Gln Ile
1600 1608 1616 1624 1632 1640 1648 1656 1664 1672 1680 1688 1696 1704 1712 1720 1728
Tyr Ile Asp Arg His Met Phe Ser Val Asp Asn Ala Arg Tyr Gln Trp
1740 1748 1756 1764 1772 1780 1788 1796 1804 1812 1820 1828 1836 1844 1852 1860 1868 1876
Ser Arg Tyr Gln Val Lys Thr Arg Leu Ser Gln Pro Glu Ile Gln Phe
1890 1898 1906 1914 1922 1930 1938 1946 1954 1962 1970 1978 1986 1994 2002 2010 2018 2026
His Asn Val Lys Pro Gln Leu Trp Val Thr Pro Gln Asn Leu Ala Ala
2040 2048 2056 2064 2072 2080 2088 2096 2104 2112 2120 2128 2136 2144 2152 2160 2168 2176
Ile Asp Leu Ile Arg Gln Arg Leu Ile Asn Gln Phe Val Gly Gly Gln
2180 2188 2196 2204 2212 2220 2228 2236 2244 2252 2260 2268 2276 2284 2292 2300 2308 2316

```



Gly Ser Asn Ile Asn Ser Ser Asp Lys Asn Lys Asn Val Glu Thr Thr  
 779 775 780  
 Leu Phe Glu His Ala Ile Thr Phe Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn  
 785 790 800  
 Gly Glu Lys Ile Glu Asn Met Ser Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Glu Gly  
 805 810 820  
 Asp Asp Leu Ile Asp Ser Asn Gly Asn Gly Tyr Leu Ile Thr Glu Ala  
 825 830 840  
 Phe Lys Val Asn Val Ser Arg Glu His Glu Val Ser Ala Glu Asn Lys  
 845 850 860  
 Asn Arg Glu Ser Thr Glu Gly Asn Phe Ser Ser Ala Thr Ile Asp Asp  
 865 870 880  
 Ser Thr Arg Ser Lys Arg Ala Ser Tyr Glu Tyr Met Val Phe Leu Asp  
 885 890 900  
 Ala Thr Ser Glu Lys Met Gly Thr Met Ala Glu Lys Phe Arg Glu Asn  
 905 910 920  
 Asn Gly Leu Tyr Ile Val Leu Asn Lys Asp Lys Asp Val His Ile Ile  
 925 930 940  
 Leu Asp Lys Leu Ser Asn Val Thr Gly Tyr Ala Phe Tyr Glu Phe Ala  
 945 950 960  
 Ser Ile Glu Asp Lys Arg Ile Lys Lys Val Asn Lys Ser Ala Ile Val  
 965 970 980  
 Met Thr His Arg Ile Lys Asp Thr Leu Ile Val Ser Ala Val Thr Pro  
 985 990 1000  
 Asp Leu Asn Met Thr Arg Glu Lys Ala Ala Thr Pro Val Thr Ile Asp  
 1005 1010 1020  
 Val Thr Ile Asn Gly Lys Arg Glu Ser Ala Asp Lys Asn Ser Glu Val  
 1025 1030 1040  
 Lys Tyr Glu Val Ser Gly Asp Asn Thr Glu Leu Thr Phe Thr Ser Tyr  
 1045 1050 1060  
 Phe Gly Ile Ser Ile Glu Ile Lys Leu Ser Pro Leu Leu  
 1065 1070 1080

<210> 99

<211> 684

5 <212> PRT

<213> Pedobacter heparinus

<220>

<223> kondroitin AC liyaz

10

<400> 99

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

Thr Asp Ile Ala Leu His Tyr Phe Tyr Asp Ala Leu Leu Thr Asp Asp  
 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115  
 Glu Ala Leu Leu Ser Phe Ala Val Tyr Glu Ile Thr Tyr Ser Val Phe  
 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129  
 Phe Val Phe Tyr Leu Leu Gly Leu Glu Tyr Asp Tyr Ser Tyr Leu Phe  
 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143  
 Glu Gly Ser His Leu Ile Ile Ser Ser Tyr Gly Ala Val Phe Ile Thr  
 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157  
 Gly Val Leu Lys Leu Ala Asn Tyr Val Asp Asp Thr Ser Tyr Ala Leu  
 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171  
 Ser Thr Glu Lys Leu Ala Ile Phe Ser Ser Lys Tyr Tyr Asp Asp Ser Lys  
 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185  
 Thr Tyr Ala Thr Ser Gly Ser Tyr Val Asn Thr Ala Val Gly Gly Phe  
 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199  
 Gly Val Ser Asp Thr Asp Thr Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Glu Lys Lys Arg  
 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213  
 Phe Ile Val Ala Leu Val Thr Asn Leu Tyr His Thr Glu Thr Tyr Ala  
 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227  
 Asp Ala Ile Ala Arg Thr Asp Ser Thr Val Ala Ala Gly Tyr Lys Ile  
 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241  
 Glu Ser Tyr Asp His Ile Phe Trp Asn Gly Asp Tyr Val His His Leu  
 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255  
 Arg Ser Ala Tyr Ser Phe Asn Val Arg Met Val Ser Lys Arg Thr Arg  
 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269  
 Arg Ser Glu Ser Ser Ser Tyr Phe Ser Thr Thr Gly Arg Thr Leu Ser  
 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283  
 Asn Gly Ala Thr Asn Thr Glu Leu Leu Asn Gly Pro Glu Tyr Thr Ser Tyr  
 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297  
 Met Thr Val Thr Glu Thr Ser Tyr Thr Thr Gly Thr Thr Ser Arg Ser  
 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311  
 Tyr Leu Thr Asp Arg His Leu Thr Tyr Leu Thr Gly Glu Thr Gly Ser  
 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325  
 Asn Asp Thr Ala Gly Gly Val Ser Asp Gly Val Tyr Gly Ala Ser Ala  
 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339  
 Tyr Ala Leu Asp Tyr Asp Ser Ser Leu Glu Ala Lys Lys Ala Trp Phe Phe  
 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353  
 Glu Asp Lys Ser Leu Val Tyr Leu Glu Ala Gly Ile Asn Ser Asn Ala  
 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367  
 Phe Glu Asn Ile Thr Thr Thr Thr Leu Asn Glu Ser Thr Leu Asn Gly Phe  
 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381  
 Val Ile Ser His Ala Gly Lys Thr Gly Asp Gly Lys Leu His Thr Phe  
 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395  
 Lys Ala Glu Gly Tyr Thr Thr Thr Thr Leu Thr Thr His Asp Ala Thr Gly Tyr  
 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409  
 Phe Thr Glu Gly Ala Thr Ser Leu Ser Thr Ser Ser Thr His Ser Thr Lys Gly  
 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423  
 Asn Thr Thr His Thr Asn Asn Ser His Ser Lys Asp His Val Ser Gly  
 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437  
 Asp Val Phe Lys Leu Trp Ile Asn His Gly Ala Arg Ser Thr Asn Ala  
 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451  
 Glu Tyr Ala Tyr Thr Ile Val Asn Phe Gly Ile Asn Lys Ser Thr Ile Ile  
 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465  
 Lys Lys Tyr Asn Gly Thr Ala Ser Lys Val Leu Ala Asn Thr Asn Glu  
 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479  
 Thr Glu Ala Val Tyr Thr Glu Thr Glu Thr Thr Asn Met Val Glu Ala Thr Phe  
 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493  
 Tyr Thr Ala Gly Lys Ser Ser Val Phe Ala Gly Ile Glu Thr Thr Thr Asp  
 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507  
 Lys Thr Lys Ala Val Leu Thr Ala Lys His Ile Asn Gly Lys Thr Val Thr  
 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521  
 Thr Ala Ala Asp Ser Leu Thr Lys Glu Lys Thr Ala Val Leu Ser Ile  
 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535  
 Arg Asp Leu Lys Thr Gly Lys Thr Asn Arg Val Lys Ile Asp Phe Thr  
 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549  
 Glu Ser Glu Phe Ala Gly Ala Thr Val Glu Leu Lys  
 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000

- <210> 100
- 5 <211> 844
- <212> PRT
- <213> Victivallis vadensis ATCC BAA-548

<220>

<223> kondroitin AC liyaz

5 <400> 100

Met His Arg Lys Ile Val Phe Phe Leu Phe Val Leu Leu Phe Thr Ala  
 1 5  
 Phe Ala Ala Phe Ala Ala Ser Glu Phe Glu Trp Lys Trp Arg Glu Ser  
 10 25  
 Lys Tyr Cys Arg Ile Thr Ser His Ala Gly Lys Lys Leu Leu Thr Val  
 35 40  
 Ala Ile Phe Ala Asp Ala Phe Glu Ile Ser Arg Arg Asn Thr Ala Asp  
 50 55 60  
 Thr Phe Val Gly Asp Thr Cys Phe Glu Gly Cys Pro Leu Glu Phe Ser  
 65 70  
 Ile Arg Leu Arg Asn Ser Gly Ile Ser Arg Phe Asp Asn Leu His Asn  
 85 90 95  
 Gly Ile Lys Phe Glu Leu Lys Phe Arg Asp Gly Asn Gly Thr Glu Arg  
 100 110 115  
 Arg Thr Glu Ala Glu Ile Phe His Glu Ser Phe Pro Arg Arg Phe  
 120 125  
 Arg Phe Ser Glu Arg Ile Phe Ala Asp Ala Thr Ser Gly Thr Leu Arg  
 130 135 140  
 Leu Gly Leu Glu Gly Ser Gly Asn Val Cys Phe Arg Leu Asp Ser  
 145 150 155 160  
 Ser Glu Ile Arg Pro Leu Asp Phe Glu Leu Ser Pro Val Leu Thr Thr  
 165 170  
 Phe Glu Glu Ile Arg Glu Cys Glu Leu Ile Cys Ser Arg Leu Arg Ala  
 180 185 190  
 Gly Leu Phe Ala Glu Glu Phe Phe Ser Gly Phe Glu Val Lys Lys Leu  
 195 200 205  
 Ser Glu Arg Glu Asp Gly Asp Gly Thr Phe Arg Asp Leu Asp Tyr Ser  
 210 215 220  
 Ala Arg Asn Arg Ser Ile Arg Phe Ala Ala Arg His Leu Lys Arg Thr  
 225 230 235 240  
 Phe Glu Leu Ala Leu Ala Arg Ala Thr Arg Gly His Ala Leu Tyr Arg  
 245 250 255  
 Asp Phe Ala Ala Gly Glu Ala Val Arg Lys Ala Val Phe Thr Thr Ala  
 260 265 268  
 Ser Arg Glu Phe Ser Ser Gly Asp Thr Thr Trp Asp Asp Met Tyr Va  
 275 280 285  
 Phe Lys Ile Leu Gly Asp Ile Leu Leu Leu Ser Phe Leu Leu Phe Phe  
 290 295 300  
 Arg Gly Phe Arg Arg Arg Ala Ala Leu Asn Val Cys Arg Glu Ala Cys  
 305 310 315 320  
 Phe Leu Ser Arg Tyr Thr Gly Asp Asp Arg Val Phe Ile Ala Ala Asp  
 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 Ser Glu Ile Arg Phe Ala Phe 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  
 Ser His Gly Phe Glu Ile Ser Phe Gly Asn Tyr Gly Gly Glu Ser Leu



385  
 Ala Asn Ile Ala Tyr Trp Ser Asn Ile Leu Lys Glu Thr His Trp Glu  
 405 410 415  
 Leu Ser Phe Glu Gln Trp Arg Ile Met Arg His Leu Thr Phe Asn Gly  
 420 425 430  
 Phe Glu Trp Val Leu Trp Arg Gly Arg Met Asn Leu Leu Ala Lys Gly  
 435 440 445  
 Arg Glu Leu Gly Arg Asn Ala Ala His Thr Lys Gly His Arg Thr Lys  
 450 455 460  
 Asn Ala Phe Ala Gln Leu Arg Asn Ala Asp Pro Gly Asn Arg Ala Pro  
 465 470 475  
 Tyr Asn Ala Ala Leu Arg Arg Asn Arg Asp Gly Glu Asn Thr Leu Thr  
 480 485 490  
 Gly Asn Arg His Phe Trp Asn Ser Asp Tyr Met Val His Arg Arg Pro  
 495 500 505  
 Ser Asp Tyr Ala Ser Val Arg Met Asn Ser Val Arg Val Arg Pro Ile  
 510 515 520  
 Glu Asp Asp Thr Asn Trp Asp Asn Ala His Gly Arg Tyr Phe Ser Asp  
 525 530 535  
 Gly Ala Lys Leu Val Met Arg Ser Gly Arg Gln Tyr His Asn Ile Thr  
 540 545 550  
 Ala Lys Trp Asp Trp Thr Arg Leu Thr Gly Thr Ser Leu Pro Lys Thr  
 555 560 565  
 Phe Val Tyr Thr Gly Gln Asp Ala Arg Arg Phe Gly Leu Lys Ile Gly  
 570 575 580  
 Gly Gly Asp Leu Pro Arg Trp Ser His Ser Arg Asn Trp Arg Glu Leu  
 585 590 595  
 Gly Glu Ser Gly Phe Val Gly Gly Val Thr Asp Gly Glu Arg Gly Ala  
 600 605 610  
 Ala Val Tyr Thr Gln Asp Leu Asp Gly Val Arg Ala Arg Lys Ala Trp  
 615 620 625  
 Phe Phe Asn Arg Asp Ala Ile Tyr Lys Leu Gly Ser Gly Ile Thr Ser  
 630 635 640  
 Thr Ser Phe Tyr Gln Val Ala Thr Thr Val Asn Ser Lys Leu Arg Ser  
 645 650 655  
 Gly Glu Ile Glu Gln Gly Asn Gly Trp Phe Arg His Asn Gly Ile Gly  
 660 665 670  
 Tyr Arg Gly Glu Asn Leu Lys Leu Thr Ala Gly Pro Arg Thr Gly Asp  
 675 680 685  
 Trp Arg Tyr Val Gln Gly Gly Leu Thr Arg Pro Val Phe Glu Thr Lys  
 690 695 700  
 Gln Leu Phe Thr Leu Thr Val Glu His Gly Val Lys Phe Arg Asn Ala  
 705 710 715  
 Ser Tyr Ile Tyr Thr Ile Leu Ser Gly Ala Thr Pro His His Thr Ala  
 720 725 730  
 Gly Thr Ser Thr Gly Arg Val Leu Arg Asp Thr Pro His Lys His Ala  
 735 740 745  
 Val Glu Phe Ala Asp Gly Val Arg Ala Ala Ile Phe Tyr Glu Pro Gly  
 750 755 760  
 Arg Leu Asp Asp Phe Gln Thr Asn Thr Pro Gly Val Phe Leu Ile Gly  
 765 770 775  
 Lys Gly Thr Val His Ala Ala Asn Thr Thr Gly Arg His Ser Ser Phe  
 780 785 790  
 Ser Leu Lys Leu Asn Gly Val Ser Arg Lys Val Pro Leu Pro Ala Gly  
 795 800 805  
 His Phe Ala Gly Gln Ser Val Lys Ile Val Leu Lys  
 810 815 820 825 830 835 840

- <210> 101
- <211> 510
- 5 <212> PRT
- <213> Pan troglodytes
  
- <220>
- <223> Şempanze PH20'si
  
- 10 <400> 101



<220>

<223> Prekürsör Rhesus Maymunu PH20'si

5 <400> 102

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Arg Ser Glu Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Val Ser Gln Phe Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 Tyr Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Ser Phe Leu Phe Leu Phe Asp Val Phe  
 35 Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Thr Thr Ser Met Gly Ser Ser Arg  
 65 Leu Asn Ile Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Phe Asp Leu Thr Thr Gly Val Thr Val His Gly  
 95 Gly Ile Phe Glu Lys Val Ser Leu Glu Asp His Ser Asp Lys Ser Lys  
 110 Glu Asn Ile Leu Phe Tyr Ser Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 125 Leu Asp Trp Glu Glu Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asn Thr Lys Thr  
 140 Lys Arg Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 155 Val Glu Leu Ser Ser Pro Phe Ala Thr Asp Lys Ala Lys Glu Glu Ser  
 170 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Met Leu Glu Thr Ile Lys Leu Gly Arg  
 185 Ser Leu Arg Ser Asn His Ser Arg Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys  
 200 Tyr Asn His Ser Tyr Arg Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Ser Asp  
 215 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 230 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ser Ser Val Val  
 245 Val Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Arg Ile Arg Val  
 260 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Asn Ser Leu Pro Val Phe Val Tyr Ala  
 275 Arg Leu Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Arg Glu Glu  
 290 Leu Val Ser Thr Leu Gly Gln Ser Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile  
 305 Val Ile Trp Gly Ser Leu Ser Ile Thr Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu  
 320 Leu Leu Asp Thr Tyr Met Phe Ser Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 335 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 350 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Arg Asn Ser Ser Asp Tyr Leu Ser Leu  
 365 Asn Phe Asp Asn Phe Asp Leu Arg Leu Glu Lys Gly Gly Lys Ser Thr  
 380 Val His Gly Lys Pro Thr Val Glu Asn Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 395 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Ser Cys Lys Lys Lys Ala Asp  
 410 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Phe Asp Gly Val Cys  
 425 Phe Asp Ala Ser Phe Lys Phe Thr Val Glu Thr Glu Thr Gly Ser Pro Pro  
 440 Thr Phe Tyr Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Thr  
 455 Trp Arg Leu Glu Val Trp Asp Glu Gly Ile Ser Asn Ile Gly Ser Phe  
 500

<210> 103  
 <211> 505  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-505  
  
 10 <400> 103  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Va Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 Phe Leu Arg Ala Trp Asn Ala Phe Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 Leu Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly  
 100 Gly Ile Ser Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp Ser Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 Lys Asn Ile Thr Thr Tyr Met Leu Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 Ile Asp Thr Gln Gly Arg Arg Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Pro  
 145 Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Ser Val Gln Gln Gln Asn  
 160 Val Gln Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Tyr Arg Lys Gln Gln Phe  
 180 Leu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 Met Leu Arg Ser Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys  
 210 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 Val Glu Ile Lys Arg Asn Arg Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser  
 240 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Ser Ser Phe Val  
 255

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335 340  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 345 350 355  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 360 365 370  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 375 380 385  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu Val Leu  
 390 395 400  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Phe Leu Glu Asn Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430 435  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asn Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Leu Glu Pro Glu 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
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-503

10

<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 Glu Ile Val Thr Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 70 75 80  
 Leu Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95  
 Gly Lys Cys Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val His Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Ile Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Arg Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asn Ser Glu Glu Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asn Ser Lys Thr  
 145 150 155 160  
 Lys Arg Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 165 170 175

Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Asn Lys Glu Glu Phe  
 180 185 190  
 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Ser 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  
 240 245 250  
 Asn Ala Leu Tyr Pro Ser Leu Tyr Leu Asn Thr Ile Glu Ser Pro Val  
 255 260 265  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Phe Ala Ile Arg Val  
 270 275 280 285  
 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 Trp Val Leu Lys Phe Ser Ser Glu Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Val Ala Ile Gly Ala Ser Gly Ile  
 320 325 330 335  
 Val Ile Arg Gly Thr Ser Ser Ile Met Arg Ser Ser Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Trp Ser Ile Leu Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Tyr Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Arg Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Leu Glu Leu Gly Lys Gly Gly Lys Ser Thr  
 405 410 415 420  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu 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 Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Arg Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Ser Glu Pro Glu Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Trp Met Phe Ile Val  
 485 490 495  
 Ser Ile Leu Phe Trp Ile Leu  
 500

<210> 105  
 <211> 501  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-501

10 <400> 105  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Leu Val Thr Thr Phe Leu Leu Ile Ser Cys  
 20 25 30  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 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 Ser Ser Phe Trp Gly Ser Phe Asn  
 65 70 75 80

```

Leu Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100
Gly Ile Phe Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Asp Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Thr Gln Gln Trp Arg Asp Thr Trp Ala Arg Asp Thr Tyr Pro
145
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asp
160
Val Gln Leu Ser Trp Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe
180
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Leu Leu Arg Trp Asp His Leu Thr Gly Tyr Lys Leu Thr Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Arg Gly Tyr Asn Gly Ser Cys His Asn
225
Val Gln Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser
240
Thr Al. Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Phe Ala Ile Arg Val
275
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
290
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
305
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Gln Gly Ala Ser Gly Ile
320
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser His Leu
340
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Gln Thr Ile Gln Asn Pro Tyr Gln Ile Asp
355
Val Trp Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
370
Tyr Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys His Thr
400
Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys
420
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
435
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450
Ile Asp Ala Phe Ile Lys Pro Thr Met Gln Thr Gln Gln Pro Gln Ile
465
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
480
Ser Ile Leu Phe Ile
500

```

<210> 106

<211> 499

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-499

10

<400> 106

Met Gly Val Leu Lys Phe Tyr His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Val Ser Ile Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Thr Lys  
 20 Cys Leu Thr Leu Asp Phe Ala Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 35 Phe Leu Arg Ala Ser Asp Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 Asp Glu Pro Leu Asp Ser Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg  
 65 Ile Asn Ala Thr Gly Ile Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80 Gly Tyr Tyr Phe Phe Lys Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 Gly Ile Phe Glu Lys Leu Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Ser Ala Val  
 130 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 145 Tyr Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Ser Val Glu Ser Glu Ser  
 160 Val Glu Ser Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Cys Ala Lys Glu Glu Phe  
 175 Gln Lys Phe Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 190 Leu Arg Phe Ser Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Thr Pro Asp Lys  
 210 Tyr Asn His His Tyr Lys Tyr Trp Gly Tyr Ser Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 Val Glu Leu Lys Arg Asn Asn Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 240 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Lys Leu Asn Thr Glu Glu Ser Phe Val  
 255 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 270 Ser Lys Leu Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 285 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Tyr Phe Leu Ser Thr Asn  
 300 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 315 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 330 Leu Leu Asp Asn Tyr Ser Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn  
 345 Val Thr Leu Ala Ala Lys Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Cys Ser Glu Ser  
 360 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 375 Asn Ser Asp Asn Phe Ala Ile Ser Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 390 Val Arg Gly Lys Phe Thr Thr Leu Ala Asp Leu Glu Glu Thr Ser Glu Lys  
 405 Phe Tyr Tyr Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp  
 420 Val Tyr Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Thr Ala Asn Tyr Val Cys  
 435 Thr Asp Ala Phe Leu Tyr Phe Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile  
 450 Phe Tyr Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 465 Ser Ile Leu

- <210> 107
- <211> 497
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens



<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-497

5 <400> 107

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

<210> 108  
 <211> 495  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-495  
  
 10 <400> 108  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 25 30  
 Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Val Pro Val Ile Pro Asp Val Pro  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn  
 165 170 175  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 180 185 190  
 Ile Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu His Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His Phe Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Asn Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Phe 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 Phe Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

```

200          295          300
Arg Ile Val Phe Thr Ser Leu Val Leu Lys Phe Val Ser Ile Asp Glu
305          310          315
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
320          325          330
Val Ile Top Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
335          340          345
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn
350          355          360
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu
365          370          375
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
380          385          390
Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
395          400          405
Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Ser Glu Glu Phe Ser Glu Lys
410          415          420
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
425          430          435
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
440          445          450
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Phe Met Glu Thr Glu Glu Phe Ser Ile
455          460          465
Phe Tyr Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile
470          475          480
          485          490
          495

```

5 <210> 109  
 <211> 493  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-493

```

<400> 109
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1          5
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
6          10
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe
11         15
Phe Leu Top Ala Top Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
16         20
Arg Phe Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Phe Arg
21         25
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
26         30
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
31         35
Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
36         40
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
41         45
Ile Asp Top Glu Glu Top Arg Phe Thr Top Ala Arg Asn Top Lys Phe
46         50
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn
51         55
Val Ile Leu Ser Asn Thr Ile Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe
56         60
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
61         65
Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Top Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys
66         70

```

```

210
Lys Asp His His Tyr Lys Lys His Gly Tyr Asp Lys Ser Cys Phe Ser
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Ser Gln Ser Pro Val
260
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val
275
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Ser Ala Tyr Thr
290
Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Ser Ser Gln Asp Glu
305
Leu Val Tyr Thr Phe Gly His Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
320
Val Ile Asp Gly Thr Ser Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340
Leu Leu Asp Asn Tyr Met His Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp
360
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
380
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Leu His Leu His Lys Gly Gly Lys Ser Thr
420
Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser His Asp Ser Gln His Phe Ser His Lys
440
Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys His Lys Ala Asp
460
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
480
Le Asp Ala Phe Leu Lys Pro Thr Met Gly Thr Gln Gly Pro Gln Ile
495
Phe Tyr Asp Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met
510

```

5 <210> 110  
 <211> 491  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-489

10 <400> 110  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Phe Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Pro Val Ile Phe Asn Val Pro  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val

```

130          135          140
1   Asn Thrp Glu Glu Pnt Arg Pro Thr Trp Ala Pro Asn Thrp Lys Pro
145
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Ser
155
Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Phe Lys Glu Glu Phe
165
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
175
Ser Leu Arg Thr Asp His Leu Ser Gly Tyr Lys Ser Phe Thr Asp Cys
185
Lys Asn His His Tyr Lys Lys Gln Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Gln Asp
195
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Lys Ser Asp Asn Glu Ser
205
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Leu Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val
215
Ala Ala Ser Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
225
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
235
Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
245
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu
255
Val Ile Thrp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
265
Leu Leu Asp Asp Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Ser
275
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu
285
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Ser
295
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
305
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Phe Phe Ser Glu Lys
315
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
325
Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
335
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile
345
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala
355
365
375
385

```

5 <210> 111  
 <211> 489  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-489

10 <400> 111

```

Met Gly Val Leu Cys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20
Lys Leu Thr Leu Ser Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Thr Asp Val Pro
35
Phe Leu Thrp Ala Trp Asp Ala Thr Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe

```

```

      80              85              90
Asn Glu Asp Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg
 85
Leu Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
 90
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asn Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100
Gly Ile Leu Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
110
Lys Asn Ile Thr Thr Tyr Met Leu Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
120
Ile Asn Ser Glu Ile Asp Arg Leu Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Thr
130
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asn
140
Val Gln Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Thr
150
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
160
Ser Leu Arg Arg Asn Ala Leu Arg Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
170
Tyr Asn Arg Arg Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Thr Asn
180
Val Gln Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Thr Leu Arg Asn Gln Ser
190
Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Ser Ser Val
200
Asn Ala Thr Ser Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Arg Ile Arg Val
210
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ile Tyr Thr
220
Arg Ile Val Thr Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
230
Ser Val Tyr Thr Thr Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
240
Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu
250
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asn Pro Lys Ile Ile Asn
260
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
270
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
280
Asn Pro Arg Asn Phe Ala Leu Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Thr Thr
290
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys
300
Phe Lys Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Ser Lys Ala Asp
310
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
320
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Phe Met Gln Thr Gln Ser Ser Gln Ile
330
Phe Tyr Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
340

```

- <210> 112
- <211> 490
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-490
- 10 <400> 112

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Ser Cys  
 20  
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Thr Pro Val Leu Pro Asn Val Pro  
 35  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50  
 Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 145  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 160  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 180  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Thr Asp Cys  
 210  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Lys Thr Asn  
 225  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 240  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val  
 260  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305  
 Met Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Phe Ser Gly Ile  
 320  
 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 335  
 Met Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 350  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu  
 365  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Lys Leu His Leu  
 380  
 Asn Pro Asn Asn Thr Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Thr Thr  
 395  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 410  
 Phe Lys Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 425  
 Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys  
 440  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Pro Met Glu Thr Glu Ser Ser Glu Ile  
 455  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser  
 470  
 485 490

5 <210> 113  
 <211> 487  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-487

<400> 113

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20  
 Phe Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50  
 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Phe Arg  
 65  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Arg Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 95  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 110  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 125  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 140  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 155  
 Val Ile Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 170  
 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 185  
 Leu Leu Arg Thr Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Leu Asp Cys  
 200  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Lys Phe Asn  
 215  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Leu Arg Asn Glu Ser  
 230  
 Ser Ala Leu Tyr Thr Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ile Ser Thr Val  
 245  
 Asn Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Asn Arg Glu Phe Ile Arg Val  
 260  
 Ser Lys Ile Thr Asp Ala Lys Ser Thr Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 275  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Thr Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 290  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 305  
 Val Ile Arg Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 320  
 Leu Leu Asn Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn  
 335  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu  
 350  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Arg Asn Ser Ser Asp Lys Leu His Leu  
 365  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 380  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys  
 395  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 410  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Asn Arg Gly Val Cys  
 425  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Phe Met Glu Thr Phe Glu Glu Phe Glu Ile  
 440  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Phe Ser  
 455  
 465  
 475  
 485

5

<210> 114



<211> 485  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-485

<400> 114

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Cys Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Met Arg Val Ile Phe Asp Val Phe
35
Phe Leu Thr Ala Thr Asp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Asn Glu Thr Leu Asp Met Ser Ser Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg
65
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
80
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100
Gly Ile Thr Glu Cys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Thr Glu Glu Thr Arg Phe Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Phe
145
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn
160
Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe
175
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
190
Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys
205
Lys Asn His His Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Asp Gly Ser Lys Ile Asn
220
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asp Glu Ser
235
Ser Ala Leu Tyr Arg Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu His Ser Arg Val
250
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
265
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Thr Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
280
Arg Ile Val Thr Thr Asp His Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
295
    
```

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 127 137  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 140 145 150  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Cys Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 155 160 165  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 170 175 180  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 185 190 195 200  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 205 210 215 220  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys  
 225 230 235 240  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 245 250 255 260  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Arg Val Cys Ile Asn Asp Gly Val Cys  
 265 270 275 280 285  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Phe Ser Met Glu His Ser Glu Ser Glu Ile  
 285 290 295 300 305 310  
 Phe Tyr Asn Ala Ser  
 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995

<210> 115

<211> 484

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-484

10

<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 Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 25 30  
 Tyr Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Met Pro Val Ile Phe Asn Val Pro  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu  
 85 90 95 100  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 105 110  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 165 170 175  
 Val Glu Leu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Thr Glu Tyr Ala Lys Glu Glu Phe  
 180 185 190  
 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His Phe Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995

Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 247 257  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Leu Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val  
 260 261 260  
 Ala Ala Ser Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Asp Val  
 263 269 269  
 Ser Lys Ile Ser Asp Ala Lys Ser Ser Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 295  
 Arg Le Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Ser Ser Glu Asp Glu  
 315 321 321 321  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ala Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile  
 323 323 323  
 Val Le Trp Gly Thr Ser Ser Ile Met Arg Ser Ser Lys Ser Lys Leu  
 340 340 350  
 Leu Leu Asp Asp Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp  
 353 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 400  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 407 407 407  
 Val Arg Gly Tyr Pro Thr Leu Glu Asp Thr Glu Phe Phe Ser Glu Lys  
 420 421 430  
 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  
 Le Asn Ala Phe Ser Lys Pro Thr Met Thr Thr Glu Thr Thr Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Lys Asn Ala

<210> 116

<211> 476

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-476

10

<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 Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 19 25 30  
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 40 45  
 Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Asn Glu Thr Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu 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 Asp Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Thr Glu Cys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140 145  
 Le Asn Ser Glu Ile Trp Asp Phe Thr Trp Ala Arg Asn Thr Lys Thr  
 145 150 155 160

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn  
 167 177  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 180 185  
 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200  
 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Ser Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Arg Arg Leu Ser Thr Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Phe Glu Ser Phe Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Phe Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser 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 Ser Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Tyr Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Ser Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Asn Glu Asp Ser Glu Thr Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Arg  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Le Asn Ala Thr Ser Lys Phe Ser Met Glu Thr Glu  
 465 470 475

<210> 117  
 <211> 475  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-475

10 <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 Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 25 30  
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Arg Ile Ser Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 130  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 135  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 140  
 Ile Asp Thr Glu Glu Phe Arg Ser Thr Thr Ala Arg Asn Thr Tyr Pro  
 145  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn  
 150  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 155  
 Glu Lys Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Tyr  
 160  
 Leu Leu Arg Pro Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Thr Pro Asp Cys  
 210  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Phe Ser Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225  
 Val Glu Ile Lys Arg Asp Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asp Glu Ser  
 235  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Thr Tyr Leu Asp Thr Glu Glu Ser Pro Val  
 240  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 245  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Tyr Thr  
 250  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Tyr Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 315  
 Val Ile Asp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Tyr Leu  
 340  
 Leu Leu Asp Asp Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp  
 355  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu  
 360  
 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 365  
 Asn Pro Asp Asp Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Thr Thr  
 400  
 Val Arg Gly Lys Pro Phe Leu Glu Asp Leu Glu Glu Thr Ser Glu Lys  
 420  
 Phe Tyr Lys Ser Lys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Lys His Lys Ala Asp  
 430  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys  
 450  
 Ile Asp Ala Phe Ser Lys Pro Pro Met His Thr  
 455

<210> 118  
 <211> 474  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-474

10 <400> 118  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe His Arg Ser Phe Val Lys  
 Ser Ser Gly Val Ser Ile Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 20 30

195 Leu Thr 195 Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 200 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 205 Arg His Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 210 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu  
 215 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asn Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 220 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 225 Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Ile Gly Met Ala Val  
 230 Ile Asn Thr Glu Gln Trp Pro Phe Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Pro  
 235 Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Ile Val Gln Glu Glu Asn  
 240 Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 245 Leu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 250 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 255 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Asn Gly Ser Lys Thr Asn  
 260 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Lys Trp Asn Glu Ser  
 265 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ser Ser Pro Val  
 270 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 280 Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 285 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Ile Gly Asn Ser Gly Ile  
 290 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 295 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 300 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Gln  
 305 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 310 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Lys Thr  
 315 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Gln Gln Phe Ser Glu Lys  
 320 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 325 Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys  
 330 Ile Asn Ala Thr Tyr Lys Pro Lys Met Glu

- <210> 119
- <211> 473
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-473
- 10 <400> 119

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Va Ser G h e Val Thr Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25  
 Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Ser Pro Val e Pro Asp Val Pro  
 35 40  
 Phe Leu Thr Ala Trp Asp A a Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55  
 Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 60 70  
 Le Asp Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80 90  
 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asp Gly  
 100 110  
 Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120  
 Lys Asp Ile Thr the Tyr Ser Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val  
 130 140  
 Le Asp Ser Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asp Ser Lys Thr  
 145 155  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asp  
 160 170  
 Val Ile Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Ser  
 180 190  
 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 200 210  
 Leu Leu Arg Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 215 225  
 Tyr Asp His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Ser Asp  
 230 240  
 Val Ile Ile Lys Arg Asp Asp Arg Leu Ser Trp Leu Trp Asp Glu Ser  
 245 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu Ser Ser Phe Val  
 260 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Ser Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305 315  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 320 330  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 335 345  
 Leu Leu Asp Asp Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asp Pro Cys Ile Ile Asp  
 350 360  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu  
 365 375  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 380 390  
 Asp Pro Asp Asp Phe A a e Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 400 410  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 420 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 460  
 Le Asp Ala the Leu Lys Pro Leu Met

465 470

- <210> 120
- 5 <211> 472
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- <220>
- 10 <223> PH20 prekürsörü 1-472

<400> 120

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20  
 Gln Asp Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35  
 Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50  
 Asn Glu Thr Leu Asp Met Ser Leu Thr Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65  
 Phe Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu  
 80  
 Gly Tyr Tyr Thr Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly  
 95  
 Gly Ile Thr Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 110  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 125  
 Ile Asn Thr Glu His Trp Arg Lys Thr Trp Ala Arg Asn Ser Lys Thr  
 140  
 Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val His Glu His Asn  
 155  
 Val His Leu Ser Leu Thr His Ala Thr His Lys Ala Lys His His Thr  
 170  
 His Lys Ala Gly Lys Asp His Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 185  
 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys  
 200  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 215  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 230  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Phe Val  
 245  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 260  
 Ser Lys Ile Thr Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 275  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 290  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Phe Ser Gly Ile  
 305  
 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu  
 320  
 Leu Leu Asn Asn Tyr Met His Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile His Asn  
 335  
 Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser His Val Leu Lys His His His  
 350  
 Gly Val Cys His Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 365  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala His Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys His Thr  
 380  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 395  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys His Lys Ala Asp  
 410  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Asn Asp Gly Val Cys  
 425  
 Ile Asp Ala Ser Leu Lys Pro Ser  
 440

5

<210> 121  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10



<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-471

<400> 121

Met	Gly	Val	Leu	Lys	Phe	Lys	His	Ile	Phe	Arg	Ser	Leu	Val	Lys
1									10				15	
Ser	Ser	Gly	Val	Ser	Gln	Ile	Val	Leu	Thr	Phe	Leu	Leu	Ile	Phe
		20					25					30		Cys
Cys	Leu	Thr	Leu	Asp	Phe	Arg	Ala	Pro	Pro	Val	Ile	Pro	Asn	Val
		35					40					45		Pro
Phe	Leu	Thr	Ala	Trp	Asp	Ala	Pro	Ser	Glu	Phe	Cys	Leu	Gly	Lys
		50				55					60			Phe
Asn	Glu	Pro	Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Pro	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro
65				70						75				80
Ile	Asn	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Val	Pro	Ile	Phe	Lys	Val	Asn	Arg
			85						90					95
Gly	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Pro	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn
			100					105					110	Gly
Gly	Ile	Pro	Glu	Lys	Ile	Ser	Leu	Glu	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala
			115				120					125		Lys
Lys	Asp	Ile	Thr	Phe	Lys	Met	Leu	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala
			130			135						140		Val
Ile	Asp	Pro	Glu	Gln	Trp	Arg	Leu	Thr	Trp	Ala	Arg	Asp	Pro	Lys
145						150				155				160
Lys	Asp	Val	Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Gln	Gln
			165					170						175
Val	Gln	Leu	Ser	Leu	Thr	Gln	Ala	Thr	Gln	Lys	Ala	Lys	Gln	Gln
			180				185						190	Pro
Gln	Lys	Ala	Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Gln	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly
			195				200					205		Lys
Leu	Leu	Arg	Pro	Asp	His	Leu	Pro	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Leu	Asp
			210			215						220		Cys
Lys	Asn	Arg	Gln	Tyr	Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Asn
225				230						235				240
Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Asn	Arg	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Gln
			245					250						255
Thr	Ala	Leu	Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asp	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro
			260					265						270
Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Gln	Ala	Ile	Arg
			275				280					285		Val
Ser	Lys	Ile	Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Leu	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr
			290			295						300		Thr
Arg	Ile	Val	Phe	Thr	Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp
			305			310				315				Gln
Leu	Val	Lys	Thr	Phe	Gly	Leu	Pro	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly
			320					325						330
Val	Ile	Arg	Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Met	Lys	Ser	Cys
			340					345						350
Leu	Leu	Asp	Asn	Tyr	Met	Gln	Thr	Ile	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile
			355				360					365		Asn
Val	Pro	Leu	Ala	Ala	Lys	Met	Tyr	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Gln
			370			375						380		Gln
Gly	Val	Cys	Ile	Arg	Lys	Asn	Pro	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His
			385			390					395			400
Asn	Pro	Asn	Asn	Phe	Ala	Ile	Gln	Leu	Gly	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe
			405						410					415
Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Pro	Leu	Glu	Asp	Leu	Gln	Gln	Pro	Ser	Gln
			420					425				430		Lys
Phe	Tyr	Cys	Ser	Cys	Tyr	Ser	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Gln	Lys	Ala
			435				440					445		Asp
Val	Lys	Asp	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Val	Cys	Ile	Ala	Asp	Gly	Val
			450				455					460		Cys
Ile	Asn	Ala	Pro	Leu	Lys	Pro								
465					470									

<210> 122

<211> 470

<212> PRT

10

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-470

5

<400> 122

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Glu Val Lys
1      5
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Met Ile Pro Cys
10     25
Lys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Pro Ser Phe Val Ile Pro Asp Val Pro
35     40
Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Pro Ser Glu Phe Cys Met Gly Lys Phe
50     55
Asn Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65     70
Ile Asp Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85     90
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asp Gly
100    110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115    125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
130    140
Ile Asp Thr Glu Gln Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asp Thr Lys Pro
145    155
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser His Glu Leu Val His Glu His Asp
165    175
Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe
180    190
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
205    215
Ser Leu Arg Pro Asp His Ser Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys
220    230
Tyr Asp His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Phe Asp
235    245
Val Glu Ile Lys Arg Asp Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser
250    255
Ser Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu His Ser Leu Val
260    270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val
275    285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290    300
Arg His Val Phe Thr Arg Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
305    320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ala Thr Val Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu
325    335
Val His Trp Gly Thr Leu Ser His Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340    350
Leu Leu Asp Arg Tyr Met His Ser Ile Leu Arg Asp Pro Tyr Ile Ile Asp
355    365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser His Val Ser Lys His His His
370    380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Arg Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385    400
Asp Pro Asp Arg Phe Ala Leu His Leu His Lys Gly Gly Lys His Thr
405    415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys
420    430
Phe Tyr Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435    445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450    460
Leu Asp Ala Phe Leu Lys
465    470

```

10

<210> 123

<211> 469  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-469

<400> 123

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe
35
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg
65
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
80
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
100
Gly Ile Phe Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Arg Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asp Trp Gln Gln Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe
145
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Ser Gln Gln Asn
160
Val Ile Leu Ser Asn Thr Ile Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Thr
175
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
190
Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Phe Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Trp Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Leu Thr Asn Gln Ser
240
Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Ser Gln Ser Phe Val
255
Asn Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
270
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
285
Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
300
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
315
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
330
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Phe Thr Ile Leu Asn Phe Pro Tyr Ile Ile Asn
345
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
360
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Cys Leu Ala Leu
375
Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr
390
Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser Gln Asp Leu Gln Thr Phe Ser Gln Lys
405
Phe Lys Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
420
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
435
Ile Arg Ala Ser Leu
450

```

10

<210> 124  
 <211> 468  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-468

10 <400> 124

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Ser Val Ile Phe Asn Val Ser
35
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Asp Phe Arg Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Asp
65
Leu Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
80
Gly Lys Lys Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val His Val Asn Gly
100
Gly Leu Arg Gln Lys Ile Ser Leu His Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asn Ile Thr Thr Tyr Ser Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Leu Asn Ser Gln Gln Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asp Ser Lys Thr

```

145  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Glu Asn  
 165  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Phe Lys Gln Glu Phe  
 180  
 Glu Lys Ala Gly Tyr Arg Phe Leu Val Glu Thr Phe Lys Leu Gly Lys  
 195  
 Met Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 240  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Phe Tyr Leu Asn Thr Glu Gln Ser Pro Val  
 260  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Val Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290  
 Arg Ile Val Phe Thr Asn Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305  
 Met Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Phe  
 320  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 335  
 Met Leu Asn Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 350  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Gln Glu Glu  
 365  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 380  
 Asn Pro Asn Asn Phe Ala Phe Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 395  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asn Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 410  
 Phe Cys Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 425  
 Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Phe Ala Asn Gly Val Cys  
 440  
 Phe Asn Ala Phe  
 465

<210> 125

<211> 466

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-466

10

<400> 125

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Phe Val Phe Thr Phe Leu Met Ile Pro Cys  
 10  
 Lys Leu Arg Leu Asn Phe Arg Ala Ser Arg Val Ile Pro Asn Val Ser  
 20  
 Phe Leu Thr Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Ser Gly Lys Phe  
 30  
 Asn Glu Thr Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 40  
 Leu Asn Ala Thr Gly Glu 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
Gly Ile Pro Gln Tyr Ile Ser Leu Gln Asp His Ile Asn Lys Ala Tyr
115
Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Thr Val Asp Asn Ile Gly Met Ala Val
130
Ile Asn Thr Gln Gln Thr Arg Thr Thr Trp Ala Arg Asn Thr Tyr Pro
145
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asn
160
Val Gln Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe
180
Gln Lys Ala Gly Tyr Asp Phe Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Tyr
195
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Thr Pro Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225
Val His Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Leu Thr Asn His Ser
240
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
260
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val
275
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
290
Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
305
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
320
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
340
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn
355
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
370
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr
400
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Ser Thr Ser Gln Tyr
420
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
435
Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
450
Ile Asn
465

```

5 <210> 126  
 <211> 465  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-465

10 <400> 126  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Thr Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 Ser Ser Gly Val Ser Thr Ile Val Phe Trp Phe Leu Ser Thr Phe Cys

```

                10                25                30
Dys Leu Thr 10 Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Leu Pro Asn Val Pro
   35
Phe Leu Thr Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
   50
Asn Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Leu Gly Ser Pro Arg
   65
Le Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
   80
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asn Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly
   95
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
  110
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Leu Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
  125
Le Asp Thr Glu Gln Trp Arg Leu Thr Thr Ala Arg Asp Thr Lys Pro
  140
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Glu Glu Asn
  155
Val Glu Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Thr
  170
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
  185
Ser Leu Arg Pro Asn His Leu Pro Gly Tyr Tyr Leu Phe Leu Asp Lys
  200
Lys Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Ser Asn
  215
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
  230
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Ser Val
  245
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Pro Leu Pro Val Phe Ala
  260
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
  275
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
  290
Ser Val Tyr Thr Phe Gly Gln Phe Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
  305
Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu
  320
Leu Leu Asn Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
  335
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu
  350
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
  365
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
  380
Val Arg Gly Lys Arg Thr Ser Glu Asp Leu Gln Gln Phe Ser Glu Lys
  395
Phe Tyr Lys Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
  410
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys
  425
430
435
440
445
450
455

```

- <210> 127
- <211> 464
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-464
  
- 10 <400> 127

Met 1  
 Ser 5  
 Cys 10  
 Phe 15  
 Asp 20  
 Glu 25  
 Val 30  
 Thr 35  
 Ile 40  
 Phe 45  
 Ser 50  
 Val 55  
 Thr 60  
 Asp 65  
 Tyr 70  
 Phe 75  
 Val 80  
 Thr 85  
 Ile 90  
 Tyr 95  
 Val 100  
 Thr 105  
 Asp 110  
 Phe 115  
 Val 120  
 Thr 125  
 Asp 130  
 Met 135  
 Ala 140  
 Val 145  
 Thr 150  
 Asp 155  
 Thr 160  
 Val 165  
 Thr 170  
 Tyr 175  
 Asp 180  
 Thr 185  
 Val 190  
 Thr 195  
 Tyr 200  
 Phe 205  
 Ser 210  
 Cys 215  
 Thr 220  
 Asp 225  
 Val 230  
 Thr 235  
 Ala 240  
 Ser 245  
 Thr 250  
 Val 255  
 Thr 260  
 Tyr 265  
 Val 270  
 Thr 275  
 Phe 280  
 Thr 285  
 Val 290  
 Thr 295  
 Val 300  
 Thr 305  
 Val 310  
 Thr 315  
 Val 320  
 Thr 325  
 Val 330  
 Thr 335  
 Val 340  
 Thr 345  
 Val 350  
 Thr 355  
 Val 360  
 Thr 365  
 Val 370  
 Thr 375  
 Val 380  
 Thr 385  
 Val 390  
 Thr 395  
 Val 400  
 Thr 405  
 Val 410  
 Thr 415  
 Val 420  
 Thr 425  
 Val 430  
 Thr 435  
 Val 440  
 Thr 445  
 Val 450  
 Thr 455  
 Val 460  
 Thr 465

- <210> 128
- <211> 462
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-462
- 10 <400> 128



Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Thr Thr Phe Leu Leu Ile Thr Cys  
 20 25 30  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 40 45  
 Phe Leu Thr Ala Thr Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe 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 Lys Tyr Ser Thr Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Phe Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Arg Glu Glu Arg Arg Phe Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Phe  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 165 170 175  
 Val Ile Leu Ser Leu Thr Phe Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Ser  
 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 Ser Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Arg Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ser Ser Phe 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 Ser Asp Ala Lys Ser Ser Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Tyr Glu Glu Glu  
 370 375 380 385  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Arg Asn Ser Ser Arg Tyr Leu His Leu  
 390 395 400  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Lys 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
- 5 <211> 460
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 prekürsörü 1-460
  
- <400> 129

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Arg Ser Phe Val Lys
1 Ser Ser Gly Va Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Ser Ile Thr Cys
20 Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Thr Pro Val Ile Pro Asp Val Pro
35 Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
40 Asp Gln Pro Leu Asp Met Ser Leu Lys Ser Phe Ile Gly Ser Thr Arg
50 Leu Asp Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
60 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asp Gly
100 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Ser Leu Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
130 Leu Asp Ser Gln Gln Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asp Ser Lys Thr
145 Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asp
160 Val Ile Leu Ser Leu Thr Ile Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Thr
175 Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
190 Ser Leu Arg Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
205 Tyr Asp His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Thr Asp
220 Val Ile Ile Lys Arg Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asp Gln Ser
235 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Gln Ser Ser Val
250 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Val Arg Gln Ala Ile Arg Val
265 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Ser Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
280 Arg Ile Val Thr Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln
295 Ser Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Thr
310 Val Ile Ser Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu
325 Ser Leu Asp Asp Tyr Met Cys Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp
340 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln
355 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
370 Asp Phe Asp Asp Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr
385 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys
400 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
415 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala
430

```

<210> 130

5 <211> 458

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

10 <223> PH20 prekürsörü 1-458

<400> 130

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Va Ser Gln Ile Val Thr Thr Phe Leu Ser Ile Thr Cys  
 20 Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Thr Pro Val Ile Pro Asp Val Pro  
 35 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 Asp Glu Thr Leu Asp Met Ser Leu Thr Ser Phe Ile Gly Ser Thr Arg  
 65 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 95 Gly Ile Thr Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 110 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 125 Ile Asp Trp Glu Gln Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 140 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Glu Asn  
 155 Val Phe Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 170 Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 185 Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 200 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Leu Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Ile Asn  
 215 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Leu Ser Thr Leu Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 230 Ser Ala Leu Tyr Trp Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Thr Val  
 245 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 260 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 275 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu  
 290 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 305 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 320 Ser Leu Asp Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 335 Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Ser Cys Gln Glu Glu  
 350 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 365 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 380 Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 395 Phe Tyr Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 410 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys  
 425

- <210> 131
- 5 <211> 456
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 prekürsörü 1-456
  
- <400> 131

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 Ser Ser Gly Val Ser Gln Phe Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35 Phe Leu Arg Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65 Leu Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Arg Arg Leu  
 80 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Arg Gly  
 100 Gly Ile Arg Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Ser Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 Ile Asp Thr Glu Gly Arg Phe Thr Thr Ala Arg Asp Thr Lys Pro  
 145 Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 160 Val Ile Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Glu Tyr Ala Lys Gln Gln Phe  
 180 Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 Met Leu Arg Met Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys  
 210 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Thr Leu Tyr Asn Gln Ser  
 240 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Ser Ser Phe Val  
 255 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 270 Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 285 Arg Ile Val Phe Thr Arg Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln  
 300 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 315 Val Ile Asp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 330 Ser Leu Asp Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asp  
 345 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Tyr Ser Glu Val Leu Tyr Gln Gln Gln  
 360 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 375 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Ser Thr  
 390 Val Arg Gly Lys Pro Thr Ser Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys  
 405 Phe Tyr Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp  
 420 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp  
 435 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp  
 450

- <210> 132
- 5 <211> 454
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 prekürsörü 1-454

&lt;400&gt; 132

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
:
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
20
Cys Leu Thr Leu Asp Phe Arg Ala Val Pro Val Ile Pro Asp Val Pro
35
Phe Leu Thr Ala Trp Asp Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
40
Asp Glu Asp Leu Asp Met Ser Leu Pro Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
50
Ile Asp Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
60
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asp Gly
70
Gly Ile Pro Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
80
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val
90
Leu Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asp Trp Lys Phe
100
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asp
110
Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Asp Lys Glu Glu Phe
120
Ser Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
130
Leu Leu Arg Pro Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
140
Tyr Asp His His Tyr Lys Phe Gly Tyr Asp Gly Ser Cys Phe Asp
150
Val Glu Ile Lys Arg Asp Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asp Glu Ser
160
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Ser Glu Ser Pro Val
170
Phe Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Leu Ala Ile Arg Val
180
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
190
Arg Ile Val Phe Thr Asp Ser Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
200
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
210
Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
220
Leu Leu Asp Asp Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asp
230
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu
240
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asp Thr Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
250
Asp Pro Asp Asp Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
260
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys
270
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
280
Val Lys Asp Thr Asp Ala
450

```

5 <210> 133  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-452

<400> 133

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

- 5 <210> 134
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- 10 <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-450

<400> 134

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 :  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 70 75 80 85 90 95  
 Lys Leu Ser Leu Asn Phe Arg Ala Ser Ser Val Ile Pro Asn Val Ser  
 95 100 105 110 115 120 125  
 Phe Leu Thr Ala Trp Asn Ala Leu Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Thr  
 130 135 140 145 150 155 160  
 Asp Gln Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Lys Arg  
 165 170 175 180 185 190  
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 195 200 205 210 215 220 225  
 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 230 235 240 245 250 255 260  
 Gly Ile Ser Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 265 270 275 280 285 290 295  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 300 305 310 315 320 325 330  
 Ile Asp Trp Gln Gln Trp Arg Ser Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe  
 335 340 345 350 355 360 365  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 370 375 380 385 390 395 400  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Asn Lys Gln Gln Phe  
 405 410 415 420 425 430 435  
 Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 440 445 450 455 460 465 470  
 Ser Leu Arg Pro Asn His Leu Arg Gly Tyr Tyr Leu Pro Pro Asp Cys  
 475 480 485 490 495 500 505 510  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 515 520 525 530 535 540 545 550  
 Val Gln Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asp Gln Ser  
 555 560 565 570 575 580 585 590  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 595 600 605 610 615 620 625 630  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val  
 635 640 645 650 655 660 665 670  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Tyr Thr  
 675 680 685 690 695 700 705 710  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Tyr Phe Leu Ser Gln Asp Gln  
 715 720 725 730 735 740 745 750  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 755 760 765 770 775 780 785 790  
 Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 795 800 805 810 815 820 825 830  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 835 840 845 850 855 860 865 870  
 Val Thr Leu Ala Ala Ala Lys Met Lys Ser Gln Val Leu Lys Gln Gln  
 875 880 885 890 895 900 905 910  
 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 915 920 925 930 935 940 945 950  
 Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 955 960 965 970 975 980 985 990  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys  
 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp  
 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070  
 Val Lys  
 450

- 5 <210> 135
- <211> 508
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- 10 <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-508

<400> 135

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
      5
Ser Ser Gly Val Ser Cys Ile Val Phe Thr Phe Ser Ser Ile Leu Cys
      20
Cys Ser Thr Ser Asp Phe Arg Ala Phe Ser Phe Val Ile Phe Asn Val Ser
      35
Phe Ser Thr Ala Trp Asp Ala Phe Ser Cys Phe Cys Ser Gly Lys Phe
      50
Arg Phe Ser Leu Asp Met Ser Ser Phe Ser Phe Ile Ser Ser Phe Arg
      65
Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
      80
Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
      95
Gly Ile Ser Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
     110
Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Ser Gly Met Ala Val
     125
Ile Asn Thr Gln Gln Phe Arg Phe Thr Trp Ala Phe Asp Thr Tyr Phe
     140
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Ser Val Gln Ser Ser Asp
     155
Val Gln Leu Ser Ser Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe
     170
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys
     185
Ser Ser Arg Thr Asn His Ser Ser Gly Tyr Tyr Ser Ser Thr Asp Cys
     200
Lys Asn Ala Ser Tyr Lys Lys Ser Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
     215
Val Gln Ile Lys Arg Asn Asp Arg Leu Ser Arg Ser Asp Asn Gln Ser
     230
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Lys Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
     245
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val
     260
Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
     275
Arg Ile Val Phe Thr Asn Gln Val Leu Lys Phe Ser Ser Ser Gln Asp Gln
     290
Ser Val Tyr Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile
     305
Val Ile Trp Gly Thr Ser Ser Ile Met Arg Ser Ser Lys Ser Lys Ser
     320
Ser Ser Asp Asn Tyr Met Gln Thr Ile Ser Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
     335
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Gln Val Lys Cys Gln Gln Gln
     350
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Arg Tyr Leu Ser Ser
     365
Asn Phe Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Ser Thr
     380
Val Arg Gly Tyr Pro Thr Ser Gln Asp Val Gln Gln Phe Ser Gln Tyr
     395
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Ser Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp
     410
Val Lys Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
     425
Ile Asn Ala Phe Ser Lys Phe Ser Met Phe Thr Gln Thr Gln Thr Ile
     440
Phe Tyr Asp Ala Ser Pro Ser Thr Ser Ser Ala Ser Met Phe Ile Val
     455
Ser Ile Leu Phe Ser Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser
     470
Ser
     485
Ser
     500

```

- 5 <210> 136
- <211> 506
- <212> PRT



<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-506

5

<400> 136

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Leu Phe Phe Arg Ser Thr Val Lys
 1      5      10
Ser Ser Gly Val Ser Thr Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Leu Thr Lys
20      25      30
Cys Leu Thr Leu Asp Thr Arg Ala Pro Ser Ala Phe Cys Leu Gly Ser Val Thr
35      40      45
Phe Leu Asp Ala Ser Asp Ala Pro Ser Ala Phe Cys Leu Gly Ser Val Thr
50      55      60
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg Arg
65      70      75
Leu Asp Ala Thr Gly Thr Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85      90      95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
100     105     110
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Arg Leu Gly Ser Met Ala Val
115     120     125
Leu Asp Thr Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Pro
130     135     140
Lys Asp Val Tyr Lys Asp Arg Ser Leu Glu Leu Val Glu Ser Glu Ser
145     150     155
Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Cys Ala Lys His Glu Glu
160     165     170
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
175     180     185
Leu Leu Arg Phe Asp His Leu Ser Gly Tyr Tyr Leu Thr Pro Asp Lys
190     195     200
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Ser Gly Ser Lys Phe Ser
205     210     215
Val Glu Leu Lys Arg Ser Asp Asp Leu Ser Thr Ser Thr Ser Ala Ser
220     225     230
Thr Ala Ser Tyr Pro Ser Ile Lys Leu Asn Thr Glu Glu Ser Ser Val
235     240     245
Ala Ala Ser Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Leu Arg Val
250     255     260
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr
265     270     275
Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Thr Asn
280     285     290
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
295     300     305
Val Ile Thr Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
310     315     320
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Leu Tyr Ile Ile Asn
325     330     335
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Ser Glu Ser
340     345     350
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
355     360     365
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
370     375     380
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Thr Ser His Lys
385     390     395
Phe Tyr Tyr Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
400     405     410
Val Tyr Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Thr Glu Asp Gly Val Cys
415     420     425
Thr Asp Ala Phe Leu Tyr Ser Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile
430     435     440
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
445     450     455

```

```

                408                430                438
Ser Ile Leu Phe Val Leu Ile Ser Ser Val
      500      500
<210> 137
<211> 504
5 <212> PRT
   <213> Homo sapiens

<220>
<223> PH20 prekürsörü 1-504

10 <400> 137
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Glu Val Lys
      1      5      9      13      17      21      25      29      33      37
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
      41      45      49      53      57      61      65      69      73      77
Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe
      81      85      89      93      97      101      105      109      113      117
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
      121      125      129      133      137      141      145      149      153      157
Arg Glu Arg Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg
      161      165      169      173      177      181      185      189      193      197
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
      201      205      209      213      217      221      225      229      233      237
Gly Lys Lys Arg Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val His Val Asn Gly
      241      245      249      253      257      261      265      269      273      277
Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Glu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
      281      285      289      293      297      301      305      309      313      317
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asp Asp Val Asp Gly Met Ala Val
      321      325      329      333      337      341      345      349      353      357
Ile Asp Arg Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Arg
      361      365      369      373      377      381      385      389      393      397
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Arg Val His Glu Glu Asn
      401      405      409      413      417      421      425      429      433      437
Val Ile Leu Ser Asn Thr Ile Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe
      441      445      449      453      457      461      465      469      473      477
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
      481      485      489      493      497      501      505      509      513      517
Ser Leu Arg Pro Asn His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Leu Asp Cys
      521      525      529      533      537      541      545      549      553      557
Lys Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Lys Ile Asn
      561      565      569      573      577      581      585      589      593      597
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
      601      605      609      613      617      621      625      629      633      637
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu Glu Ser Pro Val
      641      645      649      653      657      661      665      669      673      677
Asp Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      681      685      689      693      697      701      705      709      713      717
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      721      725      729      733      737      741      745      749      753      757
Arg Ile Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
      761      765      769      773      777      781      785      789      793      797
Met Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Met Gly Phe Ser Gly Ile
      801      805      809      813      817      821      825      829      833      837
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      841      845      849      853      857      861      865      869      873      877
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      881      885      889      893      897      901      905      909      913      917
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Glu Val Leu Lys Glu Glu Glu
      921      925      929      933      937      941      945      949      953      957
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu

```

385  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala  
 408  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys  
 420  
 Phe Lys Cys Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Thr Asn Asn Gly Val Cys  
 450  
 Ile Asn Ala Phe Ser Lys Pro Pro Met Phe Thr Glu Glu Phe Pro Ile Ile  
 465  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 480  
 Ser Ile Leu Phe Ile Ile Ile Ser  
 500

- <210> 138
- <211> 502
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-502

10

<400> 138  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Glu Val Lys  
 5  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 10  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Thr Pro Val Ile Pro Asn Val Pro  
 15  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 20  
 Asp Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 25  
 Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 30  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 35  
 Gly Ile Pro Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 40  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 45  
 Thr Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 50  
 Lys Arg Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn  
 55  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Ser Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe  
 60  
 Ile Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Met Glu Phe Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 65  
 Met Leu Arg Pro Asn His Met Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 70  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 75  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Asn Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 80  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Phe Val  
 85  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 90  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Thr Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr

```

      200          235          300
Arg Ile Val Phe Thr Asn Leu Val Leu Lys Phe Val Ser Ile Asp Glu
305          310          315          320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
          325          330          335          340
Val Ile Asp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
          345          350          355          360
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ala Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
          365          370          375          380
Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu
          385          390          395          400
Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Ser Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
          405          410          415          420
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Leu Ala Leu Ile Lys Gly Gly Lys Ser Thr
          425          430          435          440
Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Val Glu Ser Phe Ser Glu Lys
          445          450          455          460
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
          465          470          475          480
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
          485          490          495          500
Ile Arg Ala Phe Leu Lys Phe Ser Met Glu Thr Ser Glu Ser Glu Ile
          505          510          515          520
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser Ile Val
          525          530          535          540
Ser Ile Leu Ser Leu Ile
          545          550

```

<210> 139  
 <211> 500  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-500

10

```

<400> 139
Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Ser Val Lys
          5          10          15
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Ser Cys
          20          25          30
Lys Leu Ser Leu Asn Phe Arg Ala Ser Ser Val Ile Pro Asn Val Ser
          35          40          45          50
Phe Leu Thr Ala Thr Asp Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
          55          60          65          70
Asn Glu Asp Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
          75          80          85          90
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
          95          100          105          110
Gly Tyr Tyr Thr Tyr Thr Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
          115          120          125          130
Gly Ile Ser Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
          135          140          145          150
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
          155          160          165          170
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe
          175          180          185          190
Lys Arg Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ser Glu Glu Asn
          195          200          205          210
Val Ile Leu Ser Leu Thr Thr Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Ser
          215          220          225          230
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
          235          240          245          250

```

198 200 205  
 Met Leu Arg Pro Asp His Leu Thr 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 Ser  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asn Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asn Glu Ser  
 245 250  
 Phe Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr His Ala Ser Thr Val  
 255 260 265  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gly Ala His Arg Val  
 270 275 280  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 285 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp His Val Leu Lys Phe Ser Ser His Asp His  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly His Thr Val Ala His Gly Ala Ser Gly His  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Asn Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Thr  
 340 345 350  
 Ser Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr His Lys Asn Pro Tyr His His Asp  
 355 360 365  
 Val Ser Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser His Val Ser Lys His His His  
 370 375 380 385  
 Gly Val Lys His Arg Lys Asn Ser Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Thr  
 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala His Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Pro Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asn Leu Glu Ser 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 Asn Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys  
 445 450 455 460  
 Phe Asn Ala Phe Leu Lys Pro Thr Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu His  
 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  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-498

10 <400> 140  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His His Pro Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Glu His Val His Thr Phe His Leu His His Cys  
 20 25 30  
 Cys Ser Ser Leu Asn Phe Arg Ala Lys Lys Val His Pro Asn Val His  
 35 40 45  
 Phe Leu Thr 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 Leu Gly Ser Pro Arg  
 65 70 75 80  
 His Asn Ala Thr Gly Glu Tyr Val Thr His Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95  
 Gly Lys Tyr Thr Tyr His Asp Ser His Thr Gly Val Ser Val Asn Gly

100  
 115  
 130  
 145  
 160  
 175  
 190  
 205  
 220  
 235  
 250  
 265  
 280  
 295  
 310  
 325  
 340  
 355  
 370  
 385  
 400  
 415  
 430  
 445  
 460  
 475  
 490  
 Ser Ile

5  
 10

<210> 141  
 <211> 496  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-496  
  
 <400> 141  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Thr Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys

```

1
Ser Ser Gly Val Ser Ile Thr Val Phe Phe Ser Leu Ile Leu Lys
20 25 30
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Leu Pro Val Ile Pro Asn Val Leu
35 40 45
Phe Leu Thr Ala Thr Ser Ala Pro Ser Val Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50 55
Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
60 65 70 75 80
Ile Asn Ala Thr Gly Ser Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
85 90 95 100
Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
105 110
Gly Ile Pro Thr Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120 125
Tyr Asn Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Ser Leu Gly Met His Val
130 135 140
Ile Asp Thr Glu Asp Trp Arg Pro Thr Trp Asp Arg Asn Thr Lys Pro
145 150 155 160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn
165 170 175
Val Glu Leu Ser Ser Thr Glu Ala Thr Val Lys Ala Lys Glu Glu Phe
180 185 190
Gln Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val His Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195 200
Leu Leu Arg Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Lys
205 210 215
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Ser Gly Ser Cys Phe Asn
220 225 230
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Arg Leu Trp Asn His Ser
235 240 245
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Phe Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val
250 255 260
Ala Ala Thr Leu Lys Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Asn Val
265 270 275
Ser Lys Ile Ser Asp Ala Lys Ser Ser Leu Pro Val Phe Ala Tyr His
280 285 290
Arg Ile Val Phe Ser Asp Glu Val Leu Lys Phe Ser Ser Glu Asp His
295 300 305
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Leu
310 315 320
Val Thr Thr Gly Thr Thr Ser Ile Met Arg Ser Val Tyr Ser Cys Leu
325 330 335
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
340 345 350
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Asn
355 360 365
Gly Val Cys Ile Arg Lys Ser Thr Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Ser
370 375 380
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe His
385 390 395
Val Arg Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Ser Glu Phe Ser Glu Lys
400 405 410
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Tyr Glu Ala Asn
415 420 425
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
430 435 440
Phe Asn Ala Thr Ser Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Thr Glu
445 450 455
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser Ile Val
460 465 470 475 480 485 490

```

- <210> 142
- <211> 494
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 prekürsörü 1-494

<400> 142

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Met Pro Val Ile Pro Asn Val Pro
35
Phe Leu Thr Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
50
Asn Glu Asp Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg
65
Ile Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu
80
Gly Tyr Tyr Trp Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly
100
Gly Ile Ser Glu Lys Ile Ser Ser Glu Asp His Ser Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Ile Asn Trp Glu Glu Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Trp
145
Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Ser Val Ile Glu Ile Asn
160
Val Ile Leu Ser Leu Thr Val Ala Thr Glu Lys Ala Lys Ile Glu Phe
180
Trp Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Leu Leu Arg Trp Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Ser Asp Cys
210
Lys Asn His His Tyr Lys Lys Lys Gly Tyr Asn Gly Ser Lys Phe Asn
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asn Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
240
Ser Ala Leu Tyr Trp Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ile Ser Trp Val
255
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
270
Ser Lys Ile Trp Asp Ala Lys Ser Trp Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
285
Arg Ile Val Phe Thr Asp His Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
300
Leu Val Lys Thr Phe Gly Ser Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
315
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
330
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Ser Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
345
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Asp Tyr Glu Glu
360
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
375
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Thr Glu Leu Glu Tyr Gly Gly Lys Phe Thr
400
Val Arg Gly Lys Trp Thr Ser Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys
420
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Lys Glu Lys Ala Asp
435
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Cys Ile Ala Asn Gly Val Cys
450
Ile Arg Ala Phe Trp Lys Pro Pro Met Glu Thr Ser Glu Pro Glu Ile
465
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Met Phe
480
485

```

5

<210> 143  
 <211> 492  
 <212> PRT



<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-492

5

<400> 143

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
1
Ser Ser Gly Val Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys
20
Lys Ser Ala Leu Asn Phe Arg Ala Phe Ser Val Ile Phe Asn Val Ser
35
Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe
41
Asp Phe Arg Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Ser Arg
50
Le Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu
54
Gly Lys Cys Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly
100
Gly Le Ser Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
115
Lys Asn Ile Thr Phe Tyr Met Leu Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
130
Le Asn Trp Glu Glu Trp Arg Leu Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Trp
145
Lys Asp Val Tyr Cys Ser Arg Ser Ile Glu Ser Val Glu Glu Glu Asp
155
Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Cys Ala Lys Glu Glu Phe
180
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
195
Met Leu Arg Pro Asp His Met Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
210
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
245
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ser Ser Phe Val
260
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
275
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Arg Leu Arg Val Phe Ala Tyr Thr
290
Arg Le Val Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu
305
Met Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile
320
Val Le Trp Gly Thr Leu Ser Le Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu
340
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn
355
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu
370
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385
Asn Pro Asn Asn Phe Ala Le Glu Leu Gly Lys Gly Gly Lys Phe Thr
405
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ser Phe Ser Glu Lys
420
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
435
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Arg Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450
Le Asn Ala Phe Ser Lys Pro Thr Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile
465
Phe Cys Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser Ala Thr
485

```

<210> 144  
 <211> 488  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 prekürsörü 1-488

10 <400> 144  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1  
 Ser Ser Gly Va Ser Glu Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Phe Cys  
 20  
 Lys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe  
 35  
 Phe Leu Arg Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50  
 Arg Glu Phe Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg  
 65  
 Leu Asn Ala Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 80  
 Gly Tyr Tyr Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Ser Val Asn Gly  
 100  
 Gly Ile Arg Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp Ser Leu Asp Lys Ala Lys  
 115  
 Lys Asn Ile Thr Thr Tyr Met Leu Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130  
 Ile Asp Thr Glu Gly Arg Arg Thr Thr Ala Arg Asp Thr Lys Thr  
 145  
 Lys Asn Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Ser Val Glu Glu Glu Asn  
 160  
 Val Glu Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Tyr Arg Lys Glu Glu Phe  
 180  
 Leu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195  
 Met Leu Arg Phe Asp His Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Phe Thr Asp Cys  
 210  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Arg Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 240  
 Thr Ala Leu Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ser Ser Phe Val  
 255  
 260  
 265

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Ser Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Thr Asp Ser Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln  
 305 310 315 320  
 Met Val Tyr Thr Phe Gly Leu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Thr Gly Thr Met Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Met  
 340 345 350  
 Leu Leu Asn Asp Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Lys Ser Thr Val Ser Lys Gln Thr Thr  
 370 375 380  
 Gly Val Lys Ile Arg Lys Asn Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Phe Asn Asp Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415 420  
 Val Arg Gly Lys Phe Thr Ser Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys  
 425 430 435 440  
 Phe Tyr Lys Ser Lys Lys Ser Thr Leu Ser Lys Lys Gln Lys Ala Asp  
 445 450 455 460  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asn Val Lys Ile Ala Asn Gly Val Lys  
 465 470 475 480  
 Leu Arg Ala Phe Leu Lys Phe Arg Met Gln Thr Ser Gln Phe Gln Ile  
 485 490 495 500  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Phe Ser Thr  
 505 510 515 520

<210> 145

<211> 486

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 prekürsörü 1-486

10

<400> 145

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

193  
 205  
 215  
 225  
 235  
 245  
 255  
 265  
 275  
 285  
 295  
 305  
 315  
 325  
 335  
 345  
 355  
 365  
 375  
 385  
 395  
 405  
 415  
 425  
 435  
 445  
 455  
 465  
 475  
 485

<210> 146  
 <211> 472  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> olgun PH20 36-507

10

<400> 146  
 5  
 15  
 25  
 35  
 45  
 55  
 65  
 75  
 85  
 95  
 105

115  
 120  
 125  
 130  
 135  
 140  
 145  
 147  
 150  
 155  
 160  
 165  
 170  
 175  
 180  
 185  
 190  
 195  
 200  
 205  
 210  
 215  
 220  
 225  
 230  
 235  
 240  
 245  
 250  
 255  
 260  
 265  
 270  
 275  
 280  
 285  
 290  
 295  
 300  
 305  
 310  
 315  
 320  
 325  
 330  
 335  
 340  
 345  
 350  
 355  
 360  
 365  
 370  
 375  
 380  
 385  
 390  
 395  
 400  
 405  
 410  
 415  
 420  
 425  
 430  
 435  
 440  
 445  
 450  
 455  
 460  
 465  
 470

5 <210> 147  
 <211> 470  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> olgun PH20 36-505

<400> 147  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35  
 40  
 45

Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 57 70 75 80  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 85 90 95  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 95 100 105 110  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 115 120 125  
 Leu Glu Thr Arg Asp Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 130 135 140  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 145 150 155 160  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 165 170 175  
 Gly Lys Asn Thr Arg Val Glu Thr Ile Lys Arg Gly Lys Leu Leu Arg  
 180 185 190  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Thr Pro Asp Lys Tyr Asn Ala  
 195 200 205  
 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 210 215 220  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Arg Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 225 230 235 240  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 245 250 255  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 260 265 270  
 Phe Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 275 280 285 290  
 Phe Thr Asn Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 295 300 305  
 Tyr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 310 315 320  
 Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 325 330 335 340  
 Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 345 350 355 360  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys  
 365 370 375 380  
 Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Arg Asp  
 385 390 395 400  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Thr Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Asn Gly  
 405 410 415 420  
 Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 425 430 435 440  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 445 450 455 460  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Tyr Ile Asp Ala  
 465 470 475 480  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn  
 485 490 495 500  
 Ala Ser Thr Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 505 510 515 520  
 Phe Leu Ile Ile Ser Ser 525

<210> 148  
 <211> 468  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> olgun PH20 36-503

10 <400> 148

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20  
 Ser Asn Met Ser Ser Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Thr Glu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Thr Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95  
 Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 110  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Thr Thr Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 125  
 Ser Ser Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Glu Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Pro Phe Asp Tyr Tyr Asn His  
 170  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Thr Ser Thr Thr Asp Glu Ser Thr Ala Thr  
 200  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Thr Asn Ser His Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215  
 Ser Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 230  
 Phe Asn Ala Lys Ser Pro Met Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 245  
 Phe Ser Asn Glu Val Ser Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Phe Leu Gly Ala Ser Gly Thr Val Ile Trp  
 275  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Ser Leu Leu Asp  
 290  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Ser Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Thr  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys  
 320  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Ser His Ser Asn Pro Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Thr Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350  
 Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Glu Glu Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 365  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Thr Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 380  
 Thr Arg Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 395  
 Phe Ser Lys Ser Pro Met Glu Thr Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn  
 410  
 Ala Ser Thr Ser Thr Thr Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 425  
 Phe Ser Ile Ile  
 440

<210> 149

<211> 466

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> olgun PH20 36-501

<400> 149

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1
Phe Trp Asn Ala Pro Ser Gly Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro
20
Met Asn Met Ser Phe Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35
Trp Gly Gln Gly Val Thr Phe Phe Tyr Val Asp Arg Met Gly Tyr Tyr
50
Pro Tyr Ile Asp Ser Phe Thr Gly Val Thr Val Asp Gly Gly Ile Pro
65
Gln Lys Ile Ser Phe Gln Asn His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80
Pro Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100
Gln Glu Trp Arg Thr Thr Arg Ala Arg Asp Ser Lys Pro Lys Asp Val
115
Tyr Lys Asn Arg Ser Phe Gly Leu Val Gln Gln Gln Arg Val Gln Leu
130
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Gly Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145
Gly Lys Asn Phe Ser Val Gln Thr Ile Lys Ser Gly Lys Leu Leu Arg
160
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
180
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile
195
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225
Met Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Thr Arg Val Ser Lys Trp
240
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr
275
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305
Asn Tyr Met Glu Thr Phe Leu Asn Thr Tyr Phe Phe Asn Val Thr Leu
320
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gly Val Leu Cys Gly Cys Gly Glu Val Cys
340
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Thr Asp
355
Asn Phe Ala Ile Gly Leu Gly Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370
Lys Pro Thr Leu Gly Asp Leu Glu Gln Phe Ser Gly Lys Phe Tyr Cys
385
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
400
Ser Asn Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
420
Phe Leu Lys Pro Pro Met Gln Thr Gln Gln Pro Ser Ile Phe Tyr Asn
435
Ala Ser Thr Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
450
Phe Leu
465

```

5

- <210> 150
- <211> 464
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

10



<220>

<223> olgun PH20 36-499

<400> 150

```

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1  2  3  4  5  6  7  8  9 10 11 12 13 14 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57
Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe
58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85
Thr Phe Tyr Met Asp Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Tyr Glu Glu Phe Glu Lys Ala
128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155
Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Tyr Tyr Asn His
156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile
170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211
Ser Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281
Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys
296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp
310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323
Ser Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Tyr Phe Thr Val Arg Gly
324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365
Thr Asp Ala Val Asp Val Tyr Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379
Phe Leu Lys Pro Pro Met Ser Thr Glu Glu Pro Ser Ile Phe Tyr Asn
380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393
Ala Ser Arg Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407

```

5

<210> 151

<211> 462

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<220>

<223> PH20 36-497

5 <400> 151

```

Leu Asn Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Arg Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Lys Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75
Leu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80 85 90
Leu Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95 100 110
Leu Glu Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140
Ser Leu Ser Glu Ala Thr Trp Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155
Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Ser Gly Lys Leu Leu Arg
160 165 170
Pro Asn His Leu Trp Gly Lys Lys Leu Thr Pro Asp Lys Tyr Asn His
175 180 185
His Lys Lys Lys Arg Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
190 195 200
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
205 210 215 220 225
Lys Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu 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 Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp
290 295 300
Lys 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 Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
340 345 350
Le Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Thr Asp
355 360 365
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu 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 Thr Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn
435 440 445
Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser
445 450 455 460

```

<210> 152

10 <211> 460

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-495

5

<400> 152

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Thr Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20
Leu Asn Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
30
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
40
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asp Gly Gly Ile Trp
50
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asn His Leu Asp Cys Ala Lys Lys Asp Ile
60
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
70
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
80
Tyr Lys Asn Arg Ser Thr Phe Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
90
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
100
Gly Lys Asp Ser Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
110
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Glu Pro Asp Cys Tyr Asn His
120
His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
130
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
140
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
150
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
160
Phe Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ser Ala Tyr Thr Arg Ile Val
170
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
180
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
190
Gly Thr Leu Ser Thr Met Arg Ser Met Lys Ser Tyr Leu Leu Leu Asp
200
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
210
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
220
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Thr Asp
230
Asn Phe Ala Ile Glu Ser Thr Thr Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Asp Gly
240
Lys Pro Thr Leu Thr Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
250
Ser Cys Tyr Ser Thr Met Ser Cys Tyr Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
260
Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
270
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Ser Ile Thr Tyr Asp
280
Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile
290

```

10

<210> 153

<211> 458

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> PH20 36-493

<400> 153

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
30 35 40 45
Thr Gly Glu 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 Phe
65 70 75 80
Ser Lys Ile Ser Leu Glu 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
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Thr Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Ser Pro Asp Tyr Tyr Asn His
180 185 190
His Tyr Lys Lys Phe 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 Glu Cys Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Tyr Ile
245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Thr Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Thr Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Arg Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Tyr 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
325 330 335 340
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Glu Gly Val Cys
345 350 355
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
360 365 370 375
Asn Phe Ala Ile Cys Leu Ser Lys Gly Gly Tyr Phe Thr Val Arg Gly
380 385 390
Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
395 400 405
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
410 415 420 425
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
430 435 440 445
Phe Leu Lys Ser Pro Met Thr Thr Glu Glu Pro Thr Ile Ser Tyr Asn
450 455
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met

```

10

<210> 154  
 <211> 456

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> PH20 36-491

<400> 154

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Thr Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Ser
20 25 30
Leu Asn Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Thr Gly Glu 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 Arg
65 70 75
Val Lys Ile Ser Leu Glu Asp Phe Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80 85 90
Thr Phe Tyr Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95 100 110
Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
160 165 170
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
175 180 185
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
190 195 200
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Leu Ser Thr Ala Leu
205 210 215
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Ile Ser Pro Val Ala Ala Thr
220 225 230
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
235 240 245
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Lys Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
250 255 260
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
265 270 275
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
280 285 290
Gly Leu Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu Leu Leu Asp
295 300 305
Asn Lys Met Glu Thr Ile Asn Asn Pro Tyr Ile Leu Asn Val Thr Leu
310 315 320
Ala Ala Lys Met Cys Ser Thr Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
325 330 335
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
340 345 350
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
355 360 365
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
370 375 380
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Gly Lys Ala Asn Val Lys Asp
385 390 395
Thr Asp Ala Val Asp Val Tyr Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
400 405 410
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Thr Ile Phe Tyr Asn
415 420 425
Ala Ser Arg Ser Thr Leu Ser Ala
430 435 440 445 450
    
```

10

<210> 155  
 <211> 454

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> PH20 36-489

<400> 155

```

Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 10 15
Ala Met Asp Ala Pro Ser Gln Pro Cys Leu Gly Lys Phe Asp Gln Pro
20 25 30
Met Asp Met Ser Met Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asp Ala
35 40 45
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Phe 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 Phe Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95
Ser Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110
Glu Gln Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asp Val Gln Leu
130 135 140
Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Gln Lys Ala
145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp His
180 185 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile
195 200 205 210
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu
215 220 225 230
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
235 240 245 250
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile
255 260 265 270
Pro Arg Ala Lys Ser Pro Ser Pro Val Phe Ala Tyr His Arg Ile Val
275 280 285 290
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr
295 300 305 310
Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
315 320 325 330
Tyr Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Ser Leu Leu Asp
335 340 345 350
Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
355 360 365 370
Ala Ala Lys Met Cys Ser Thr Val Leu Cys Gln Gln Ser Gly Val Cys
375 380 385 390
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp
395 400 405 410
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Thr Lys Gly Gly Lys Phe His Val Arg Gly
415 420 425 430
Lys Pro Thr Leu His Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys His Tyr Cys
435 440 445 450
Ser Lys Tyr Ser Thr Met Ser Tyr Lys Lys Gln Tyr Ala Asp Val Lys Asp
455 460 465 470
Ser Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
475 480 485 490
Phe Leu Lys Pro Pro Met Gln Thr Gln Gln Pro Gln Phe Phe Tyr Asp
495 500
Ala Ser Pro Ser Thr Leu
505
    
```

10

<210> 156

<211> 455  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-490

<400> 156

```

Leu Asn Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Val Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Ala Gly His Gly Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Leu Ala Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80
Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95
Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110
Glu Phe Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Leu Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130 135 140 145
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu 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 Tyr Tyr Asn His
180 185 190
His Tyr Lys Lys Phe 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
210 215 220 225
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270 275
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
280 285 290 295
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp
300 305 310
Gly His Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
315 320 325 330
Asn Tyr Met Glu Thr Leu Leu Asn Phe Tyr Ile Leu Asn Val Thr Leu
335 340 345 350
Ala Ala Lys Met Cys Ser His Val Leu Cys Glu Glu His Gly Val Cys
355 360 365 370
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Leu Asp
375 380 385 390
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
395 400 405 410
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
415 420 425 430
Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
435 440 445 450
Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
455 460 465 470
Phe Leu Lys Phe Pro Met His Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn
475 480 485 490
Ala Ser Phe Ser Thr Leu Ser
495
    
```

10

<210> 157

<211> 452  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-487

<400> 157

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1      7      10      13      16      19      22      25      28      31      34      37      40      43      46      49      52      55      58      61      64      67      70      73      76      79      82      85      88      91      94      97      100      103      106      109      112      115      118      121      124      127      130      133      136      139      142      145      148      151      154      157
Ala Met Asn Ala Pro Ser Cys Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20      23      26      29      32      35      38      41      44      47      50      53      56      59      62      65      68      71      74      77      80      83      86      89      92      95      98      101      104      107      110      113      116      119      122      125      128      131      134      137      140      143      146      149      152      155      158      161      164      167      170      173      176      179      182      185      188      191      194      197      200      203      206      209      212      215      218      221      224      227      230      233      236      239      242      245      248      251      254      257      260      263      266      269      272      275      278      281      284      287      290      293      296      299      302      305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Val Thr Val Asp Arg Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
36      39      42      45      48      51      54      57      60      63      66      69      72      75      78      81      84      87      90      93      96      99      102      105      108      111      114      117      120      123      126      129      132      135      138      141      144      147      150      153      156      159      162      165      168      171      174      177      180      183      186      189      192      195      198      201      204      207      210      213      216      219      222      225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
88      91      94      97      100      103      106      109      112      115      118      121      124      127      130      133      136      139      142      145      148      151      154      157
Trp Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100      103      106      109      112      115      118      121      124      127      130      133      136      139      142      145      148      151      154      157
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
114      117      120      123      126      129      132      135      138      141      144      147      150      153      156      159      162      165      168      171      174      177      180      183      186      189      192      195      198      201      204      207      210      213      216      219      222      225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
130      133      136      139      142      145      148      151      154      157      160      163      166      169      172      175      178      181      184      187      190      193      196      199      202      205      208      211      214      217      220      223      226      229      232      235      238      241      244      247      250      253      256      259      262      265      268      271      274      277      280      283      286      289      292      295      298      301      304      307      310      313      316      319      322      325      328      331      334      337      340      343      346      349      352      355      358      361      364      367      370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145      148      151      154      157      160      163      166      169      172      175      178      181      184      187      190      193      196      199      202      205      208      211      214      217      220      223      226      229      232      235      238      241      244      247      250      253      256      259      262      265      268      271      274      277      280      283      286      289      292      295      298      301      304      307      310      313      316      319      322      325      328      331      334      337      340      343      346      349      352      355      358      361      364      367      370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165      168      171      174      177      180      183      186      189      192      195      198      201      204      207      210      213      216      219      222      225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp His
180      183      186      189      192      195      198      201      204      207      210      213      216      219      222      225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
194      197      200      203      206      209      212      215      218      221      224      227      230      233      236      239      242      245      248      251      254      257      260      263      266      269      272      275      278      281      284      287      290      293      296      299      302      305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210      213      216      219      222      225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Ser His His Ser Pro Val Ala Ala Thr
225      228      231      234      237      240      243      246      249      252      255      258      261      264      267      270      273      276      279      282      285      288      291      294      297      300      303      306      309      312      315      318      321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Ser Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245      248      251      254      257      260      263      266      269      272      275      278      281      284      287      290      293      296      299      302      305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Met Phe Val Phe Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260      263      266      269      272      275      278      281      284      287      290      293      296      299      302      305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Phe Ser Asn His Val Leu Lys Phe Leu Ser His Asp His Leu Val Tyr
275      278      281      284      287      290      293      296      299      302      305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
280      283      286      289      292      295      298      301      304      307      310      313      316      319      322      325      328      331      334      337      340      343      346      349      352      355      358      361      364      367      370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305      308      311      314      317      320      323      326      329      332      335      338      341      344      347      350      353      356      359      362      365      368      371      374      377      380      383      386      389      392      395      398      401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr His Ile Asn Val Thr Leu
321      324      327      330      333      336      339      342      345      348      351      354      357      360      363      366      369      372      375      378      381      384      387      390      393      396      399      402      405      408      411      414      417      420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Ala Al Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys
340      343      346      349      352      355      358      361      364      367      370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Le Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Ser His Ser Asn Ser Asp
355      358      361      364      367      370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Asn Phe Al Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe His Val Arg Gly
370      373      376      379      382      385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Glu Glu Leu Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385      388      391      394      397      400      403      406      409      412      415      418      421      424      427      430      433      436      439      442      445      448      451
Ser Tyr Lys Ser Thr Leu Ser Tyr Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
401      404      407      410      413      416      419      422      425      428      431      434      437      440      443      446      449      452
Trp Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420      423      426      429      432      435      438      441      444      447      450
Phe Leu Lys Phe Pro Met Ser Thr Glu Glu Phe Glu Ile Phe Tyr Asn
435      438      441      444      447      450
Ala Ser Phe Ser
450
    
```

10

<210> 158



<211> 450  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-485

<400> 158

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Met Asp Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Trp Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Ile Gln Asp His Leu Asp Tyr Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95 100
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
105 110 115
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
120 125 130
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
135 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp His
180 185 190 195
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile
200 205 210 215
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
220 225
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
230 235 240
Met 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 Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270
Phe Thr Asp Gln Val Ile 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
Ser Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn His Tyr Ile Ile Ser Val Thr Leu
325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys
340 345 350
Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ile His Ile Asn Pro Asp
355 360 365
Ser Phe Ala Ile Gln Ile Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380
Lys Pro Thr Leu Gln Asp Ser Glu Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Ile 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 Gln Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
435 440 445
Ala Ser
450
    
```

10

<210> 159

<211> 449  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-484

<400> 159

```

Leu Asn Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1      5      10      15      20      25      30      35      40      45      50
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
55      60      65      70      75      80      85      90      95      100
Met Asn Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Pro Ile Asn Ala
105     110     115     120     125     130     135     140     145     150
Trp Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Met Gly Tyr Tyr
155     160     165     170     175     180     185     190     195     200
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Lys Glu Ile Pro
205     210     215     220     225     230     235     240     245     250
Gln Lys Ile Ser Ser Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Lys Asp Ile
255     260     265     270     275     280     285     290     295     300
Ser Phe Tyr Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
305     310     315     320     325     330     335     340     345     350
Gln Glu Trp Arg Arg Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
355     360     365     370     375     380     385     390     395     400
Lys Lys Asn Asp Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asp Val Glu Leu
405     410     415     420     425     430     435     440     445     450
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Phe Glu Ile
455     460     465     470     475     480     485     490     495     500
Gly Lys Asp Phe Ser Val Glu Glu Ile Lys Ser Gly Lys Leu Leu Leu Asp
505     510     515     520     525     530     535     540     545     550
Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn Arg
555     560     565     570     575     580     585     590     595     600
His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
605     610     615     620     625     630     635     640     645     650
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Arg Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
655     660     665     670     675     680     685     690     695     700
Lys Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Ser Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
705     710     715     720     725     730     735     740     745     750
Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
755     760     765     770     775     780     785     790     795     800
Pro Asn Ala Lys Ser Pro Leu Leu Leu Val Thr Ala Lys Ser Arg Ile Val
805     810     815     820     825     830     835     840     845     850
Phe Ile Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Ser Leu Val Tyr
855     860     865     870     875     880     885     890     895     900
Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
905     910     915     920     925     930     935     940     945     950
Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
955     960     965     970     975     980     985     990     995     1000
Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
1005    1010    1015    1020    1025    1030    1035    1040    1045    1050
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
1055    1060    1065    1070    1075    1080    1085    1090    1095    1100
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu Asn Leu Asn Pro Asp
1105    1110    1115    1120    1125    1130    1135    1140    1145    1150
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
1155    1160    1165    1170    1175    1180    1185    1190    1195    1200
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Val Tyr Cys
1205    1210    1215    1220    1225    1230    1235    1240    1245    1250
Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
1255    1260    1265    1270    1275    1280    1285    1290    1295    1300
Trp Asn Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
1305    1310    1315    1320    1325    1330    1335    1340    1345    1350
Phe Leu Lys Pro Pro Met Ser Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn
1355    1360    1365    1370    1375    1380    1385    1390    1395    1400

```

10

<210> 160  
 <211> 441

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 5 <223> PH20 36-476

<400> 160

```

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1  5  10  15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30 35 40 45 50 55 60
Met Ser Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asp Ala
65 70 75 80 85 90 95 100 105 110
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Met Gly Tyr Tyr
115 120 125 130 135 140
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
145 150 155 160 165 170 175 180 185 190
Gln Cys Ile Ser Ile Gln Asn His Leu Asp Tyr Ala Lys Lys Asp Ile
195 200 205 210 215 220 225 230 235 240
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
245 250 255 260 265 270 275 280 285 290
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
295 300 305 310 315 320 325 330 335 340
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
345 350 355 360 365 370 375 380 385 390
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Tyr Gln Gln Phe Glu Lys Ala
395 400 405 410 415 420 425 430 435 440
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
445 450 455 460 465 470 475 480 485 490
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
495 500 505 510 515 520 525 530 535 540
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
545 550 555 560 565 570 575 580 585 590
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asp Glu Ser Thr Ala Leu
595 600 605 610 615 620 625 630 635 640
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
645 650 655 660 665 670 675 680 685 690
Met Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
695 700 705 710 715 720 725 730 735 740
Pro Asn Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
745 750 755 760 765 770 775 780 785 790
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
795 800 805 810 815 820 825 830 835 840
Gly Thr Leu Ser Ile Met Pro Ser Met Lys Ser Cys Met Leu Leu Asp
845 850 855 860 865 870 875 880 885 890
Asn Lys Met Glu Thr Ile Met Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
895 900 905 910 915 920 925 930 935 940
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys
945 950 955 960 965 970 975 980 985 990
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Leu His Met Asn Pro Asp
995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040
Asn Phe Ala Ile Gln Lys Gln Lys Gly Gly Lys Phe Ser Val Arg Gly
1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asn Val Lys Asp
1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Tyr Ile Asp Ala
1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240
Ser Ser Lys Pro Arg Met Gln Ser Glu
1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290

```

10

<210> 161  
 <211> 440  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-475

5

<400> 161

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
45 50
Pro Lys Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
55 60
Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp Phe Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
65 70
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
75 80
Glu Glu Thr Arg Thr Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
85 90
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
95 100
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
105 110
Gly Lys Asp Phe Met Val Glu Thr Ile Lys Met Gly Lys Leu Leu Arg
115 120
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
125 130
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
135 140
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
145 150
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
155 160
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
165 170
Phe Asn Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ser Glu Asp Ile Leu Val Tyr
175 180
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
185 190
Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
195 200
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
205 210
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Ile Gly Val Cys
215 220
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
225 230
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
235 240
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
245 250
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
255 260
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
265 270
Phe Leu Lys Phe Pro Met Glu Thr
275 280

```

10

<210> 162

<211> 439

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-474

5 <400> 162

```

Leu Asn Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1 10 15
A La Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro
20 25
Met Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asp Ala
30 35 40
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
40 45 50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Leu Thr Gly Val Thr Val Asp Gly Gly Ile Pro
55 60 65 70 75
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80 85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110 115
Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Pro Lys Asp Val
120 125 130 135 140
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Glu Leu
145 150 155 160
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala
165 170 175
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
180 185 190 195
Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys Tyr Asn His
200 205 210 215 220
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
225 230 235 240
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
245 250 255 260
Lys Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr His His Ser Pro Val Ala Ala Thr
265 270 275 280
Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
285 290 295 300
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Lys Val Thr Ala Tyr Ser Arg Ile Val
305 310 315 320
Phe Ser Asn His Val Leu Lys Phe Leu Ser Lys Asp His Leu Val Tyr
325 330 335 340
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
345 350 355 360
Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
365 370 375 380
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
385 390 395 400
Ala Ala Lys Met Cys Ser His Val Leu Cys His His Glu Gly Val Cys
405 410 415 420
Le Arg Lys Asn Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Ser His Leu Asn Trp Asp
425 430 435 440
Asp Phe Ala Ile His Leu His Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
445 450 455 460
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Leu Lys Phe Tyr Cys
465 470 475 480
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp
485 490 495 500
Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
505 510 515 520
Phe Leu Lys Ser Pro Met Thr
525 530

```

<210> 163

10 <211> 438

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-473

<400> 163

```

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Glu Leu Trp
1 5 10 15
Asp Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20 25 30
Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asp Ala
35 40 45
Thr Gly Glu Gly Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Ser Gly Tyr Tyr
50 55 60
Pro Tyr Ile Asp Ser Leu 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
80 85 90
Phe Phe Tyr Met Trp Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95 100 105
Gln Gln Ser Arg Trp Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
110 115 120
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Gln Gln Gln Asp Val Gln Leu
125 130 135
Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Gln Lys Ala
140 145 150
Gly Lys Asn Phe Ser Val Gln Thr Ile Lys Ser Gly Lys Leu Leu Arg
155 160 165
Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Lys Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn Arg
170 175 180
His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile
185 190 195
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu
200 205 210
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
215 220 225
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
230 235 240
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
245 250 255
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Ser Leu Val Tyr
260 265 270
Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
275 280 285
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu Leu Leu Asp
290 295 300
Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
305 310 315
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Ser Gln Gly Val Cys
320 325 330
Phe Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asp Pro Asp
335 340 345
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
350 355 360
Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gly Phe Ser Ser Lys Phe Tyr Cys
365 370 375
Ser Cys Tyr Ser Thr Ile Ser Cys Lys Gln Lys Phe Asn Val Lys Asp
380 385 390
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
395 400 405
Phe Leu Lys Trp Pro Met
405 410 415

```

5

<210> 164

<211> 437

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-472

<400> 164

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Leu Leu Trp
1
Asp Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20
Asn Asp Met Ser Ser Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50
Pro Lys Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
60
Thr Lys Ile Ser Ser Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
75
Thr Phe Lys Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100
Ile Ile Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Ile Glu Glu Asn Val Glu Leu
130
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145
Gly Lys Asn Thr Ile Val Ile Ser Ile Lys Ile Gly Lys Leu Leu Arg
160
Pro Asn His Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Thr Pro Asp Lys Tyr Asn His
180
His Tyr Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195
Lys Arg Asn Asp Asp Ser Ser Trp Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
210
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
225
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Thr Asn Val Ser Lys Ile
240
Phe Asp Ala Lys Ser Phe Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
255
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Ser Asp Glu Leu Val Tyr
270
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
285
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
300
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
315
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
330
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Asn His Leu Asn Pro Asp
345
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
360
Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
375
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asn Val Lys Asp
390
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
405
Phe Leu Lys Pro Pro
420

```

5

<210> 165

<211> 436

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<220>

<223> PH20 36-471

<400> 165

```

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asp Val Pro Phe Leu Trp
1
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Cys Phe Cys Leu Gly Tyr Phe Asp Glu Pro
20
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asp Ala
35
Trp Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Ile Gly Tyr Tyr
50
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Ser Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65
Cys Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Tyr Ala Tyr Lys Asp Ile
80
Trp Phe Tyr Met Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
110
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
125
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
140
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
155
Pro Asp His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
170
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
185
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
200
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Glu Ser Phe Val Ala Ala Thr
215
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile
230
Pro Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
245
Phe Thr Asn Glu Val Leu Lys Thr Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
260
Trp Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
275
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
290
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
305
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
320
Ile Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asp Pro Asp
335
Asn Phe Ala Ile Gln Asn Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
350
Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys
365
Ser Cys Tyr Ser Thr Asn Ser Cys Lys Gly Tyr Lys Ala Asn Val Lys Asp
380
Trp Arg Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
400
Phe Ser Lys Ser
415

```

- 5 <210> 166
- <211> 435
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- 10 <220>
- <223> PH20 36-470

<400> 166



Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 10  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 25  
 His Gly Glu Gly Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 30  
 Pro Lys Ile Asp Ser Ile His Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Ser  
 40  
 His Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 50  
 Ser Phe Tyr Met Trp Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 60  
 His Glu Trp Arg Trp Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 70  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile His Leu Val His Ile Glu Asn Val His Leu  
 80  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 90  
 Gly Lys Asp Phe Ser Val Glu Thr Ile Tyr Ser Gly Tyr Leu Leu Arg  
 100  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 110  
 His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 120  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 130  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 140  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Leu  
 150  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Ser Val Phe Ala Lys Thr Arg Ile Val  
 160  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 170  
 His Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 180  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Asn Asp  
 190  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Trp Tyr Ile Leu Asn Val Thr Ser  
 200  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser His Val Leu Cys Glu Ser Glu Gly Val Cys  
 210  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Trp Asp  
 220  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Leu His Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 230  
 Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu His Glu His Phe Ser His Lys Phe Tyr Cys  
 240  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Ser Cys Lys His Lys Ala Asn Val Lys Asp  
 250  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 260  
 Phe Leu Lys  
 270

- <210> 167
- 5 <211> 434
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 36-469
  
- <400> 167

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Glu Gly Val Phe Phe Phe Tyr Val Asn Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Phe Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Phe Val Ile Asp Trp  
 95  
 Glu Glu Thr Arg Pro Phe Thr Ala Arg Asn Thr Lys Pro Lys Asp Val  
 110  
 Tyr Lys Asp Arg Ser Phe Glu Leu Val Glu Glu Lys Asn Val Glu Leu  
 125  
 Ser Leu Thr Glu Ala Ser His Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Lys Tyr Asn His  
 170  
 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Ser Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 200  
 Lys Phe Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215  
 Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Thr Arg Val Ser Lys Ile  
 230  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Ser Pro Val Phe Ala Tyr His Arg Ile Val  
 245  
 Phe Ser Asn Glu Val Ser Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Phe Leu Gly Ala Ser Gly Phe Val Ile Trp  
 275  
 Gly Ser Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Ser Leu Leu Asp  
 290  
 Ser Tyr Met Glu Thr Phe Leu Asn Thr Tyr Phe Phe Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys  
 320  
 Phe Arg Lys Asn Trp Asp Ser Ser Asn Tyr Phe His Leu Asn Thr Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350  
 Lys Phe Thr Leu Glu Asp Ser Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 365  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Arg Val Lys Asp  
 380  
 Thr Arg Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala  
 395  
 Phe Leu

- 5 <210> 168
- <211> 433
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 36-468
  
- <400> 168

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Ser Gly His Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 61  
 Cys Lys Ile Ser Ser Cys Asp Ser Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 70  
 Ser Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 80  
 Leu Glu Thr Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Thr Lys Asp Val  
 90  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 100  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 110  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 120  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 130  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 140  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 150  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 160  
 Met Tyr Val Arg Asp Asn Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 170  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 180  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Cys Asp Glu Leu Val Tyr  
 190  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 200  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Met Leu Leu Asp  
 210  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 220  
 Ala Al Lys Met Cys Ser His Val Leu Cys Cys Glu Ser Gly Val Cys  
 230  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Ser Asp  
 240  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 250  
 Lys Pro Asn Leu Glu Asp Leu Glu Glu Ser Cys Glu Lys Phe Tyr Cys  
 260  
 Ser Cys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 270  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Tyr Ile Asp Ala  
 280

File

- <210> 169
- 5 <211> 431
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 36-466
  
- <400> 169

Leu Asp Phe Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Phe Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 10  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 25  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 37  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Leu Ala Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 47  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 57  
 Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100  
 Ser Glu Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 115  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 130  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 145  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 160  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 180  
 His Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210  
 Lys Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile  
 240  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Ser Leu Val Tyr  
 275  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp  
 290  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 320  
 Ala Al Lys Met Cys Ser His Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys  
 340  
 Le Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Ser Asp  
 355  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Ser Val Arg Gly  
 370  
 Lys Pro Ser Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385  
 Ser Tyr Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 400  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp  
 420

<210> 170

5 <211> 430

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

10 <223> PH20 36-465

<400> 170

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

- <210> 171
- 5 <211> 429
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 36-464
  
- <400> 171

Leu Asp Glu Arg Ala Phe Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 10  
 Ala Ser Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Ser Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Ser Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asn Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Ser  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Arg His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Phe Val Arg Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95  
 Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Phe Lys Asp Va  
 110  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Arg Val Glu Leu  
 125  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 170  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 200  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Ser Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215  
 Ser Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Asn Val Ser Lys Ile  
 230  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Ala Arg Ile Val  
 245  
 Phe Thr Asp Glu Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp  
 275  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Ser Leu Leu Asp  
 290  
 Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys  
 320  
 Le Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Ser Asn Thr Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Ser Val Arg Gly  
 350  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Lys  
 365  
 Ser Tyr Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 380  
 Thr Arg Ala Val Asp Val Tyr Ile Ala Asp Gly Val Tyr  
 395  
 400  
 405

- 5 <210> 172
- <211> 427
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> PH20 36-462
  
- <400> 172

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 30  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 40  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 50  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asn His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 60  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 70  
 Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 80  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 90  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Tyr Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 100  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Tyr Leu Gly Tyr Leu Leu Arg  
 110  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Tyr Tyr Asn His  
 120  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 130  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 140  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 150  
 Met Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 160  
 Phe Asn Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 170  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 180  
 Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 190  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Tyr Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 200  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 210  
 Ala Ala Lys Met Tyr Ser Glu Val Leu Tyr Glu Glu Glu Gly Val Tyr  
 220  
 Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Ser His Ser Asn Leu Asp  
 230  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Leu Lys Gly Gly Tyr Phe Thr Val Arg Gly  
 240  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Thr Tyr Tyr  
 250  
 Ser Tyr Tyr Ser Thr Glu Ser Tyr Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 260  
 Ser Asn Ala Val Asp Val Tyr Ile Ala Asp Gly  
 270  
 420  
 425

- 5 <210> 173
- <211> 425
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

- <220>
- 10 <223> PH20 36-460

<400> 173  
 Leu Asp Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 400  
 405

Leu Arg Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 75  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 80  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 85  
 Glu Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Asn Lys Lys Asp Ile  
 90  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Asn Val Ile Asp Trp  
 95  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 100  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 105  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 110  
 Gly Lys Asp Phe Ile Val Ser Thr Ile Lys Leu Glu Tyr Leu Leu Arg  
 115  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 120  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 125  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 130  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 135  
 Ser Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 140  
 Pro Asn Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 145  
 Phe Ser Asn Glu Val Ser Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 150  
 Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 155  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Pro Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 160  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 165  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Cys Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys  
 170  
 Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ser His Leu Asn Ser Asp  
 175  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Cys Lys Gly Gly Lys Phe Ile Val Arg Gly  
 180  
 Lys Phe Ser Leu Glu Asp Leu Glu Glu Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 185  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 190  
 Thr Arg Ala Val Asp Val Tyr Ile Ala  
 195

<210> 174  
 <211> 423  
 5 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 36-458

10 <400> 174  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Thr Leu Trp  
 1 5 10 15



Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 175  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 185  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 195  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 205  
 Ser Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 215  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 225  
 Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 235  
 Tyr Lys Asn Asp Ser Ile Thr Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 245  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Thr Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala  
 255  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Asn  
 265  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 275  
 His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 285  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu  
 295  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 305  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 315  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 325  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Ser Leu Val Tyr  
 335  
 Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 345  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 355  
 Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 365  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Gln Ser Gly Val Cys  
 375  
 Leu Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 385  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Ser Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 395  
 Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Glu Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys  
 405  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys  
 420

- <210> 175
- <211> 421
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-456
  
- 10 <400> 175

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Glu Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Gln Asn Phe Leu Asp Lys Arg Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100  
 Gln Glu Trp Arg Arg Thr Lys Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 115  
 Val Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130  
 Ser Ser Ser Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala  
 145  
 Gly Lys Asp Ser Ser Val Glu Ser Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 160  
 Phe Asn Arg Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Arg Asp Lys Tyr Asn Arg  
 180  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Gln Ser Phe Val Ala Ala Thr  
 225  
 Ser Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 240  
 Phe Asn Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Thr Ala Lys Ser Arg Ile Val  
 260  
 Phe Ser Asn Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu Val Ile Trp  
 290  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305  
 Asn Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Arg Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 320  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Gln Ser Gly Val Cys  
 340  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp  
 355  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370  
 Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Glu Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys  
 385  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Arg Asp Val Lys Asp  
 400  
 Thr Asp Ala Val Asp  
 420

- <210> 176
- <211> 419
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-454
  
- 10 <400> 176

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15  
 Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30  
 Del Asp Met Ser Ile Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Del Gly Tyr Tyr  
 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77  
 Ser Lys Ile Ser Ile Gln Asn Phe Leu Asp Tyr Ala Lys Lys Asp Ile  
 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asp Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95 100 105 110 115 120  
 Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Thr Lys Phe Lys Asp Val  
 125 130 135 140  
 Tyr Lys Asp Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 145 150 155 160  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 165 170 175 180  
 Gly Lys Asp Phe Ile Val Glu Thr Ile Lys Ile Gly Lys Leu Leu Arg  
 185 190 195 200  
 Pro Asp His Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 205 210 215 220 225 230  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile  
 235 240 245 250 255 260  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Asp Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu  
 265 270 275 280 285 290 295 300  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 305 310 315 320 325 330 335 340  
 Del Tyr Val Asp Asn Arg Val Arg Glu Ala Thr Arg Val Ser Lys Ile  
 345 350 355 360 365 370 375 380  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Asp Phe Val Phe Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 385 390 395 400 405 410 415 420  
 Thr Phe Gly Glu Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 425 430 435 440 445 450 455 460  
 Gly Ile Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 465 470 475 480 485 490 495 500  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asp Val Thr Leu  
 505 510 515 520 525 530 535 540  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 545 550 555 560 565 570 575 580  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Ile His Del Asn Pro Asp  
 585 590 595 600 605 610 615 620  
 Asn Phe Ala Ile Gln Ile Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 625 630 635 640 645 650 655 660  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Met Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 665 670 675 680 685 690 695 700  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp Val Lys Asp  
 705 710 715 720 725 730 735 740  
 Ser Asp Ala

- <210> 177
- <211> 417
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-452
  
- 10 <400> 177

Leu Asn Glu Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Glu Leu Trp  
 1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Gln Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro  
 160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300  
 Leu Asn Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600  
 Pro Lys Ile Asp Ser Ile Ser Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Trp  
 610 620 630 640 650 660 670 680 690 700 710 720 730 740 750  
 Ala Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 760 770 780 790 800 810 820 830 840 850 860 870 880 890 900  
 Leu Phe Tyr Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 910 920 930 940 950 960 970 980 990 1000 1010 1020 1030 1040 1050  
 His Ile Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 1060 1070 1080 1090 1100 1110 1120 1130 1140 1150 1160 1170 1180 1190 1200  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Arg Val Gln Leu  
 1210 1220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300 1310 1320 1330 1340 1350  
 Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Gln Lys Ala  
 1360 1370 1380 1390 1400 1410 1420 1430 1440 1450 1460 1470 1480 1490 1500  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Cys Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 1510 1520 1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600 1610 1620 1630 1640 1650  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 1660 1670 1680 1690 1700 1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770 1780 1790 1800  
 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile  
 1810 1820 1830 1840 1850 1860 1870 1880 1890 1900 1910 1920 1930 1940 1950  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu  
 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020 2030 2040 2050 2060 2070 2080 2090 2100  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 2110 2120 2130 2140 2150 2160 2170 2180 2190 2200 2210 2220 2230 2240 2250  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 2260 2270 2280 2290 2300 2310 2320 2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400  
 Pro Asn Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480 2490 2500 2510 2520 2530 2540 2550  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr  
 2560 2570 2580 2590 2600 2610 2620 2630 2640 2650 2660 2670 2680 2690 2700  
 Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 2710 2720 2730 2740 2750 2760 2770 2780 2790 2800 2810 2820 2830 2840 2850  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 2860 2870 2880 2890 2900 2910 2920 2930 2940 2950 2960 2970 2980 2990 3000  
 Arg Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asp Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 3010 3020 3030 3040 3050 3060 3070 3080 3090 3100 3110 3120 3130 3140 3150  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Ser Gly Val Cys  
 3160 3170 3180 3190 3200 3210 3220 3230 3240 3250 3260 3270 3280 3290 3300  
 Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Arg His Leu Asn Leu Asp  
 3310 3320 3330 3340 3350 3360 3370 3380 3390 3400 3410 3420 3430 3440 3450  
 Asn Phe Ala Ile Ile Ile Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 3460 3470 3480 3490 3500 3510 3520 3530 3540 3550 3560 3570 3580 3590 3600  
 Lys Pro Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys Ile Tyr Lys  
 3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680 3690 3700 3710 3720 3730 3740 3750  
 Ser Lys Lys Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 3760 3770 3780 3790 3800 3810 3820 3830 3840 3850 3860 3870 3880 3890 3900  
 401 410 415

- <210> 178
- <211> 415
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-450
  
- 10 <400> 178

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20 25  
 Leu Arg Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 30 35 40 45  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Leu Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65 70 75 80  
 Thr Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90  
 Thr Phe Tyr Met Phe Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Leu Ile Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120  
 Lys Lys Asn Arg Ser Ile Thr Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 125 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Thr Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Thr Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys 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 Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu 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 Leu  
 245 250 255  
 Phe Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Phe Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Leu 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 Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Tyr Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Arg Val Lys  
 405 410 415

- <210> 179
- <211> 473
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-508
  
- 10 <400> 179

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Thr Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95  
 Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 110  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 125  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Tyr Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Thr Ile Tyr Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 170  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu  
 200  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Ser His Glu Ser Phe Val Ala Ala Thr  
 215  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 230  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 245  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 275  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 290  
 Asn Tyr Met Glu Thr Thr Leu Asn Phe Tyr Thr Thr Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Glu Ser Gly Val Cys  
 320  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Leu His Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 365  
 Ser Tyr Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 380  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 395  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Thr Thr Tyr Asn  
 410  
 Ala Ser Thr Ser Thr Thr Ser Ala Thr Met Phe Thr Val Ser Ile Leu  
 425  
 Phe Leu Ile Thr Ser Ser Val Ala Ser  
 440

5 <210> 180  
 <211> 471  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> PH20 36-506

<400> 180

```

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

```

5

```

<210> 181
<211> 469
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

10

<220>

<223> PH20 36-504

<400> 181

```

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp
1  2  3  4  5  6  7  8  9 10 11 12 13 14 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Leu Phe Ser Glu Phe Cys Leu Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala
16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Glu Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala
31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45
Thr Gly Glu Gly Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60
Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Phe
61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Phe
76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90
Ser Phe Cys Met Arg Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105
Gln Glu Asn Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Gln Leu Val Gln Gln Gln Arg Val Gln Leu
121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135
Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Tyr Gln Gln Phe Glu Lys Ala
136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150
Gly Lys Asn Phe Leu Val Gln Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165
Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile
181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Gln Ser Thr Ala Leu
196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225
Leu Lys Val Asn Asn Arg Val Arg Gln Ala Gln Arg Val Ser Lys Ile
226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240
Pro Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255
Phe Ile Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr
256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270
Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300
Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys
316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360
Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys
361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Lys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp
376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390
Thr Arg Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405
Phe Leu Lys Ser Pro Met Gln Thr Gln Gln Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420
Ala Ser Phe Ser Thr Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435
Phe Leu Ile Ile Ser
436 437 438 439 440

```

5

<210> 182

<211> 467

<212> PRT

10



<213> Homo sapiens

<220>

<223> PH20 36-502

5

<400> 182

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 5 10 15
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Thr Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20 25 30
Leu Asn Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35 40 45
Thr Gly Glu 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 Trp
65 70 75
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asn His Leu Asp Cys Ala Cys Lys Asp Ile
80 85 90
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95 100 105
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
110 115 120
Tyr Lys Asn Arg Ser Thr Phe Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
125 130 140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 160
Gly Lys Asp Ser Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Glu Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190
His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255
Phe Arg Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ser Glu Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu 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 Tyr Leu Leu Leu Asp
305 310 315
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
320 325 330
Ala Al Lys Met Cys Ser Thr Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys
335 340 345
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Thr His Leu Asn Thr Asp
350 355 360
Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
365 370 375
Lys Phe Thr Leu Glu Asn Leu Glu Glu Phe Ser Leu Lys Phe Tyr Cys
380 385 390
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
395 400 405
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
410 415 420
Phe Leu Lys Phe Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn
425 430 440
Ala Ser Ser Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
445 450 455
Phe Leu Ile
460

```

10 <210> 183

<211> 465  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5 <220>  
 <223> PH20 36-500

<400> 183

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1      5      10      15
Ala Arg Asn Ala Pro Ser Thr Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe
20     25     30
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35     40     45
Ser Gly Glu Gly Val Thr Le Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50     55     60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asp Gly Gly Ile Pro
65     70     75
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80     85     90
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95     100    105
Gln Gln Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Ser Lys Pro Lys Asp Val
110    115    120
Lys Lys Asn Arg Ser Ile Ala Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
125    130    135
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
140    145    150
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
155    160    165
Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn His
170    175    180
His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
185    190    195
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Trp Asn Leu Ser Thr Ala Leu
200    205    210
Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
215    220    225
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile
230    235    240
Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
245    250    255
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
260    265    270
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Thr Trp
275    280    285
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Lys Leu Leu Leu Asp
290    295    300
Asn Tyr Met Glu Thr Leu Leu Asn Pro Tyr Ile Leu Asn Val Thr Leu
305    310    315
Asn Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Ser Glu Gly Val Cys
320    325    330
Leu Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
335    340    345
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Gln Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
350    355    360
Lys Phe Thr Leu Gln Asp Leu Gln Gln Phe Ser Gln Lys Phe Tyr Cys
365    370    375
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asn Val Lys Asp
380    385    390
Ser Asn Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
395    400    405
Phe Leu Lys Phe Pro Met Gln Thr Gln Gln Pro Ser Ile Phe Tyr Ser
410    415    420
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
425    430    435
Phe
440
    
```

```

<210> 184
<211> 463
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<220>
<223> PH20 36-498

10 <400> 184
Leu Asp Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
1 10 15
Phe Thr Asp Ala Pro Ser Gln Phe Cys Met Gly Lys Phe Asp Gln Pro
16 20 25
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala
26 30 35 40 45
Trp Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
36 40 45 50 55
Pro Cys Ile Asp Ser Leu Thr Ser Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
56 60 65 70 75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Arg His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
81 85 90 95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Arg Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110
Gln Gln Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
111 115 120 125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
126 130 135 140
Ser Leu Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Lys Gln Gln Phe Gln Lys Ala
141 145 150 155 160
Gly Lys Asp Phe Met Val Gln Thr Ile Lys Met Gly Lys Leu Leu Arg
156 160 165 170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asp Phe
180 185 190 195
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Gln Ile
200 205 210 215
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asp Gln Ser Thr Ala Leu
216 220 225
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
226 230 235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg His Ala Leu Arg Val Ser Lys Ile
241 245 250 255
Pro Arg Ala Lys Ser Pro Ser Pro Val Phe Ala Lys Ser Arg Ile Val
256 260 265 270
Phe Ser Asp Thr Val Ser Lys Phe Leu Ser Cys Asp Gln Leu Val Tyr
271 275 280 285
Thr Phe Gly Gln Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
286 290 295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
301 305 310 315 320
Asn Tyr Met Gln Thr Ile Leu Asn Ser Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
321 325 330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Thr Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys
336 340 345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Ser Asp
351 355 360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Ser Gln Lys Gly Gly Lys Phe Ser Val Arg Gly
366 370 375 380
Lys Pro Ser Leu Gln Asp Asn Gln Gln Phe Ser Gln Lys Gln Tyr Cys
381 385 390 395
Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp
400 405 410 415
Ser Asp Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala
420 425 430 435
Phe Leu Lys Pro Pro Met Thr Thr Gln Gln Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
436 440 445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile
446 450 455 460

```

<210> 185  
 <211> 461  
 <212> PRT  
 5 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> PH20 36-496

10 <400> 185

```

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

```

15
100 Met Pro Val Asn Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
110
115 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
120
125 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Ser Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130
135 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Gln Gln Phe Glu Lys Ala
140
145 Gly Lys Asp Phe Leu Val Thr Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
150
155 Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Lys Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Arg
160
165 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Gln Ile
170
175 Lys Arg Asn Asp Asp Ser Thr Leu Trp Asn Cys Ser Thr Ala Leu
180
185 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
190
195 Ser Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Gln Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
200
205 Pro Asn Ala Lys Ser Pro Ser Leu Val Thr Ala Tyr Ser Arg Ile Val
210
215 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Gln Leu Val Tyr
220
225 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Phe Val Ile Trp
230
235 Gly Thr Leu Ser Ile Met Pro Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
240
245 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
250
255 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Gln Gln Gln Gly Val Cys
260
265 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp
270
275 Asn Phe Ala Ile Gln Ser Gln Lys Gly Gly Lys Phe Ser Val Arg Gly
280
285 Lys Pro Ser Leu Thr Asp Leu Gln Gln Phe Ser Cys Lys Phe Tyr Cys
290
295 Ser Lys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Gln Lys Ala Asp Val Lys Asp
300
305 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asn Ala
310
315 Phe Leu Lys Thr Pro Met Gln Thr Gln Gln Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
320
325 Ala Ser Thr Ser Thr Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
330

```

5 <210> 186  
 <211> 459  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10 <220>  
 <223> PH20 36-494

```

<400> 186
1 Met Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp
10
20 ALA Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Gln Pro
30
40 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala

```

35  
 40  
 45  
 50  
 55  
 60  
 65  
 70  
 75  
 80  
 85  
 90  
 95  
 100  
 105  
 110  
 115  
 120  
 125  
 130  
 135  
 140  
 145  
 150  
 155  
 160  
 165  
 170  
 175  
 180  
 185  
 190  
 195  
 200  
 205  
 210  
 215  
 220  
 225  
 230  
 235  
 240  
 245  
 250  
 255  
 260  
 265  
 270  
 275  
 280  
 285  
 290  
 295  
 300  
 305  
 310  
 315  
 320  
 325  
 330  
 335  
 340  
 345  
 350  
 355  
 360  
 365  
 370  
 375  
 380  
 385  
 390  
 395  
 400  
 405  
 410  
 415  
 420  
 425  
 430  
 435  
 440  
 445  
 450  
 455

- <210> 187
- <211> 457
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-492
  
- 10 <400> 187

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Glu Leu Trp  
 1  
 Asn Trp Asn Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Glu Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Trp Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Leu Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100  
 Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asp Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Leu Ser Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 130  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 145  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 160  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Ser Pro Asp Lys Tyr Asn His  
 180  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Ser Val Glu Ile  
 195  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Thr Leu Thr Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Ser Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225  
 Met Tyr Val Arg Asp Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 240  
 Pro Asn Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 275  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 320  
 Ala Ala Lys Met Lys Ser His Val Leu Lys Glu Glu His Gly Val Lys  
 335  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 350  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 365  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Ser His Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Lys  
 380  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Glu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 395  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 410  
 Phe Leu Lys Thr Thr Met Ser His Glu Glu Pro Glu Ile Phe Tyr Asn  
 425  
 Ala Ser Ser Ser Thr Ser Ser Ala Thr  
 440

- <210> 188
- <211> 453
- 5 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- <223> PH20 36-488
  
- 10 <400> 188

Leu Asp Glu Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Glu Leu Trp  
 1  
 Ala Trp Asp Ala Pro Ser Ser Glu Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Phe  
 20  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Glu Ile Gly Ser Phe Arg Ile Asn Ala  
 35  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50  
 Phe Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65  
 Ser Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 80  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 95  
 Glu Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asp Trp Lys Phe Lys Asp Val  
 110  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Gln Glu Asn Val Glu Leu  
 125  
 Ser Ser Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 140  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 155  
 Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn Phe  
 170  
 His Tyr Lys Lys Thr Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 185  
 Lys Arg Asn Asp Asp Glu Ser Thr Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu  
 200  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 215  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 230  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 245  
 Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 260  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 275  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 290  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Gln Glu Ser Gly Val Cys  
 320  
 Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe Asp  
 335  
 Asn Phe Ala Ile Glu Leu Ser Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 350  
 Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 365  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Tyr Ala Asp Val Lys Asp  
 380  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 395  
 Phe Leu Lys Thr Arg Met Glu Thr His Glu Pro Glu Ile Thr Tyr Asn  
 410  
 Ala Ser Pro Ser Thr  
 425  
 440  
 450

<210> 189  
 5 <211> 451  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 10 <223> PH20 36-486



&lt;400&gt; 189

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1
Asp Trp Asp Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
20
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
35
Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
50
Phe Tyr Ile Asp Ser Leu Thr Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65
Ser Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
80
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
95
Ser Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Val
110
Tyr Lys Asn Arg Ser Leu Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu
125
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Ser Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala
140
Gly Lys Asp Phe Leu Val Ser Thr Ile Lys Leu Glu Lys Leu Leu Arg
155
Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Ser Pro Asp Lys Tyr Asn Arg
170
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
185
Lys Arg Asp Asp Asp Leu Ser Asp Leu Trp Asp Glu Ser Thr Ala Leu
200
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asp Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr
215
Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Arg Glu Ala Ile Asn Val Ser Lys Ile
230
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Leu Val Thr Ala Tyr Ser Arg Ile Val
245
Phe Thr Asp Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr
260
Ser Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Glu Trp
275
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
290
Asp Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asp Val Tyr Ile Ile Asp Val Thr Leu
305
Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Glu Ile Gly Val Cys
320
Ile Arg Lys Asp Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Ile His Leu Asp Thr Asp
335
Asp Phe Ala Ile Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
350
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Ser Glu Glu Thr Ser Glu Lys Thr Tyr Cys
365
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
380
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
395
Phe Leu Lys Thr Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Glu Ile Thr Tyr Asp
410
Ala Ser Met
425

```

5 <210> 190  
 <211> 2105  
 <212> DNA  
 <213> Bos taurus

10 <220>  
 <223> PH20 DNA

```

<400> 190
gggttctatctt tgnctcttggg ggggggagag agagagcttga ctggttggggt ctatcgggag 60
ggtaaatcttg ctcaactctt tctcaactca tcaaacctca cgaacccca cgaatcgaag 120
aatctgaaa aatctctaaa ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 180
ttcaattctca tcaatcaaaa tgggttcaat ctctctctca ctctctctca ctctctctca 240
tcaatcaaaa ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 300
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 360
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 420
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 480
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 540
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 600
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 660
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 720
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 780
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 840
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 900
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 960
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1020
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1080
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1140
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1200
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1260
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1320
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1380
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1440
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1500
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1560
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1620
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1680
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1740
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1800
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1860
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1920
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 1980
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 2040
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 2100
ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca ctctctctca 2160

```

- <210> 191
- 5 <211> 1971
- <212> DNA
- <213> Bos taurus

- <220>
- 10 <223> Hyal1 DNA

<400> 191



```

cagggggggga  aatcctgctcag  ctctctcgtgta  cagggggggga  tctgggggggg  tggagggggaa  1020
cctggcaaac  atgcaactccc  cgtctcagctc  tctcagagggc  ccacatcatag  cagtgaggacc  1030
ccacacaccca  ccgcaacccca  cctccctccc  ccccttccctg  caactctctgc  cctccaggtcc  1040
gctggggggga  tctctctgggg  tggaggggggg  ctctctctctc  gctctctctct  ctggggggggg  1050
ctcaggggatt  atctggactctg  gctctctggta  cctctctctctg  tcaatgggctc  ctggggggggg  1060
cagctctccc  cctccggccca  ctccacacccc  cctccggccct  ctctccccc  ggcaccccacc  1070
gctcaccact  tctgggactct  cggaggggag  agctctctctc  agctctctctc  tgggctctctg  1080
cctccggccca  cagcagccca  ctccagctccc  ccccccacaaa  cccactacc  cccactacc  1090
ctgactctct  cctggactctg  ctactctctct  tgggctctctg  ggcctctctca  ggcctctctca  1100
aggggggggg  ctgggggggg  ctctgggggg  tgggctctctg  cctctctctc  tgggctctctg  1110
ggggggggag  tccgggccc  cactctagact  ctctctctctg  ctctccccc  gctggggggg  1120
cctggggggg  ctgggggggg  cgtctctctca  cgtctctctca  cgtctctctca  cgtctctctca  1130
cagggggggg  ctgggggggg  cggggggggg  ccccgaggag  ccccgaggag  tggggggggg  1140
cagggggggg  cggggggggg  cggggggggg  ccccgaggag  ccccgaggag  ccccgaggag  1150
cagggggggg  cggggggggg  cggggggggg  ccccgaggag  ccccgaggag  ccccgaggag  1160
gtctctctct  attctctctg  ggtctctctc  gtaactccca  tccccccca  ct  1170

```

<210> 193  
 <211> 1537  
 5 <212> DNA  
 <213> Ovis aries

<220>  
 <223> Hyal2 DNA

10 <400> 193

```

gctctctctca  ctgactctct  gctctctctca  gctctctctca  agggctctctg  ctggggggggg  60
ccacacaccca  cctctctctg  ctgactctctg  ccccccaccc  caacccccca  ccccccaccca  120
tctctctctgg  cggggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  tggggggggg  180
cctccggccca  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  tggggggggg  240
cagggggggg  tggggggggg  cctctctctc  tctctctctg  tggggggggg  tggggggggg  300
cctctctctca  ctgactctctg  cggggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  360
ggtggggggg  gggggggggg  cggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  420
cctccggccca  ctgactctctg  tggggggggg  cggggggggg  gggggggggg  gggggggggg  480
cctccggccca  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  tggggggggg  540
cctccggccca  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  tggggggggg  600
tggggggggg  cctggggggg  gctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  gctctctctc  660
cctccggccca  ctgactctctg  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  720
gctctctctca  tggggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  gctctctctc  gctctctctc  780
cctctctctca  ctgactctctg  ctgggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  840
tggggggggg  tggggggggg  gggggggggg  gggggggggg  gggggggggg  gggggggggg  900
cctccggccca  ctgactctctg  ctgggggggg  ctgggggggg  tggggggggg  tggggggggg  960
cctccggccca  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  1020
cctccggccca  cctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  1080
tggggggggg  cctggggggg  tctctctctc  ctgggggggg  ctgggggggg  ctgggggggg  1140
cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  1200
tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  tggggggggg  1260
cctccggccca  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  1320
cctccggccca  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  1380
cctccggccca  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  1440
cctccggccca  ctgggggggg  ctgggggggg  cctccggccca  cctccggccca  cctccggccca  1500

```

15 <210> 194  
 <211> 1967  
 <212> DNA  
 <213> Ovis aries

<220>  
 20 <223> Hiyalüronidaz DNA

<400> 194



```

aaatggggggg gttgaggggag agaaatgggt ggttctcagttt gtaatttccgtt gaggggggtgt 1200
aaaaagggggt ctggtgggac cgggacccatg agtgggtgac ctadgggggg gtggtctcgg 1260
aaacttcaat ctcaatcgtt gttgggaactg ttttctcgtact ctcccccgg ggtcccaactt 1320
ggggtctggtt gtaggtctctt ctgagggagtt agggggggtgg aatgggtaaa gggggctctg 1380
ggactgact ggggggggac ctggccatga tggctctctc cctctcccg cactctaca 1440
tgttgggtggt cttgggtgggt aggtctctctt aggtcgtctat ctctgctcag cttgggtggg 1500
ccactccgg cgggggggaa ctggccacta actccgctcc tctcctccc cttgggctct 1560
ggggtctggt cttggtctgg ggttctcgtt aggtcgtctat ctcccccgg ggggtctggt 1620
ggggggggtt ttctggggaa ggggggggtt acaacttggg aggggggggt ggggggaa 1680
tgggtactg cgtcccccgt ttgggctctt actccgctcc agtgggctgg cttcccccgg 1740
gggttctgg ggttctcgtt gtttccgtctt gttctcgtctt aggtgggtat aggttctcgg 1800
cttctctggg ggggtctcgg ggggtctcgg ggggtctcgg ggggtctcgg ggggtctcgg 1860
ttttctgggt ttctggggaa gaaatctggg tctctcgggg ggggtctcct ttgggtctcct 1920
ctgggtctct ggggtctcgg gaaatctggg tctctcgggg ggggtctcct ttgggtctcct 1980
ctgggtctct ggggtctcgg gaaatctggg tctctcgggg ggggtctcct ttgggtctcct 2040
cttctctggg ggttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 2100
aaaaaaaaa aaaaaa 2160

```

<210> 196  
 <211> 3275  
 5 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> HAS2

10

```

<400> 196
gtaggtctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 60
agacttcaaa cgggggggac caaagacttt tcccccactt ctccgctccc tggctctctc 120
tgggtctcgtt aggtctctctt ctctctctctt ctctctctctt ttttctcgtt ctcccccgg 180
ctgggtctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 240
aggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 300
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 360
aaatctcgtt ctctctctctt ctctctctctt tgggtctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 420
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 480
aaatctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 540
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 600
tctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 660
ctcaatctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 720
aaatctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 780
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 840
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 900
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 960
caaatctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1020
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1080
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1140
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1200
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1260
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1320
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1380
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1440
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1500
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1560
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1620
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1680
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1740
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1800
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1860
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 1920
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 1980
gggggggggt aaaaatctct ttaattctca agtctcaatt tttctcggaa ttctcggaa 2040
ctctcgtt ctctctctctt ctctctctctt gtttctcgtt gtttctcgtt gtttctcgtt 2100

```

```

gaaaggacaa  aaatatagaaa  aggttgataga  agtatagaaat  taatagtttat  gaagttatgaa  1220
ctcaaccaca  acaacttaagt  tcccttaagg  cctctcaccgt  attctgaccat  caaatatagc  1220
caaaaagppa  gaaatataaac  aggttgataga  aatttgaaata  agaatattat  atgppgtatct  1240
ttcactctctg  caaaagtaaa  caaatccatc  acaagaaga  accctaccgtt  taccctgtta  1240
tttactatgaa  caaggaagaa  attacttatt  taaggaattt  attactaattg  tgaatagaa  1240
tgaagggtgt  ttgactatata  taactcaata  gaatagtttt  atgggggtta  taagggaaga  1250
caaggtatct  agaaatata  ggaatagttt  tttaaacata  taataatata  ctatagppat  1250
gttactgagag  atgataaact  ttactttata  ggaaggattt  tctcttcaac  tttaaaaaat  1260
caaatgaaaa  aggaaggaat  caaggaattt  ggaattgtt  taatttata  taattgaaat  1270
ctgtttttaa  attttgtaag  caaatataaa  agataaattt  tgaataattt  ctatttcaat  1270
tttactgaaa  caaaatagaa  ttacttattt  tttaaaaaat  caaaaggaat  taaaaaattt  1280
attttttaa  aatactgaa  caaatgtgaa  ggttggttga  ctgattttaa  tgaatgaaag  1280
caaaaatatt  caactgaa  ctactgaa  caaatgaaat  attactgaa  cttaaaagaa  1280
taataaaact  tttaataatt  taactttatg  tttaattttt  tttaagaaaa  ggaataaata  1290
caaaatgaa  ttgaagaaga  caaaatgaaa  cttaaggaat  taacttaaaa  caaaatattt  1290
gaaatgaaag  gaaatagga  ghaaatattt  tttaataaga  tttaataaaa  gpppaattgt  1300
agcttttcaa  ggaatcaat  agaatcaat  caactgaaa  caactgaaa  caaaatgaa  1300
atataattg  ggaatagga  ctggttatct  caactgaaa  caactgaaa  taagaatgaa  1300
ttacttatt  caacttggat  caaatcaatt  caattt  caattt  agttgaaata  1300

```

<210> 197

<211> 4220

5 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HAS3 kopya varyanti 1

10

<400> 197

```

gaaaggacaa  gaaggtatggt  taqaatagga  ggaaggaatt  ggggaattga  gaaggaattga  60
caaggaaggt  caaaatgaa  taaggtgaa  ttgaaggaat  attactatag  caaggaattga  120
ggaagggaag  ggggttaaga  ggggaattct  caagatatagt  ggggttaaga  gaaggaattga  180
ctgacttatt  ttgaaggaag  caatgaaatc  ctgactatag  ttgactatag  caaggaattga  240
tactgtgag  gtaactgaatt  caataatag  caaaaagcaat  caatgaaatc  ggggttaaga  300
caaggaattga  ttgaaggaag  caatgaaatc  caaggaattt  ttgactatag  caaggaattga  360
ggaatggaag  ttgactgaaa  ggaatggaag  ctgactatag  ggggttaaga  gaaggaattga  420
ctgactatag  ggaatgaaa  ggaaggaatt  gaaatattgt  ggaatgaaat  gaaggaattga  480
caagatcaat  caactcaatga  caactcaatga  ctcaatcaat  ctcaatcaatga  caactcaatga  540
ggaatgaaa  ctgactatag  ctgactatag  ctgactatag  ggaatgaaa  ggaatgaaa  600
ttcaatcaat  caactcaatc  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  660
caaggaattga  caaggaattga  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  720
ggaaggaag  ggaaggaag  ggttatgaa  caaggaattca  ggaatgaaat  gaatgaaat  780
ggaatgaaa  ggaatgaaa  ctgactatag  ctgactatag  ctgactatag  caaggaattga  840
ttcaatcaat  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  900
caaggaattga  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  960
ctgactcaat  caactcaatc  ctactcaatc  ctactcaatc  ctactcaatc  ctactcaatc  1020
ctgactcaat  caactcaatc  caactcaatc  ctgactcaat  ctgactcaat  ggaatgaaa  1080
caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  1140
tcaagcaat  ggttatgaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  1200
caaggaattga  caaaatgaa  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  1260
tactgtgag  taatgaaat  caactctctg  atgaaatgaa  ggttatgaa  caaggaattga  1320
ttcaatcaat  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  1380
attactatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  1440
ttcaatcaat  caactcaatca  caactcaatc  ctactcaatc  ctactcaatc  caactcaatc  1500
ggaatgaaa  ggaatgaaa  ctgactatag  ctgactatag  caaaatctgg  ctgactatag  1560
caaggaattga  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  caactcaatc  1620
caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  1680
caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  1740
atgactatct  ggttatgaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  ggaatgaaa  1800
caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  caatgaaatc  1860
ggaatgaaa  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  1920
ggaatgaaa  ggaatgaaa  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  1980
caactcaatc  ttcaatcaat  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  caactcaatca  2040

```







Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Leu Glu Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Ser Glu Glu Phe Ser Thr Lys  
 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620  
 Phe Tyr Lys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Arg Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780  
 Le Asn Ala Thr Ser Lys Pro Lys Met Thr Thr Glu Glu Ser Thr Ile  
 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Thr Ile Val  
 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940  
 Ser Ile Leu Phe Val Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu  
 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000

- <210> 200
- <211> 474
- 5 <212> PRT
- <213> Pan troglodyte

- <220>
- 10 <223> olgun şempanze PH20'si XP\_527873

<400> 200  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Phe Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Ser Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Val Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Pro Ile Asn Val  
 35 40 45  
 Thr Gly Glu 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 Asp Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 His Lys Ile Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asp Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110 115  
 His Glu Thr Arg Pro Thr Ser Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 120 125 130 135  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asp Val Glu Leu  
 140 145 150 155  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 160 165 170 175  
 Gly Lys Asn Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Ser Gly Lys Leu Leu Arg  
 180 185 190 195  
 Pro Asn Arg Leu Trp Gly Lys Tyr Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn Arg  
 200 205 210 215  
 His Lys Lys Lys Pro Gly Lys Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 220 225 230 235  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Arg Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 240 245 250 255  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 260 265 270 275  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Glu Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 280 285 290 295  
 Phe Asp Ala Lys Ser Pro Leu Phe Val Phe Val Tyr Thr Arg Ile Val  
 300 305 310 315  
 Phe Thr Asn Glu Val Val Lys Phe Leu Ser Glu Asp Glu Leu Val Tyr  
 320 325 330 335 340

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 299 295  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Tyr Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asp Lys Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 321 331  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Val Leu Cys Glu Ser Glu Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 351 360 365  
 Asp Phe Ala Ile Cys Asn Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 380  
 Lys Pro Arg Leu Glu Arg Leu Glu Glu Phe Ser Glu Lys Pro Tyr Cys  
 381 390 400  
 Ser Lys Tyr Ser Thr Asn Ser Lys Lys Glu Lys Ala Asn Val Lys Asp  
 401 411  
 Ser Asn Ala Val Asp Val Lys Ile Ala Asp Gly Val Lys Ile Asp Ala  
 420 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Phe Glu Glu Ser His Ile Phe Tyr Asn  
 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Arg Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 450 460  
 Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu  
 465 470

<210> 201

<211> 477

5

<212> PRT

<213> Macaca mulatta

<220>

<223> olgun Rhesus maymunu PH20'si EHH17639

10

<400> 201

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Ile Ile Pro Asn Val Pro Ser Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Thr Asn Ala Pro Ser Cys Phe Lys 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 His 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  
 His Lys Val Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ser Lys Glu Asp His  
 85 90 95  
 Leu Phe Lys Met Pro Val Arg Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 His Glu Arg Arg Pro Thr Arg Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Glu Glu Glu Asn Val His Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Asp Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asn Phe Met Leu Glu Phe Ile Lys Leu Gly Arg Ser Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Lys 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 Thr Leu Thr Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Glu Ser Val Val Val Ala Thr

225 230 235 240  
 Met Tyr Val Arg Asn And Val Arg Glu Ala Ile And Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Asn Pro Ser Val Phe Val Tyr Ala Arg Leu Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asn Glu Val Ser Lys Phe Leu Ser And Glu Glu Leu Val Ser  
 275 280 285 290  
 Thr Ser Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Thr  
 295 300 305  
 Gly Ser Leu Ser Ile Thr Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 310 315 320  
 Thr Tyr Met Glu Thr Ile Ser Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Lys Val Leu Cys Glu Glu Glu Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asp Thr Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Asn Ile Arg Ser Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val His Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Val Glu Asn Ser Glu Glu Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395  
 Ser Cys Tyr Thr Asn Ser Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asn Val Lys Asp  
 400 405 410  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 415 420 425  
 Ser Ser Lys Pro Pro Val Glu Thr Glu Gly Ser Pro His Ile Phe Tyr  
 430 435 440  
 Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Ile Thr And Leu  
 445 450 455  
 Gly Val Thr Asp Glu Gly Ile Ser Arg Ile Gly Phe Thr  
 460 465 470

<210> 202

<211> 475

5 <212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<220>

<223> olgun Sinomolgus maymunu PH20'si P38568.1

10

<400> 202

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Phe Ile Ile Pro Asn Val Phe Glu Leu Thr  
 1 5 10  
 Ala Thr Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asn Glu Pro  
 15 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Thr Leu Met Gly Ser Pro Arg Ile Asn Val  
 35 40 45  
 Thr Gly Glu Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Phe Tyr Ile Asp Leu Thr Thr Gly Val Thr Val His Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Ser Lys Val Ser Leu Glu Asp His Leu Asp Lys Ser Lys Glu Asp Ile  
 85 90 95  
 Leu Phe Cys Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Thr  
 100 105 110  
 Ser Glu Thr Arg Pro Thr Thr Ala Arg Asn Thr Lys Phe Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Lys Lys Asn Arg Ser Ile Thr Leu Val Glu Glu Glu Asn Val Glu Leu  
 130 135 140  
 Ser Ser Ser Glu Ala Thr Asp Lys Ala Lys Glu Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155  
 Gly Lys Asp Phe Met Leu Thr Thr Ile Lys Leu Gly Arg Ser Leu Arg  
 160 165 170

Phe Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Phe Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Arg Lys Phe 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 Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Phe Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Glu Cys Ser Val Val Ala Thr  
 225 230 235  
 Met Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 240 245 250  
 Phe Arg Ala Lys Asn Phe Leu Phe Val Phe Val Tyr Ala Arg Leu Val  
 255 260 265 270  
 Phe Thr Asn Glu Val Leu Lys Phe Leu Ser Arg Ser Glu Glu Leu Val Ser  
 275 280 285 290  
 Thr Leu Gly Glu Thr Val Phe Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 295 300 305  
 Gly Ser Leu Ser Ile Thr Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 310 315 320 325  
 Ser Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Thr Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 330 335 340 345  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Lys Val Leu Cys Glu Ser Glu Gly Val Cys  
 350 355 360  
 Ile Arg Lys Asp Trp Asn Ser Ser Asn Tyr Leu His Leu Asp Pro Asp  
 365 370 375 380  
 Asn Phe Asp Ile Arg Ser Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val His Gly  
 385 390 395 400  
 Lys Phe Thr Val Glu Arg Leu Glu Glu Phe Ser Ser Lys Phe Tyr Cys  
 405 410 415 420  
 Ser Cys Tyr Thr Asn Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 425 430 435 440  
 Thr Arg Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 445 450 455 460  
 Ser Leu Lys Phe Phe Val Ser Thr Thr Glu Gly Ser Phe Phe Ile Phe Tyr  
 465 470 475 480  
 Asn Thr Ser Ser Ser Thr Val Ser Thr Thr Met Phe Ile Val Asn Ile  
 485 490 495 500  
 Met Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu  
 505 510 515

<210> 203  
 <211> 518  
 5 <212> PRT  
 <213> Bos taurus  
  
 <220>  
 <223> Olgun inek PH20'si

10

<400> 203  
 Leu Arg Phe Arg Ala Phe Phe Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp  
 1 5 10  
 Ala His Asn Ala Pro Val Thr Arg Cys Val Asn Arg Arg Phe Ser  
 15 20 25 30  
 Phe Phe Asn Leu Arg Met Phe Ser Val Lys Gly Ser Phe Glu Lys Ser  
 35 40 45  
 Ala Thr Gly Glu Phe Ile Thr Leu Phe Tyr Ala Arg Arg Leu Gly Tyr  
 50 55 60  
 Tyr Phe His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Lys Thr Val Phe Gly Gly Ile  
 65 70 75 80  
 Phe Glu Leu Gly Asn Ser Lys Ser His Met Glu Lys Ala Lys Asn Asp  
 85 90 95  
 Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Ser Ala Val Ile Asp  
 100 105 110  
 Trp Glu Asn Trp Arg Phe Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp

```

114          119          124
Val Tyr Arg Asp G L Ser Val Glu Leu Vs Leu G L Ivs Ash Pro G L
130          135          140
Leu Ser Phe Pro G L Ala Ser Lys Ile Ala Ivs Val Asp Phe Glu Thr
145          150          155
Asp Gly Lys Ser Phe Met Ser Glu Thr Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu
160          165          170
Arg Pro Ash His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asp
180          185          190
His Ash His Asp G L Pro Thr Tyr Asp Gly Asp Cys Pro Asp Val G L
195          200          205
Lys Arg Arg Asp Asp Asp Leu Glu Trp Leu Trp Lys Ser Ser Thr Ala
210          215          220
Leu Phe Pro Ser Va Tyr Leu Ash Ile Arg Leu Lys Ser Thr Glu Asp
225          230          235
Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asp Arg Val Glu Glu Ala Leu Arg Leu Ser
240          245          250
Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Phe Leu Phe Val Phe Val Tyr Ala Arg
260          265          270
Pro Vs Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Glu Gly Asp Leu
280          285          290
Val Ash Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile
295          300          305
Met Trp Gly Ser Leu Asp Leu Ser Leu Ser Met Glu Ser Cys Met Asp
310          315          320
Leu Gly Thr Tyr Leu Asp Thr Thr Leu Asp Pro Tyr Leu Ile Asp Va
325          330          335
Leu Leu Ala Ala Lys Met His Ser Glu Val Leu Cys His Asp Glu Gly
340          345          350
Val Lys Thr Arg Lys His Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asp
355          360          365
Pro Met Asp Phe Ala Ile His Thr Gly Glu Gly Gly Lys Tyr Thr Val
370          375          380
Pro Gly Thr Val Thr Leu His Asp Leu His Lys Phe Ser Asp Thr Thr
385          390          395
VH Lys Ser Cys Tyr Ala Asp Le His Cys Lys Lys Asp Val Asp Ile
400          405          410
Lys Asp Val His Ser Val Asp Val His Met Ala Glu Asp Ile Lys Ile
415          420          425
Asp Ser Leu Val Lys Leu His Leu Ser Ser Asp His Ser Ser Ser Glu Glu
430          435          440
Ala Ser Thr Thr Thr Phe Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr Thr Thr Ala
445          450          455
Leu Val Ser Thr Lys Thr Pro Glu Lys His Ser Pro His Lys Leu Lys
460          465          470
Val Arg Lys Ser His Val Leu Leu Asp Val Thr Glu Lys Ala Lys Glu
475          480          485
Ser Vs Lys Leu Lys Asp Thr Ser Tyr Glu Ser Pro Thr Glu Asp Ile
490          495          500
Lys Asp Glu Thr Thr Tyr
505

```

- <210> 204
- <211> 439
- 5 <212> PRT
- <213> Bos taurus
  
- <220>
- <223> olgun inek PH20'si AAP55713
  
- 10 <400> 204

```

Leu Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asp Thr Ser Thr Leu Trp
1          5          10          15

```

Ala Trp Asp Ala Pro Val Ser Arg Cys Val Asn Arg Arg Phe Gln Leu  
 70  
 Phe Phe Asp Leu Arg Leu Phe Ser Val Lys Gly Ser Phe Gln Lys Ser  
 75  
 Ala Thr Gly Gln Phe Leu Thr Leu Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr  
 80  
 Tyr Pro His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Lys Thr Val Phe Gly Gly Leu  
 85  
 Pro Gln Leu Gly Asp Leu Lys Ser His Leu Glu Lys Ala Lys Asp Asp  
 90  
 Phe His Tyr Tyr Leu Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp  
 95  
 Arg Gln Asn Trp Arg Pro Ser Thr Ala Arg Asn Arg Lys Leu Lys Asp  
 100  
 Val Tyr Arg Asp His Ser Val His Thr Leu Val Ser Gln Lys Asn Thr Gln  
 105  
 Leu Ser Phe Thr His Ala Ser Lys His Ala Lys Val Asp Phe His Thr  
 110  
 Ala Gly Lys Ser Phe Met His Gln Ser Leu Lys Leu Gly Lys Leu Leu  
 115  
 Arg Pro Asn His Leu Arg Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn  
 120  
 His Asn His Asn Gln Pro His Tyr Asn Gly Asn Cys Pro Asp Val Gln  
 125  
 Lys Arg Arg Asn Asp Asp Leu Gln Trp Leu Trp Lys Ser Ser Thr Ala  
 130  
 Leu Phe Phe Ser Val Tyr Leu Asp Asn Ile Arg Leu Lys Ser Thr Gln Asn  
 135  
 Ala His Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Phe Arg Leu Ser  
 140  
 Lys Ile Ala Ser Val Gln Ser Pro Leu Thr Val Phe Val Tyr Ala Arg  
 145  
 Pro Val Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser His Gly Asp Leu  
 150  
 Val Asn Ser Val Gly Gln Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser Gly His His  
 155  
 Met Arg Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Val Gln Ser Cys Met Asn  
 160  
 Leu Gly Ser Tyr Leu Asn His Thr Leu Asn Pro Tyr Leu His Asn Val  
 165  
 Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asp Gly Gly  
 170  
 Val Lys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn  
 175  
 Phe Met Asn Phe Ala Leu Ser Thr Gly Gln Gly Gly Lys Tyr Thr Val  
 180  
 Phe Gly Thr Leu Thr Leu Ser Asp Leu Gln Lys Phe Ser Asp Thr Phe  
 185  
 Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Asn Leu Ser Cys Tyr Lys Arg Val Asp Ile  
 190  
 Lys Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp Val Cys Ile  
 195  
 Asn His Thr Leu Tyr Pro Pro  
 200

- <210> 205
- <211> 477
- 5 <212> PRT
- <213> Mus musculus
  
- <220>
- <223> Olgun fare PH20'si NP\_001073344.1
- 10 <400> 205

Val Asp Tyr Arg Ala Ala Phe Ile Leu Ser Asn Thr Thr Phe Leu Trp  
 1  
 Ile Trp Asn Val Phe Thr Ser Arg Cys Val Gly Asn Val Asn Asp Phe  
 20  
 Ile Asp Leu Ser Phe Phe Ser Leu Ile Gly Ser Phe Arg Lys Thr Ala  
 35  
 Thr Gly Gln Phe Val Thr Leu Ser Tyr Val Asp Arg Leu Gly Leu Tyr  
 50  
 Phe His Ile Asp Ala Asn Ser Ala Gln His Tyr Gly Gly Ile Phe Gln  
 65  
 Arg Gly Asp Tyr Cln Ala His Leu Arg Lys Ala Lys Thr Asp Ile Cln  
 80  
 His Tyr Ile Phe Asp Arg Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile Asp Trp Gln  
 95  
 Ser Trp Arg Phe Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Asn Tyr  
 110  
 Arg Asn Lys Ser Ile Gln Leu Val Gln Ser Thr Asn Ser Gly Leu Ser  
 125  
 Ile Thr Gln Ala Thr Gln Lys Ala Ile Gln Gln Phe Gly Gln Ala Gly  
 140  
 Arg Lys Phe Met Cln Gly Ala Leu His Leu Cln Gly Lys Phe Leu Asp Phe  
 155  
 Asn Gln Leu Trp Gly Tyr Lys Leu Phe Pro Asp Lys Tyr Asn Asn Lys  
 170  
 Phe Gln Asp Trp Lys Tyr Asp Gly Gln Lys Pro Ala Val Gln Lys Lys  
 185  
 Arg Asn Asn Asn Phe Lys Thr Leu Thr Lys Ala Ser Thr Gly Phe Tyr  
 200  
 Phe Ser Val Tyr Phe Lys Lys Asn Phe Lys Ser Asn Arg Gln Ala Thr  
 215  
 Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Val Gln Ala Ile Arg Val Ser Lys Val  
 230  
 Gly Asn Ala Ser Asp Pro Val Thr Ile Phe Val Tyr Ile Arg Phe Val  
 245  
 Phe Thr Asn Arg Thr Ser Gln Tyr Leu Phe Phe Gln Asp Asn Leu Val Asn  
 260  
 Thr Ile Gly Gln Phe Val Phe Leu Gly Thr Ser Gly Ile Ile Ile Trp  
 275  
 Asn Ala Met Ser Phe Ala Gln Arg Ala Ala Gly Lys Pro Ile Phe His  
 290  
 Lys Tyr Met Gln Thr Thr Leu Asn Phe Tyr Ile Val Asn Val Thr Leu  
 305  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Thr Leu Cys Asn Gln Lys Gly Met Cys  
 320  
 Ser Arg Arg Lys Gln Ser Ser Asp Val Tyr Phe His Leu Asn Pro Ser  
 335  
 His Phe Asp Ile Met Leu Thr Gln Thr Gly Lys Tyr Gly Val Leu Gly  
 350  
 Asn Phe Arg Val Gly Arg Leu Gln Tyr Phe Ser Gln His Phe Lys Cys  
 365  
 Ser Lys Phe Ser Arg Met Thr Lys Lys Gln Thr Ser Asn Val Lys Asn  
 380  
 Val Gln Asp Val Asn Val Lys Val Gly Asp Asn Val Lys Ile Lys Ala  
 395  
 Lys Val Thr Ser Asn Pro Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Lys Ser Leu  
 410  
 Leu Phe Met Thr Thr Ser Asn Gly His Val Leu Tyr His Leu Thr Gln Asp  
 425  
 Ile Phe Val Phe Pro Arg Lys Thr Leu Val Ser Thr Ser  
 440

<210> 206

<211> 477

5 <212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<220>

<223> Olgun siçan PH20'si NP\_446419.1



<400> 206

```

Val Asp Tyr Arg Ala Thr Pro Val Leu Ser Asp Thr Thr Phe Val Trp
1
Val Trp Asp Val Pro Thr Ser Ala Cys Val Glu Asn Val Thr Glu Pro
20
Phe Asp Leu Ser Phe Phe Ser Leu Ile Gly Ser Pro Arg Lys Thr Ala
35
Ile Gly Glu Phe Val Thr Leu Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Asn Tyr
50
Pro His Ile Asp Ala Glu Glu Ser Thr Glu His His Gly Gly Ile Phe Glu
65
Lys Gly Asp Leu Thr Thr His Leu Val Lys Ala Lys Glu Asp Val Glu
80
Arg Tyr Ile Pro Thr Asp Lys Leu Gly Leu Ala Ile Ile Asp Trp Glu
95
Ser Trp Arg Pro Thr Trp Met Arg Asn Trp Thr Pro Lys Asp Ile Tyr
110
Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Glu Ala Ala Asp Pro Ala Ile Asn
125
Ile Thr Glu Ala Thr Val Arg Ala Lys Ala Glu Phe Ser Gly Ala Ala
140
Lys Glu Phe Met Glu Gly Thr Leu Lys Leu Gly Lys His Ile Arg Phe
155
Lys His Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn Asn Lys
170
Phe Glu Val Asp Asn Tyr Asp Gly Glu Cys Pro Asp Val Glu Lys Lys
185
Arg Asn Asp Asp Leu Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser Thr Gly Leu Tyr
200
Pro Ser Val Tyr Leu Lys Lys Asp Leu Lys Ser Ser Arg Lys Ala Thr
215
Leu Tyr Val Arg Tyr Arg Val Leu Glu Ser Ile Arg Val Ser Lys Val
230
Ser Asp Glu Ser Asn Pro Val Phe Ile Phe Val Tyr Ile Arg Leu Val
245
Phe Thr Asp His Val Ser Ser Tyr Leu Leu Glu Asp Asp Leu Val Asn
260
Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Glu Gly Thr Ser Gly Ile Ile Ile Trp
275
Arg Ala Met Ser Leu Ala Ser Arg Ser Ala Gly Cys Pro Ile Leu Arg
290
Ser Tyr Met Lys Thr Thr Leu Asn Phe Tyr Leu Val Asn Val Thr Leu
305
Ala Ala Lys Met Cys Ser Ser Thr Leu Cys Lys Glu Lys Gly Met Cys
320
Ser Arg Lys Thr Ile Ser Ser Asp Ala Tyr Leu His Leu Asp Ser Ser
335
Ser Phe Ser Ile Asn Val Thr Glu Ala Gly Lys Tyr Ser Val Leu Gly
350
Lys Phe Glu Val Lys Asp Leu Glu Tyr Phe Ser Glu His Phe Lys Cys
365
Ser Lys Phe Ser Lys Met Ala Cys Glu Glu Thr Ser Asp Met Arg Ser
380
Ile Glu Asp Val Asn Val Lys Met Gly Asp Asn Val Lys Ile Lys Ala
395
Thr Leu Gly Phe Asn Ser Ala Phe His Leu Leu Pro Gly Lys Gly Leu
410
Leu Leu Met Thr Thr Leu Ala His Ile Leu His His Leu Phe His Asp
425
Ile Phe Val Phe Ser Trp Lys Met Leu Val Ser Thr Pro
440
465

```

5

<210> 207

<211> 510

<212> PRT

<213> Oryctolagus cuniculus

10

<220>

<223> Olgun tavşan PH20'si NP\_001076141.1

<400> 207

Ala Asn Phe Arg Ala Pro Phe Val Ile Pro Asn Val Phe Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Thr Ser Phe Cys Leu Gly Lys Ser Gly Glu Phe  
 20 25 30  
 Leu Asn Met Ser Ile Phe Ser Leu Phe Gly Ser Pro Arg Lys Asn Lys  
 35 40 45  
 Thr Gly Glu Gly Ile Thr Phe Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Phe Tyr Ile Asp Pro His Thr Gly Ala Ile Val His Gly Arg Ile Phe  
 65 70 75 80  
 Glu Leu Gly Pro Ile Glu Glu Phe Leu Thr Tyr Leu Arg Glu Glu Ile  
 85 90 95  
 Leu Tyr Tyr Met Pro Lys Asp Asn Val Gly Ile Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Leu Pro Thr Trp Leu Arg Asn Trp Lys Phe Lys Asp Ile  
 115 120 125  
 Tyr Arg Ile Lys Ser Ile Glu Leu Val Tyr Ser Glu His Pro Glu Tyr  
 130 135 140  
 Asn His Ser Tyr Ala Thr Glu Lys Ala Tyr Arg Asp Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Met Glu Ser 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 Thr 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 Asp Arg Val His Glu Ala Ile Arg  
 245 250 255  
 Val Ser Lys Ile Pro Asp Asn Lys Ser Pro Ile Pro Asn Phe Val Tyr  
 260 265 270  
 Thr Arg Leu Val Phe Thr Asp Glu Ile Phe Glu Phe Leu Ser His His  
 275 280 285  
 Asn Leu Val Tyr Thr Ile Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly  
 290 295 300  
 Ile Val Val Thr Gly Ser Glu 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 Asp Glu Val Leu Cys Glu Glu  
 340 345 350  
 Glu Gly Val Cys Thr Arg Lys Asn Thr Asn Pro Asn Asp Tyr Leu Phe  
 355 360 365  
 Leu Asn Lys Gly Asn Phe Ala Ile Glu Leu Gly Ser Asn Gly Thr Tyr  
 370 375 380  
 Lys Val Asp Gly Lys Pro Thr Leu Thr Asp Leu Glu Glu Phe Ser Cys  
 385 390 395 400  
 Asp Phe Thr Cys Ser Cys Lys Thr Asn Leu Asn Lys Lys Glu Asp Thr  
 405 410 415  
 Asp Met Asn Asn Val Arg Ser Val Asn Val Lys Ala Val Glu Asp Val  
 420 425 430  
 Lys Ile Asp Thr Asn Val Gly Ser Glu Ala Val Ser Tyr Ala Thr Lys  
 435 440 445  
 Thr 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 Thr Pro Arg Lys His Val Ser Gly  
 465 470 475 480  
 Lys Leu Leu Val Ser Cys Met Tyr Ser Thr Lys Leu Asn Ile Cys Tyr  
 485 490 495  
 Arg Leu Val Ala Ile Gly Ile Glu His Gly Tyr Tyr Leu Lys  
 500 505 510

5

<210> 208  
 <211> 494  
 <212> PRT  
 5 <213> Cavia porcellus

<220>  
 <223> olgun gine domuzu PH20'si NP\_001166492.1

10 <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 Glu 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 Glu 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 Glu  
 65 70 75 80  
 Leu Met Asn Leu Glu Glu His Leu Arg Lys Ser Arg Glu Asp Ile Leu  
 85 90 95  
 Phe Tyr Met Pro Thr Arg Ser Val Gly Leu Ala Val Ile Asp Trp Glu  
 100 105 110  
 Thr Arg Arg Pro Thr Arg Ile Arg Asn Trp Arg Pro Lys Asp Ile Tyr  
 115 120 125  
 Arg Asn Lys Ser Ile Glu Leu Val Lys Ser Glu His Pro Glu 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 Ile Leu Lys Leu Gly Lys Ser Leu Asp Pro  
 165 170 175  
 Ser Ser Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Tyr Tyr Asn Thr His  
 180 185 190  
 Phe Thr Lys Pro Ser Tyr Asn Gly His Cys Pro Pro Ile Glu Leu Cys  
 195 200 205  
 Arg Asn Asn Asp Phe Glu Thr Leu Trp Asn Asn Ser Thr Ala Phe Tyr  
 210 215 220  
 Pro Ser Val Tyr Phe Thr Ser Arg Val Arg Ser Ser Glu 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 Ser Ile Tyr Val Tyr Ile Arg Leu Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Glu Thr Thr Thr Phe Leu Glu Leu Asp Asn Leu Val His  
 275 280 285  
 Ser Val Gly Glu Thr Val Pro Leu Gly Val Ser Gly Ile Ile Ile Trp

```

      200          235          300
    105 Ser Leu Ser Ser Ile Thr Arg Ser Leu Va Ser Lys Ile Gly Ser Glu
    115 Asn Tyr Met Lys Gly Thr Leu Leu Pro Tyr Leu Ile Asn Val Thr Leu
    125 Ala Ala Lys Met Cys Gly Ser Val Leu Cys Lys Asn Gln Gly Ile Cys
    135 Thr Arg Lys Asp Trp Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His Leu Asn Ala Thr
    145 Asn Phe Asp Ile Gln Ser Gln Gln Asn Gly Lys Phe Val Val His Gly
    155 Lys Phe Ser Leu Gln Asp Ser Gln Gln Gln Phe Ser Lys Asn Phe His Cys
    165 Ser Cys Tyr Thr Asn Val Ala Cys Lys Asp Arg Ser Asn Val His Asn
    175 Val Arg Ser Val Asn Val Lys Thr Ala Asn Asn Le Lys Ile Asp Ala
    185 Val Leu Asn Phe Pro Ser Leu Asp Asp Asp Asn Gln His Pro Ile Thr
    195 Asn Asn Thr Ser Gln Asp Gln Asp Ser Ile Ser Asp Ile Thr Ser Ser
    205 Ala Pro Val Ser Ser His Ile Leu Pro Lys Asn Leu Ser Thr Cys Leu
    215 Phe Leu Leu Ser Ile Phe Ser Gln His Trp Lys Tyr Leu Leu
      225          255          320
  
```

- <210> 209
- <211> 540
- 5 <212> PRT
- <213> Vulpes vulpes

- <220>
- <223> Prekürsör Kızıl Tilki PH20'si

10

```

<400> 209
Met Gly Val Leu Arg Phe Ser Asn Ile Phe Phe Arg Ser Phe Leu Gly
1 5 10
Ser Ser Gly Thr Thr Gln Ala Val Phe Ile Phe Leu Ser Ile Pro Arg
15 20
Lys Leu Thr Gln Gln Phe Arg Ala Ser Pro Phe Ile Pro Asn Val Ser
25 30 35 40 45
Phe Leu Thr Gly Trp Asn Ala Pro Thr Gln Leu Cys Ala Lys Arg Phe
45 50 55 60
Asn Val Gln Leu Asp Ser Asn Leu Phe Ser Ser Ile Gly Ser Ser Leu
65 70 75 80
Lys Thr Val Val Gly Gln Gly Ile Ala Ile Phe Tyr Ala Asn 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 Thr Gln Ser Gly Ser Leu Lys Lys His Leu Asp Lys Ala Lys
115 120
Lys Asn Ile Ser His Tyr Le Gln Thr Asp Ser Met Gly Leu Ala Val
125 130 135 140
Ile Asp Thr Asn Ser Trp Arg Pro Asp Thr Ala Arg Asn Thr Arg Ile
145 150 155 160
Lys His Ile Tyr Lys Gln His Ser Ile Asp Ser Ala Gln Gln His His
165 170 175
Ile His Leu Asn Ser Thr Gln Val Phe Gln Ile Ala Gln Ala Asp Thr
180 185 190
Gln Lys Ala Ala Arg Cys Phe Ser Gln Gln Thr Ser Lys Leu Gly Lys
195 200 205
Phe Leu Arg Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Phe Tyr Leu Tyr Ser Asp Cys
210 215 220
  
```

Tyr Asn Tyr Asn Tyr Lys Asn Phe Asn Tyr Asn Gly Ser Cys Tyr Asp  
 225 231 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300  
 Ile Glu Glu Arg Arg Asn Asp Glu Ile Asp Trp Leu Trp Lys Glu Ser  
 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380  
 Thr Ala Leu Phe Phe Ser Ile Tyr Leu Lys Ser Lys Leu Lys Ser Ser  
 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460  
 Phe Phe Thr Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Leu Glu Ala Ile Arg  
 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540  
 Val Ser Lys Val Lys Asp Ile Lys His Phe Leu Phe Ile Phe Val Tyr  
 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620  
 Ala Arg Phe Val Phe Thr Asp Val Leu Leu Thr Tyr Leu Thr Glu Asp  
 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700  
 Arg Leu Val Asn Thr Ile Gly Glu Ser Val Ser Leu Gly Val Ser Gly  
 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780  
 Ile Val Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Thr Glu Asn Val Glu Ile Cys  
 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860  
 Thr Glu Leu Asp Thr Tyr Ile Lys Asn Lys Leu Asn Phe Tyr Ile Ile  
 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940  
 Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Asp  
 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020  
 Glu Gly Val Cys Ile Arg Lys His Trp Asn Ser Asn Arg Tyr Leu His  
 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100  
 Leu Asn Phe Val Asn Phe Ala Ile Glu Leu Glu Arg Ser Gly Arg Tyr  
 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180  
 Thr Val Glu Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Ala Phe Ser Lys  
 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260  
 Lys Phe Tyr Cys Ala Cys Tyr Ala Asn Thr His Cys Arg Glu Arg Val  
 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340  
 Asn Met Thr Asp Ile His Thr Ile Lys Val Cys Val Gly Glu Asp Val  
 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420  
 Cys Ile Asn Val Tyr Leu Asn Leu Val Thr Ser Gly His Leu Thr Val  
 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500  
 Trp Lys Gly Lys Tyr Val Thr Ser Ser Asn Ile Phe Ser Val Met Thr  
 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580  
 Phe Ala Thr Gly Phe Phe Cys Val Ser Gly Arg Arg Leu Asn Arg Cys  
 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660  
 Leu Lys Ala Arg Phe Ile Val Glu Asp Asn Ser Lys Thr Thr Glu Thr  
 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740  
 Gly Tyr Glu Ser Ile Tyr Ile Lys Asn Lys Lys Glu  
 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820

<210> 210  
 <211> 505  
 5 <212> PRT  
 <213> Vulpes vulpes

<220>  
 <223> Olgun Kızıl Tilki PH20'si Q29152

10 <400> 210  
 Glu Glu Phe Arg Ala Phe Phe Phe Ile Phe Asn Val Ser Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Gly Trp Asn Ala Phe Thr Glu Leu Cys Ala Lys Arg Phe Asn Val Glu  
 20 25 30  
 Leu Asp Leu Asn Leu Phe Ser Leu Ile Gly Ser Phe Leu Lys Thr Val  
 35 40 45  
 Val Gly Glu Gly Ile Ala Ile Phe Tyr Ala Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Phe His Ile Asn Lys Ile Thr Gly Lys Ser Val Asn Gly Gly Ile Phe  
 65 70 75 80  
 Glu 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  
 130 135 140 145 146 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200  
 Asp Ser Trp Arg Pro Asn Trp Ala Arg Asn Trp Arg Pro Lys His Ile  
 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280  
 Tyr Lys His Glu Ser Leu Asp Leu Ala Glu Cys Cys His Ile His Leu  
 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360  
 Asn Leu Thr Glu Val Thr Ser Ile Ala Glu Ala Asp Phe Glu Lys Ala  
 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440  
 Ala Arg Lys Phe Met Glu Ser Thr Leu Lys Leu Gly Lys Phe Leu Arg  
 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520  
 Pro Asn Tyr Leu Trp Gly Phe Tyr Leu Tyr Pro Asp Tyr Tyr Asn Tyr  
 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600  
 Asn Tyr Lys Asn Pro Asn Tyr Asn Gly Ser Cys Tyr Asp Ile Glu Glu  
 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680  
 Arg Arg Asn Asp Glu Ile Asp Trp Leu Trp Tyr Glu Ser Thr Ala Leu  
 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760  
 Phe Pro Ser Ile Tyr Leu Lys Ser Lys Leu Lys Ser Ser Pro Phe Thr  
 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840  
 Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Leu Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys  
 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920  
 Val Lys Asp Ile Lys His Pro Leu Arg Ile Phe Val Tyr Ala Arg Pro  
 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000  
 Val Phe Thr Asp Val Leu Leu Thr Tyr Leu Thr Glu Asp Asn Leu Val  
 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080  
 Asn Thr Ile Gly Glu Ser Val Ser Leu Gly Val Ser Gly Ile Val Met  
 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160  
 Trp Gly Ser Leu Asn Leu Thr Glu Asn Val Glu Ile Cys Thr Glu Leu  
 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240  
 Asp Thr Tyr Ile Lys Asn Lys Leu Asn Phe Tyr Ile Ile Asn Val Thr  
 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320  
 Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Glu Val Leu Cys Glu Asp Glu Gly Val  
 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400  
 Lys Ile Arg Lys His Trp Asn Ser Asn Asp Tyr Leu His Leu Asn Phe  
 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480  
 Val Asn Phe Ala Ile Glu Leu Leu Glu Arg Ser Gly Arg Tyr Thr Val Glu  
 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560  
 Gly Lys Phe Thr Leu Glu Asp Leu Glu Glu Phe Ser Lys Lys Phe Tyr  
 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640  
 Tyr Ala Lys Tyr Ala Asn Thr His Cys Arg Glu Arg Val Asp Met Thr  
 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720  
 Asp Ile His Thr Ile Lys Val Cys Val Gly Glu Asp Val Cys Ile Asp  
 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800  
 Val Tyr Leu Asp Leu Val Phe Ser Gly His Leu Pro Val Thr Lys Gly  
 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880  
 Lys Tyr Val Thr Ser Ser Asn Ile Phe Ser Val Met Phe Phe Ala Thr  
 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960  
 Gly Phe Phe Cys Val Pro Gly Arg Asp Leu Asn Arg Tyr Leu Lys Ala  
 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040  
 Arg Phe Ile Val Glu Asp Asn Ser Lys Thr Thr Glu Thr Gly Tyr Glu  
 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120  
 Ser Ile Tyr Ile Lys Asn Lys Lys Glu  
 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200

- <210> 211
- <211> 585
- 5 <212> PRT
- <213> Yapay dizi
  
- <220>
- <223> İnsan Serum Albümini (aa 25-609)
  
- 10 <400> 211
- Asn Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asn Leu Gly Cys



Leu Lys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Glu Leu Lys Lys Glu Thr Ala  
 115 120  
 Ser Val Glu Leu Val Lys His Lys Thr Lys Ala Thr Lys Glu Glu Leu  
 130 140  
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Ser Lys Cys Cys Lys  
 150 160  
 Ala Asp Asn Lys Lys Thr Lys Phe Ala Glu Lys Gly Lys Lys Ser Val  
 170 180  
 Ala Ala Ser Glu Ala Ala Leu Gly Leu  
 190 200

<210> 212  
 <211> 1662  
 5 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> HAS3 varyantı 1 cDNA

10

<400> 212  
 atgacagagcgc agcctgagagcc agcctctggcgt gtcgtctgggga ccagcctcgtc tgcctctgggga 60  
 ctgctcagctg ccatcctctcgc agcctctcctg agccagctacc agcttcctcga caccagaaagc 120  
 cctcctccctgc cctcctcggcctc gctcctcggcctc ctctctcggcctc tctcctcggcctc cctcctcggcctc 180  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 240  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 300  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 360  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 420  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 480  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 540  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 600  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 660  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 720  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 780  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 840  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 900  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 960  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1020  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1080  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1140  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1200  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1260  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1320  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1380  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1440  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1500  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1560  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1620  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 1680

<210> 213  
 15 <211> 10836  
 <212> DNA  
 <213> Yapay dizi

<220>  
 20 <223> pLV-EFla-hHAS3-IRES-Hyg vektörü

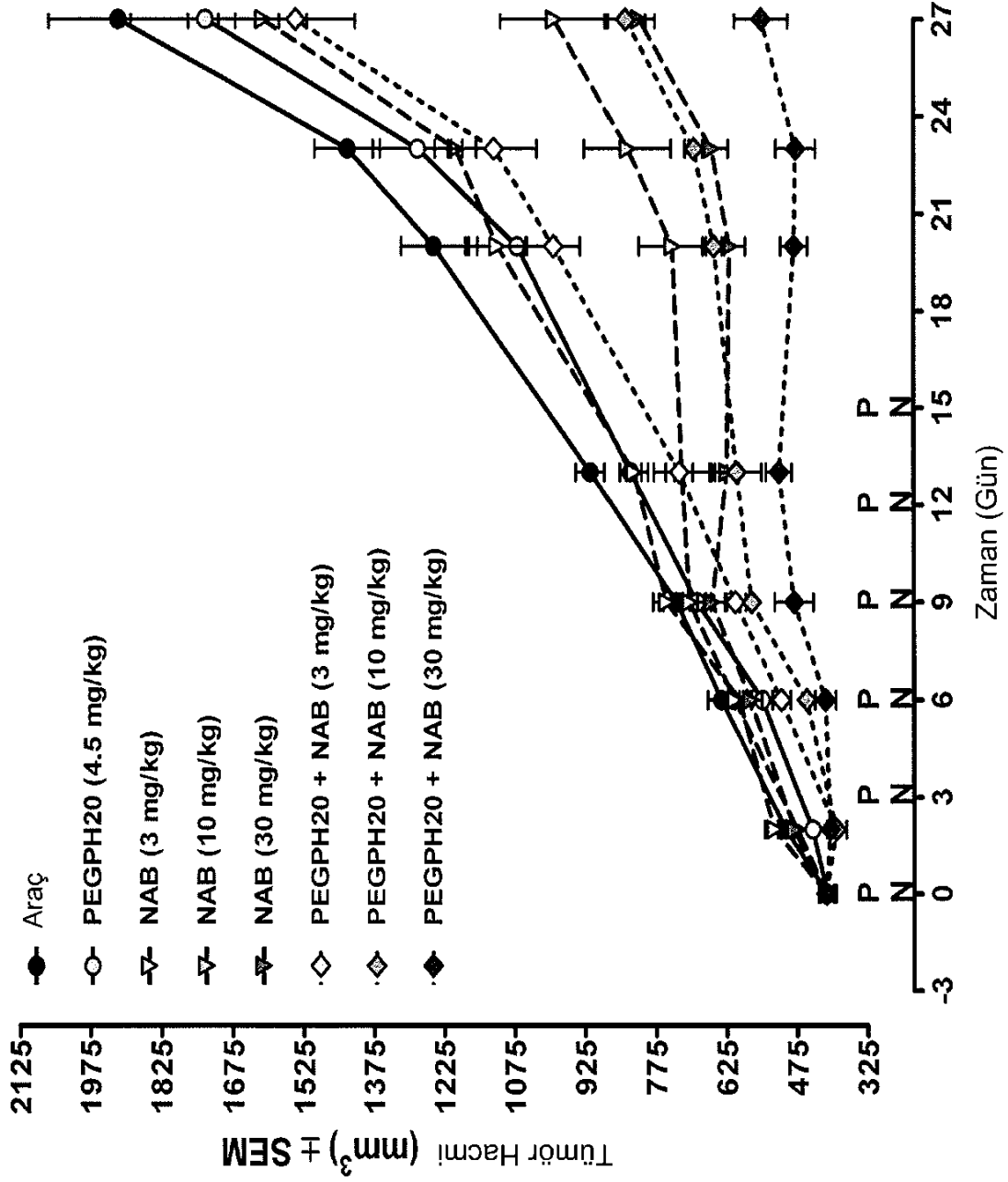
<400> 213  
 agcctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 60  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 120  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 180  
 ctgctcagctg cctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc gctcctcggcctc 240



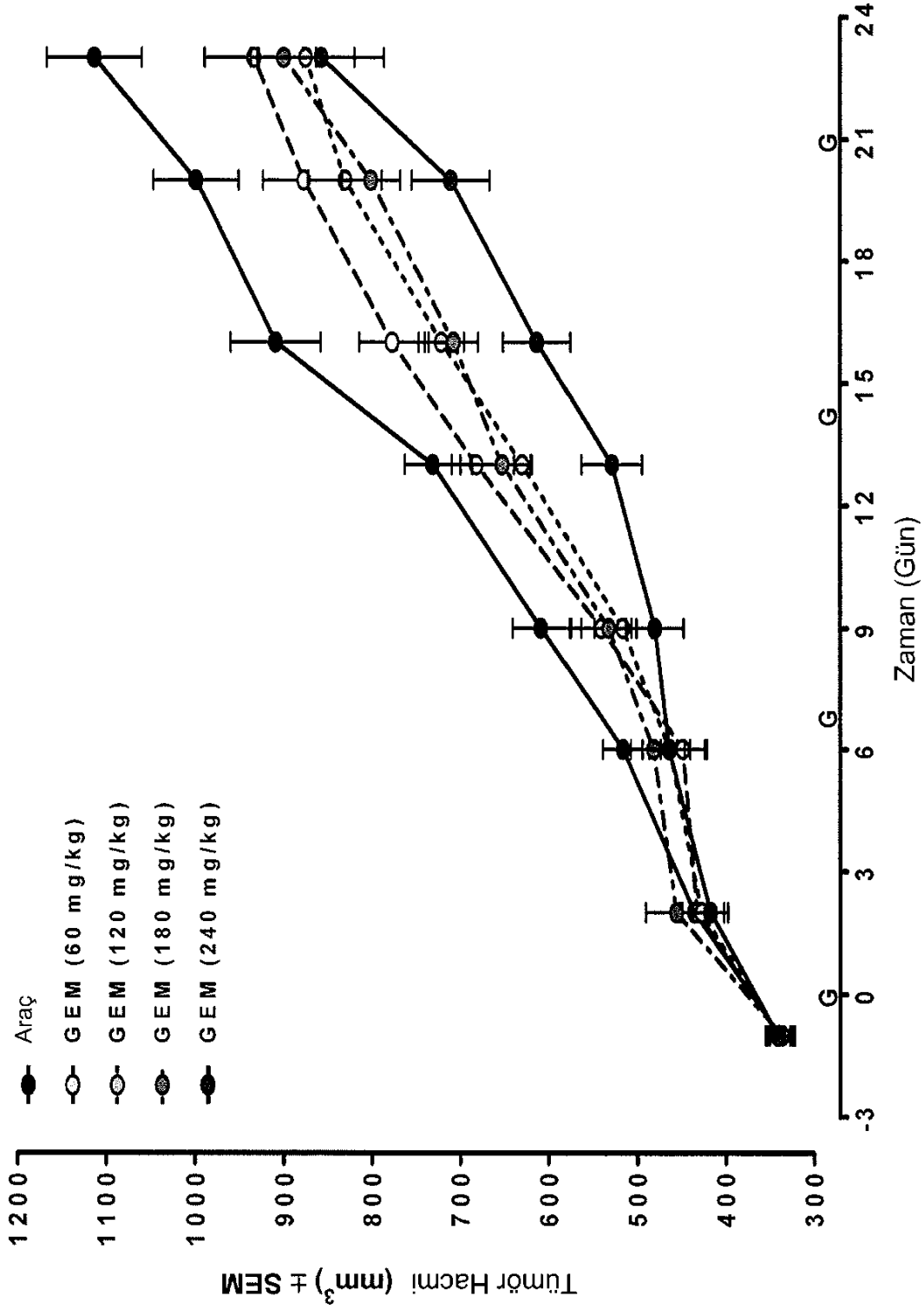




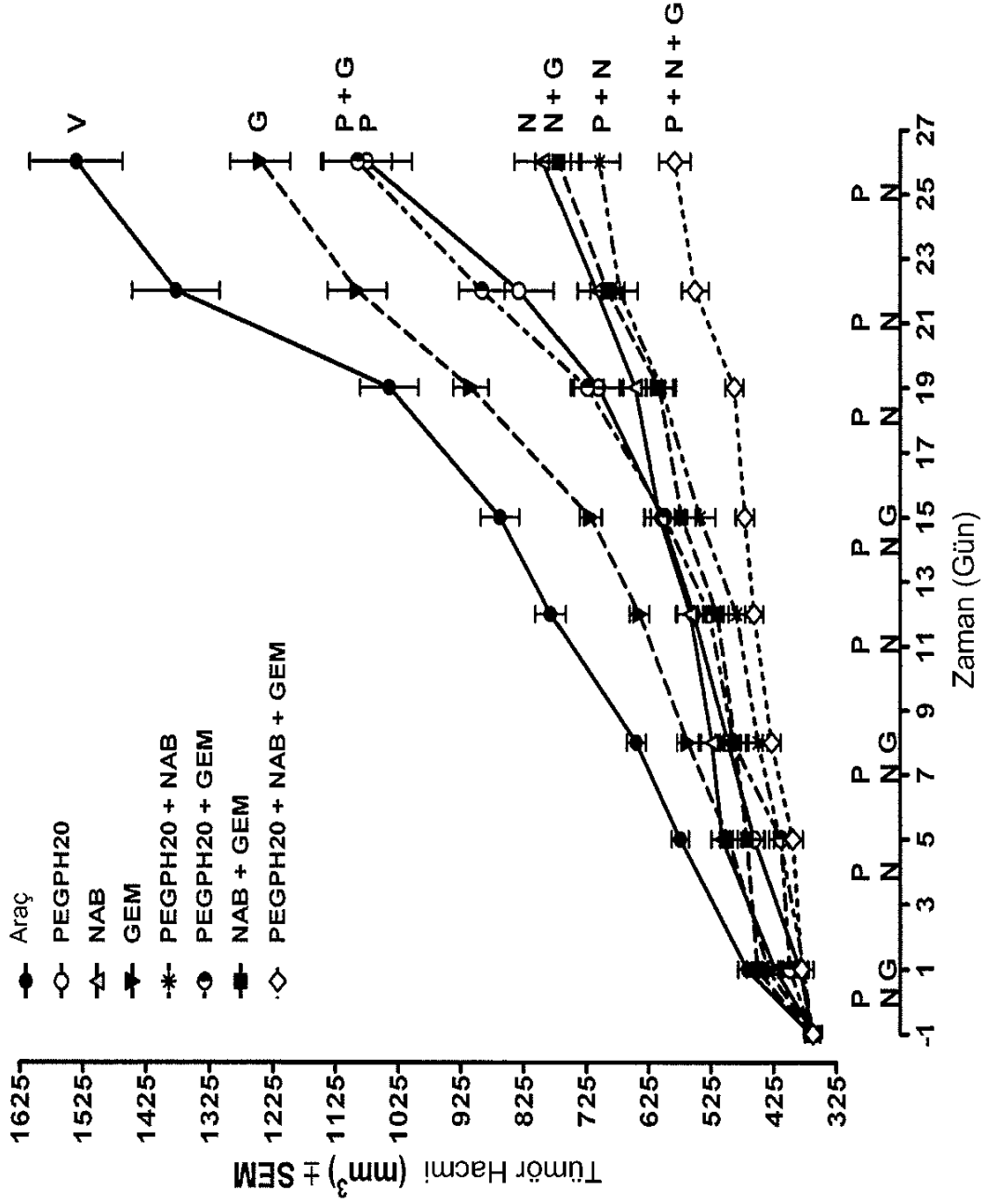




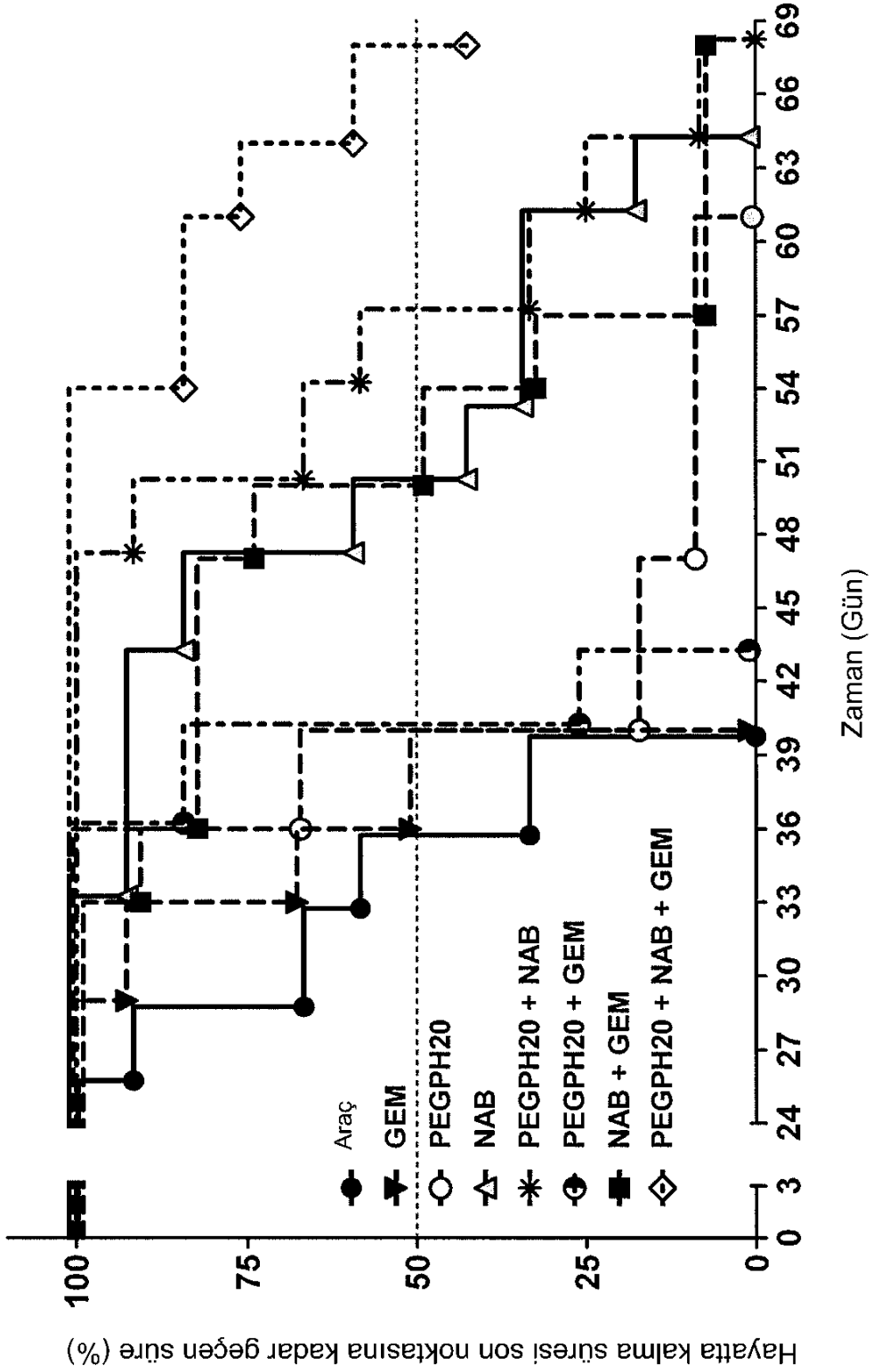
ŞEKİL 1



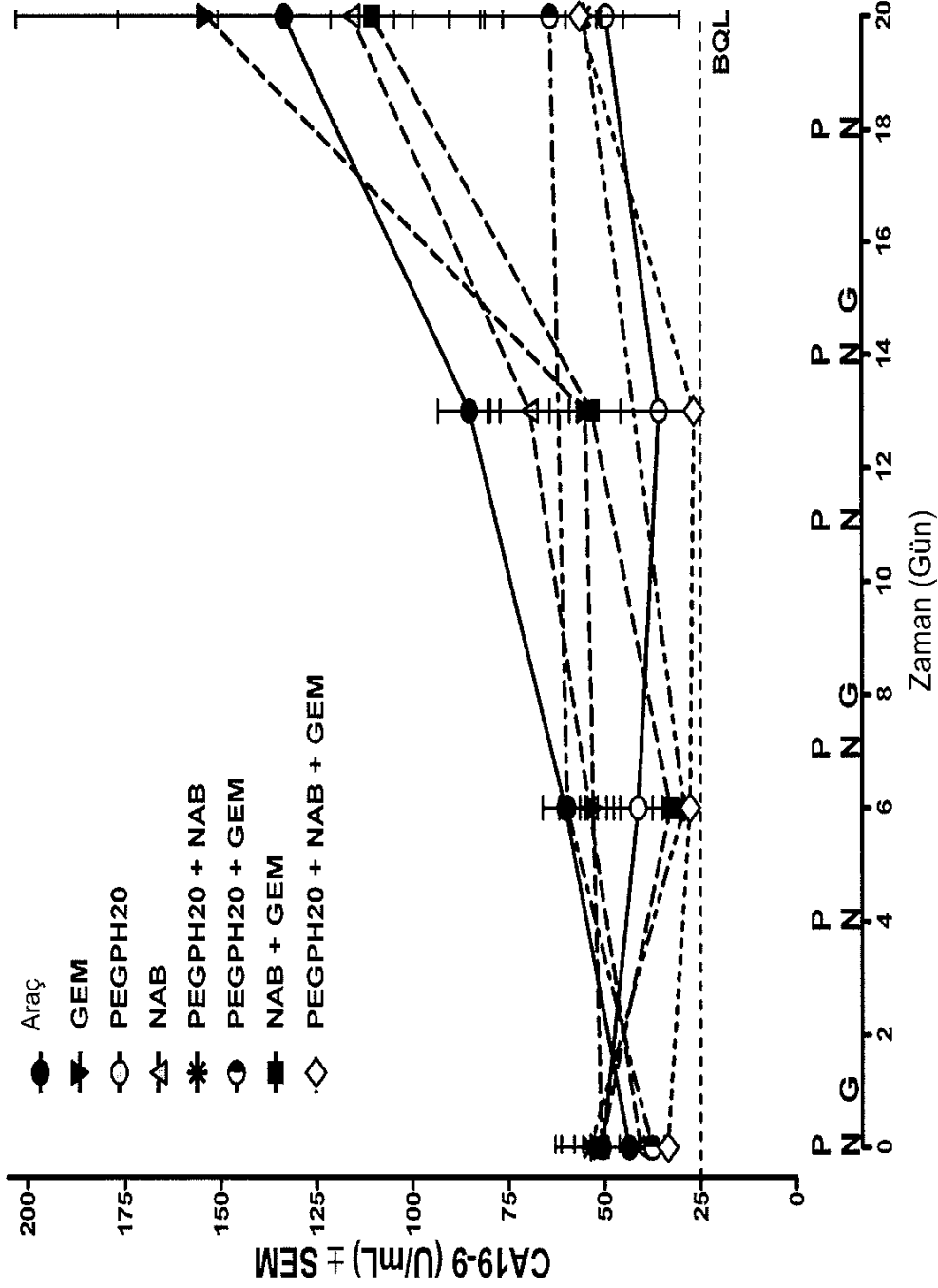
ŞEKİL 2



ŞEKİL 3



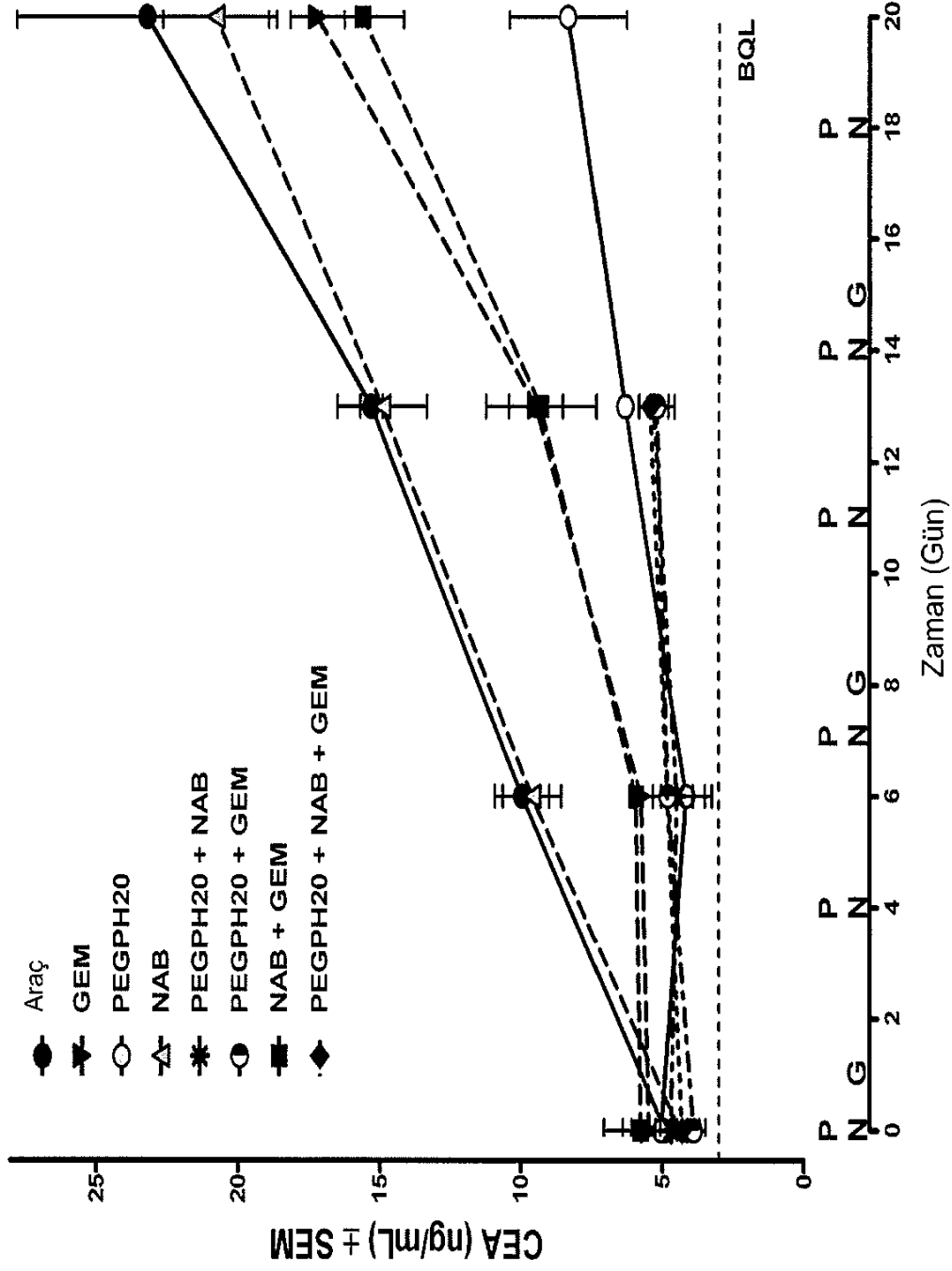
ŞEKİL 4



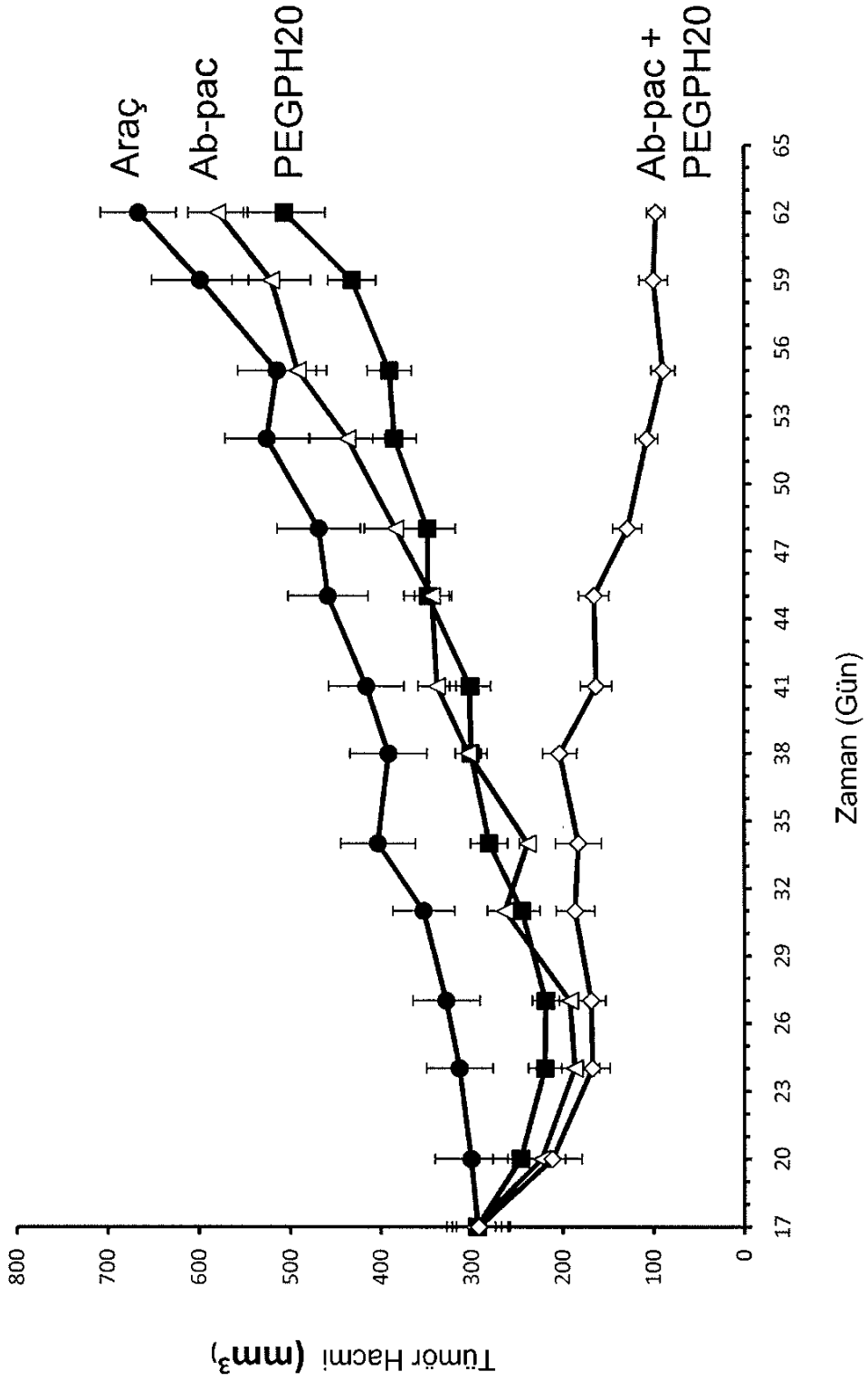
ŞEKİL 5A



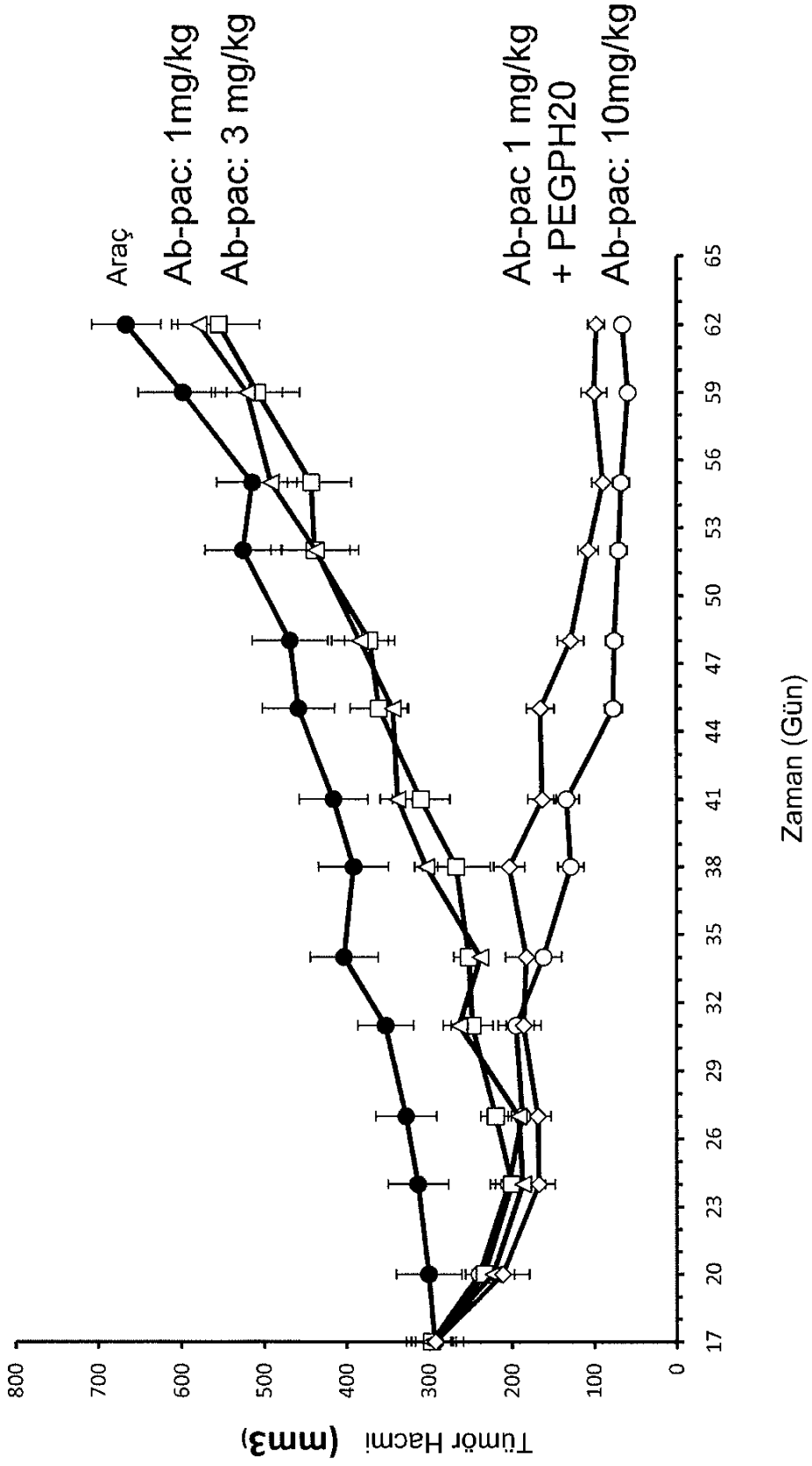
EP 2 833 905 B1



ŞEKİL 5B



ŞEKİL 6A



ŞEKİL 6B