(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월23일
(11) 등록번호 10-2758545
(24) 등록일자 2025년01월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/70521 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7012697
(22) 출원일자(국제) 2018년10월09일
심사청구일자 2021년10월08일
(85) 번역문제출일자 2020년04월29일
(65) 공개번호 10-2020-0074137
(43) 공개일자 2020년06월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/055095
(87) 국제공개번호 WO 2019/074983
국제공개일자 2019년04월18일
(30) 우선권주장
62/570,619 2017년10월10일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
JP2010506581 A*
KR1020150014443 A*
KR1020150135148 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
알파인 이뮨 사이언시즈, 인코포레이티드
미국 워싱턴 98102 시애틀 스위트 200 이스트 블레인 스트리트 188
(72) 발명자
에반스, 로렌스
미국 워싱턴 98102 시애틀 188 이스트 블레인 스트리트 스위트 200
카이퍼, 조셉 엘.
미국 워싱턴 98102 시애틀 188 이스트 블레인 스트리트 스위트 200
스완슨, 라이언
미국 워싱턴 98102 시애틀 188 이스트 블레인 스트리트 스위트 200
(74) 대리인
특허법인한얼

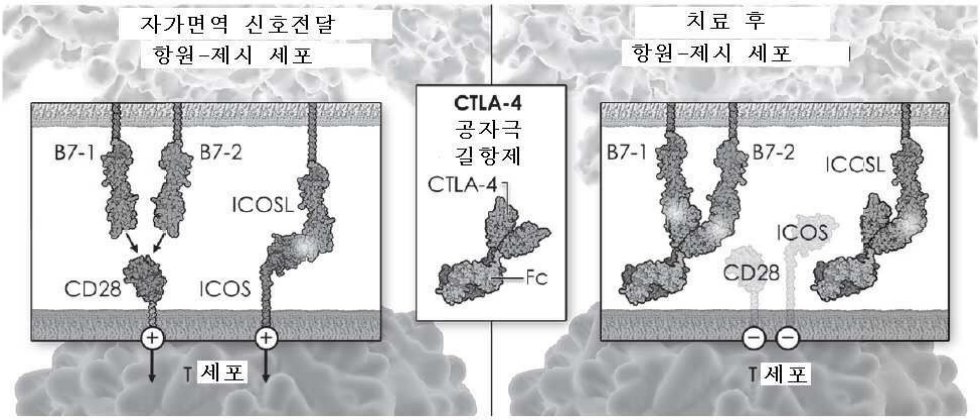
전체 청구항 수 : 총 25 항 심사관 : 정지혜

(54) 발명의 명칭 **CTLA-4 변이체 면역조절 단백질 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 명세서에서 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질 및 이러한 단백질을 암호화하는 핵산이 제공된다. 면역조절 단백질은 자가면역 또는 염증성 병태의 치료를 비롯한 다양한 질환 적용에 대한 치료적 효용을 제공한다. 이러한 단백질을 제조하고 이용하기 위한 조성물 및 방법이 제공된다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 2319/30 (2013.01)

(30) 우선권주장
62/613,379 2018년01월03일 미국(US)
62/733,615 2018년09월19일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드;

(ii) 제1 펩타이드 링커;

(iii) Fc 영역;

(iv) 제2 펩타이드 링커; 및

(v) 변이체 PD-L1 폴리펩타이드

를 포함하는 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드로서,

상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는

L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L, I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/M99L/Y105L/I108F, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, 및

M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L

로부터 선택된 아미노산 변형을 포함하고,

상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 아미노산은 SEQ ID NO: 2를 참조로 번호매겨진 것인, 폴리펩타이드.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 변형 G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 변형 T53S/L63P/Y105L을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 변형 M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 93의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 579의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 586의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 변이체 PD-L1 폴리펩타이드는 IgC2 도메인을 포함하지 않는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 변이체 PD-L1 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 445의 아미노산 24-130과 85% 이상 동일한 것인, 폴리펩타이드.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 제1 펩타이드 링커는 GGGGS (하나의 4GS 링커; SEQ ID NO: 535), GSGGGGS (SEQ ID NO: 534), GGGGSGGGGS (2개의 4GS 링커의 반복; SEQ ID NO: 537), GGGGSGGGGSGGGGS (3개의 4GS 링커의 반복; SEQ ID NO: 536), 4개의 4GS 링커의 반복, 5개의 4GS 링커의 반복, AAA, 또는 이들의 조합인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 제1 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 534인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 제2 펩타이드 링커는 GGGGS (하나의 4GS 링커; SEQ ID NO: 535), GSGGGGS (SEQ ID NO: 534), GGGGSGGGGS (2개의 4GS 링커의 반복; SEQ ID NO: 537), GGGGSGGGGSGGGGS (3개의 4GS 링커의 반복; SEQ ID NO: 536), 4개의 4GS 링커의 반복, 5개의 4GS 링커의 반복, AAA, 또는 이들의 조합인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 제2 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 536인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 Fc 영역은 SEQ ID NO: 533과 85% 이상 동일한 것인, 폴리펩타이드.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 Fc 영역은 EU 넘버링에 의한 C220S, L234A, L235E, G237A, E356D, M358L 및 K447del로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 16

제1항에 있어서, 상기 Fc 영역은 SEQ ID NOS:438-442 또는 526-528 중 어느 하나와 85% 이상 동일한 것인, 폴리펩타이드.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 Fc 영역은 SEQ ID NOS:438-442, 526, 527, 및 528로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 Fc 영역은 SEQ ID NO:438의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 Fc 영역은 변이체 PD-L1 폴리펩타이드에 대한 N-말단에 위치하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 20

제19항에 있어서, N-말단에서 C-말단으로의 배향은:

변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 제1 펩타이드 링커, Fc 영역, 제2 펩타이드 링커, 및 변이체 PD-L1 폴리펩타이드인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 93을 포함하고; 상기 제1 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 534의 서열을 포함하고; 상기 Fc 영역은 SEQ ID NO: 438의 서열을 포함하고; 및 상기 제2 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 536의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 579 또는 586을 포함하고; 상기 제1 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 534의 서열을 포함하고; 상기 Fc 영역은 SEQ ID NO: 438의 서열을 포함하고; 및 상기 제2 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 536의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 23

제1항 내지 제18항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 Fc 영역은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 변이체 PD-L1 폴리펩타이드 양자 모두에 대한 N-말단에 위치하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 24

제23항에 있어서, N-말단에서 C-말단으로의 배향은:

Fc 영역, 제1 펩타이드 링커, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 제2 펩타이드 링커, 및 변이체 PD-L1 폴리펩타이드인 것인, 폴리펩타이드.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 Fc 영역은 SEQ ID NO: 438의 서열을 포함하고; 상기 제1 펩타이드 링커는 SEQ ID NO:

536의 서열을 포함하고; 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 SEQ ID NO: 93, 579, 또는 586을 포함하고; 및 상기 제2 펩타이드 링커는 SEQ ID NO: 536의 서열을 포함하는 것인, 폴리펩타이드.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 9월 19일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/733,615호, 2018년 1월 3일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/613,379호 및 2017년 10월 10일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/570,619호에 대한 우선권 유익을 주장하며, 이들 기초출원 각각의 내용은 본 명세서에 전문이 참조에 의해 포함된다.

[0003] **서열목록의 참조에 의한 포함**

[0004] 본 출원은 전자적 형식의 서열목록과 함께 출원 중에 있다. 서열목록은 2018년 10월 8일자로 생성되고 용량이 1,138,300 바이트인 파일명 761612002040SeqList.txt으로서 제공된다. 전자적 형식의 서열목록 내 정보는 전체가 참조에 의해 포함된다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 개시내용은 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 단백질 및 이러한 단백질을 암호화하는 핵산에 관한 것이다. 면역조절 단백질은 자가면역 또는 염증성 병태의 치료를 비롯한 다양한 질환 적용을 위한 치료적 효용을 제공한다. 이러한 단백질을 제조하고 이용하는 조성물 및 방법이 제공된다.

배 경 기 술

[0007] 항원-제시 세포(antigen-presenting cell: APC) 또는 표적 세포와 림프구에 의해 그리고 이들 사이에 형성된 면역 시냅스(immunological synapse: IS)에서 생기는 과정에 개입하는 것에 의한 면역 반응의 조절에 증가된 의학적 관심이 있다. 메커니즘에 의해, IS 내 세포 표면 단백질은 이들에 결합된 단일 단백질과 함께 다중 단백질 표적의 협응된 그리고 종종 동시의 상호작용을 수반할 수 있다. IS 상호작용은 2개 세포의 접합과 가깝게 일어나고, 이 구조에서 단일 단백질은 동일한 세포 상의 단백질(시스)뿐만 아니라 결합된 세포 상의 단백질(트랜스) 둘 다와 상호작용할 수 있으며, 이는 동시일 가능성이 있다. IS를 조절할 수 있는 치료제는 공지되어 있지만, 개선된 치료제가 필요하다. 이러한 필요를 충족시키는 면역조절 단백질이 제공된다.

발명의 내용

[0008] 본 명세서에서 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공되되, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형을 함유하고, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4에 비해 증가된 친화도를 갖는 ICOSL의 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0009] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, I18, 119, 120, 121 및 122 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다.

[0010] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공되되, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, I18, 119, 120, 121 및 122 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다. 일부 실시형태에서, 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 포함한다.

[0011] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 포유류 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 인간 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 인간 CTLA-4의 세포외 도메인을 함유하되, 하나 이상의 아미노산 변형은 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포외 도메인의 하나 이상의 잔기에 있다.

[0012] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 (i) 서열번호 2에 제시된 아미노산의 서열, (ii) 서열번호 2에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 또는 (iii) IgV 도메인 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편을 함유하는 상기 아미노산 서열의 일부를 함유한다. 일부 실시형태에서, 비변형 CTLA-4는 서열번호 2에 제시된 아미노산의 서열을 함유한다.

[0013] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, IgV 도메인의 특이적 결합 단편은 적어도 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110개 이상의 아미노산 길이를 갖거나; 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편은 서열번호 1의 잔기 39 내지 140으로서 제시된 IgV 도메인 길이의 적어도 80%인 길이를 포함한다.

[0014] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개까지의 아미노산 변형, 선택적으로 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 함유한다.

[0015] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 함유한다.

[0016] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80 및/또는 CD86의 엑토도메인(들)에 대한 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0017] 본 명세서에서 서열번호 2에 제시된 인간 CTLA-4의 세포외 도메인에서 하나 이상의 아미노산 변형을 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공되되, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 세포외 도메인을 함유하는 CTLA-4에 비해 증가된 친화도로 인간 ICOSL, CD80 및/또는 CD86의 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0018] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 A6T, V10A, L12F, L12H, L12I, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, P102L, Y105F, Y105L, L106I, L106N, L106R, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Y115N, V116A, I117E, I117L, I117M, I117T, 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다.

[0019] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, L12H/E33M/L98Q/Y105L, L12H/M55T/E59D/L63P/M99L, L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L, L12P/A26T, L12P/A26T/L63P, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I, L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L, S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L, S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L, R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L, I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S, I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K, I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H, V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M, E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L, A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/M87V/N110K/I117E, A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M, P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L,

G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, E33M/A42T/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, T37S/M56V/L98Q/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F, T53S/M56V/L98Q/Y105L, M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, M55T/E97Q/M99L/Y105F, M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I, M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, M56T/L91R/L98Q/Y105L, M56V, M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, L63P/K95R, L63P/L98Q, L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M, L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/V116A, L63P/L98R/N110K, L63P/M99L/Y105L/I108F, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, L98Q/M99L/Y105L, L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T, L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N, L98Q/Y105L, L98R/N110K, T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P,
N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T,
R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P,
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T, L12H/E33M/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L/Y105L, E33V/L98Q/M99L, E33V/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L, M56T/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L 및 I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L 중에서 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다.

[0020] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155 또는 570 내지 637 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는, 예를 들어, 서열번호 2에 제시된 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해, 임의의 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155 또는 570 내지 637 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내고, 각각의 서열번호의 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는 아미노산 서열을 함유한다.

[0021] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0022] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 19, 26, 28, 29, 33, 35, 38, 42, 45, 47, 53, 55, 56, 58, 61, 63, 64, 65, 67, 69, 72, 76, 82, 85, 87, 89, 93, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 116, 117 또는 121 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위

치에 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 V10A, L12F, L12I, L12P, R16H, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, A26T, P28L, G29W, E33M, E33V, R35K, V38I, A42V, Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56T, M56V, N58D, N58S, T61A, T61R, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93L, I93V, E97Q, L98Q, M99I, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, Q113H, V116A, I117L 또는 P121S로부터 선택된다.

[0023] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, L12I, R16H, I18N, I18T, I18V, A19V, A26T, G29W, E33M, E33V, R35K, V38I, A42V, Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56V, N58D, N58S, T61A, T61R, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93L, I93V, E97Q, L98Q, M99I, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, Q113H, I117L, 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다.

[0024] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/M99L/Y105L/I108F, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 G29W/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M99L/Y105L/I108F, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다.

[0025] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 12, 26, 63, 98 또는 105번 위치(들)에 대응하는 위치에서 하나 이상의 변형 및/또는 L12P, L12F, A26T, L63P, L98Q 또는 Y105L로부터 선택된 하나 이상의 변형을 함유하는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.

[0026] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L; A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L;

L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L; I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L; L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F; I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L; I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L; L63P/M87K/M99L/L106R; L63P/M99L/Y105L/I108F; G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L; A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L; V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L; I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K; A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L; L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A; G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L; L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L; G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H; G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L; I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I; A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L; I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S; L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V; A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L; 및 G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V 중에서 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다.

[0027] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD80의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 26, 29, 42, 45, 53, 56, 58, 63, 67, 72, 82, 87, 97, 98, 99, 105, 108 또는 121 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, M56T, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다.

[0028] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 V10A, L12F, R16H, I18T, A26D, A26T, G29W, A42V, Q45H, T53S, M56K, M56T, N58S, L63P, I67N, S72G, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V 또는 P121S 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있다.

[0029] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L; G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L; A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V 및 V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S로부터 선택된다.

[0030] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L 또는 M56T/L98Q/Y105L 중에서 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V,

L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L 및 E33V/L98Q/M99L 중에서 선택된다.

[0031] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL 및 CD80의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T, A26T, G29W, E33V, Q45H, T53S, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V로부터 선택된다.

[0032] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD86의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 CD86의 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0033] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 20, 26, 28, 29, 30, 33, 42, 47, 53, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 65, 67, 69,72, 76, 82, 85, 87, 89, 93, 96, 98, 99, 102, 105, 106, 108, 113, 115, 116, 117 또는 121 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 V10A, L12F, L12H, L12P, R16H, I18T, I18V, S20N, A26S, A26T, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, A42S, A42T, T47A, T53S, M55T, M56K, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59G, T61I, T61N, T61R, T61S, L63P, D65G, I67N, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89M, T89S, I93V, V96I, L98Q, L98R, M99L, P102L, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, Q113H, Y115H, V116A, I117E, I117L, I117K, I117T, 및 P121S로부터 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있다.

[0034] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, L12H, L12P, R16H, I18T, I18V, S20N, A26T, G29R, G29W, E33M, E33V, A42S, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, T61I, T61N, T61R, T61S, L63P, D65G, I67N, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89M, T89S, V96I, L98Q, L98R, M99L, P102L, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, Q113H, Y115H, V116A, I117L, I117T 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다.

[0035] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L; L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L; I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T; M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L; L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I; A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L; A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R; S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N; L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A; G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L; T53S/M56V/L98Q/Y105L; L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L; I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I; G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L; L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L; G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H; G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V; A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L; I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I; L63P/L98Q/M99L/Y105L; A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S; I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L; L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L; G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L; M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E; G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L; L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H; G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L; I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F; L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S; 및

V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S 중에서 선택된다.

[0036] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, T53S/M56V/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L98Q/M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/G29W/L98Q/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L 중에서 선택된다.

[0037] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD80 및 CD86 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, T53S, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, L98Q, M99L, Y105L, I108V로부터 선택된다.

[0038] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL 및 CD86의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0039] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, I18V, A26T, G29W, E33M, E33V, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, M56V, N58D, N58S, T61R, L63P, D65G, I67N, I67V, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89S, L98Q, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, Q113H, I117L, 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택된다.

[0040] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, I18V, A26T, G29W, E33V, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, N58D, N58S, L63P, I67N, I67V, S72G, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89S, L98Q, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V 및 I117L로부터 선택된다.

[0041] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80 및 CD86의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0042] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, L98Q, M99L, Y105L 또는 I108V로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 A26T, G29W, T53S, M56K, N58S, L63P, L98Q, M99L 또는 Y105L로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 G29W, L63P, L98Q, M99L 또는 Y105L로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 G29W/L63P, G29W/L98Q, G29W/M99L, G29W/Y105L, L63P/L98Q, L63P/M99L, L63P/Y105L, L98Q/M99L, L98Q/Y105L 또는 M99L/Y105L로부터 선택된 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 아미노산 변형은 G29W/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 변형은 G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 변형은 L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L이다.

[0043] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 ICOSL의 엑토도메인에 특이적으로 결합하고, CD80 또는 CD86 엑토도메인에 대한

비변형 CTLA-4의 결합에 비해 감소된 친화도로 CD80 또는 CD86의 나머지 중 하나 이상의 엑토도메인에 특이적으로 결합한다.

[0044] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 엑토도메인에 대한 결합친화도의 증가는 독립적으로 1.2배 초과, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 100배 이상이다.

[0045] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 하나 이상의 엑토도메인에 대한 결합 친화도의 감소는 독립적으로, 1.2배 초과, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 100배 이상이다.

[0046] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유한다. 일부 실시형태에서, IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 CTLA-4 일부만이다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 임의의 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637에 제시된 아미노산의 서열 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 임의의 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내고, 예를 들어, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637에 제시된 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 각각의 서열번호의 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는 아미노산의 서열을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 636 중 어느 것, 또는 이의 특이적 결합 단편에 제시된 세포외 도메인의 아미노산의 서열, 또는 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 63 중 어느 것에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내고, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 636 중 어느 것에 제시된 각각의 서열번호의 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는 아미노산의 서열을 함유한다.

[0047] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, ICOSL은 인간 ICOSL이다. 일부 실시형태에서, CD80은 인간 CD80이다. 일부 실시형태에서, CD86은 인간 CD86이다.

[0048] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 가용성 단백질이다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CTLA-4 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 결여하고; 그리고/또는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포 표면 상에서 발현될 수 없다.

[0049] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 다량체화 도메인에 연결된다. 일부 실시형태에서, 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체이다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체에 연결된다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 포유류, 선택적으로 인간이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유류, 선택적으로 인간인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인 또는 이의 변이체는 서열번호 438 내지 442 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 438 내지 442 중 어느 것에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 함유한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 각각 EU 넘버링에 의한 E233P, L234A, L234V, L235A, L235E, G236del, G237A, S267K, N297G, V302C 및 K447del 중에서 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 아미노산 변형 L234A/L235E/G237A를 포함한다. 일부 실시형태에서, Fc 도메인은 EU 넘버링에 의한 아미노산 변형 C220S를 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 링커, 선택적으로 G4S(Gly_4Ser) 링커를 통해 간접적으로 다량체화 도메인 또는 Fc에 연결된다.

[0050] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, Fc 도메인에 연결된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 또는 388 내지 437 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 또는 388 내지 437 중 어느 것에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 함유한다.

[0051] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 막관통 도메인을 추가로 함유하는 막관통 면역조절 단백질이되, 선택적으로 막관통 도메인은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포외 도메인(ECD) 또는 이의 특이적 결합 단편에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 서열번호 1의 잔기 162 내지 182로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 162 내지 182에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 이의 기능성 변이체를 함유한다.

[0052] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 도메인을 추가로 함유하되, 선택적으로 세포질 도메인은 막관통 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 천연 CTLA-4 세포질 도메인, 세포내 신호전달 도메인이거나 이들을 함유하고/하거나 면역수용체 타이로신 기반 저해 모티프(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif: ITIM) 신호전달 모티프를 함유한다. 일부

실시형태에서, 세포질 도메인은 서열번호 1의 잔기 183 내지 223으로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 183 내지 223에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 이의 기능성 변이체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 면역수용체 타이로신 기반 저해 모티프(ITAM) 신호전달 모티프를 함유하고/하거나 CD3 제타의 세포내 신호전달 도메인을 함유한다.

[0053] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 신호전달 도메인을 함유하지 않고/않거나 세포 상에서 발현될 때 세포내 신호를 매개하거나 조절할 수 없다.

[0054] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 시험관내 1차 T-세포 분석에서 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 IFN-감마(인터페론-감마) 발현을 감소시킨다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 탈글리코실화된다.

[0055] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 IgSF 구성원의 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인을 함유하는 제2 폴리펩타이드에 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 연결된 임의의 제공된 변이체 CTLA-4를 함유하는 면역조절 폴리펩타이드가 제공된다. 일부 실시형태에서, IgSF 도메인은 친화도-변형된 IgSF 도메인이며, 상기 친화도-변형된 IgSF 도메인은 IgSF 패밀리 구성원의 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다. 일부 경우에, 친화도-변형된 IgSF 도메인은 동일한 하나 이상의 동족 결합 상대(들)에 대한 IgSF 패밀리 구성원의 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인의 결합에 비해 이의 동족 결합 상대(들) 중 하나 이상에 대해 변경된 결합을 나타낸다. 일부 실시형태에서, IgSF 도메인은 동일한 하나 이상의 동족 결합 상대(들)에 대한 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인의 결합에 비해 이의 동족 결합 상대(들) 중 하나 이상에 대해 증가된 결합을 나타낸다.

[0056] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드이고, 제2 폴리펩타이드의 IgSF 도메인은 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드로부터의 IgSF 도메인이되, 제1 CTLA-4와 제2 변이체 CTLA-4는 동일하거나 상이하다. 일부 양상에서, 면역조절 단백질은 IgSF 패밀리 구성원의 IgSF 도메인 또는 이의 친화도-변형된 IgSF 도메인을 함유하는 제3 폴리펩타이드를 추가로 함유하되, 상기 친화도-변형된 IgSF 도메인은 IgSF 패밀리 구성원의 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 함유한다. 일부 예에서, 제3 폴리펩타이드는 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드와 동일하거나; 또는 제3 폴리펩타이드는 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드와 상이하다.

[0057] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 선택적으로 제2 폴리펩타이드 또는 제3 폴리펩타이드 IgSF 도메인 또는 이의 친화도-변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 경우에, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인이거나 이를 함유한다.

[0058] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 면역조절 단백질은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 또는 제2 폴리펩타이드 중 적어도 하나에 연결된 다량체화 도메인을 추가로 함유한다. 일부 양상에서, 면역조절 단백질은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 제2 폴리펩타이드 및/또는 제3 폴리펩타이드 중 적어도 하나에 연결된 다량체화 도메인을 추가로 포함한다. 일부 경우에, 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체이다.

[0059] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 다량체화 도메인은 이형이량체 형성을 촉진시킨다. 본 명세서에서 임의의 제공된 면역조절 단백질을 함유하는 면역조절 단백질이 제공되되, 다량체화 도메인은 제1 다량체화 도메인이고, 제2 다량체화 도메인과 상호작용하여 면역조절 단백질을 함유하는 다량체를 형성한다. 일부 경우에, 면역조절 단백질은 제1 면역조절 단백질이고, 제2 면역조절 단백질은 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 제2 다량체화 도메인에 연결되되, 다량체는 제1 면역조절 단백질 및 제2 면역조절 단백질을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제2 면역조절 단백질은 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질이되, 다량체화 도메인은 제2 다량체화 도메인이다.

[0060] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 다량체화 도메인이 제1 다량체화 도메인인 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 다량체화 도메인이 제2 다량체화 도메인인 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는, 면역조절 단백질이 제공되되, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 상호작용하여 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 다량체를 형성한다. 일부 실시형태에서, 다량체는 이량체이다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 동형이량체이다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 이형이량체이다. 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인 및/또는 제2 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시형태에서, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하거나 상이하다.

[0061] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 모이어티에 연결된 변이체 CTLA-4 또는 면역조절 단백질을 함유하는 접합체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 모이어티는 세포 표면 상의 분자에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티이다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 면역 세포의 표면 상의 분자에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 면역 세포는 항원 제시 세포 또는 림프구이다. 일부 실시형태에서, 표적화 모이어티는 염증 환경 내 세포 또는 조직에 대해 국소화된다. 일부 실시형태에서, 모이어티는 단백질, 펩타이드, 핵산, 소분자 또는 나노입자이다. 일부 실시형태에서, 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 접합체는 2가, 4가, 6가 또는 8가이다.

[0062] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 또는 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질을 암호화하는, 핵산 분자(들)가 제공된다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 합성 핵산이다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 cDNA이다.

[0063] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 임의의 핵산 분자를 함유하는 벡터가 제공된다. 일부 실시형태에서, 벡터는 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 벡터는 포유류 발현 벡터 또는 바이러스 벡터이다.

[0064] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 벡터를 함유하는 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 세포는 포유류 세포이다. 일부 실시형태에서, 세포는 인간 세포이다.

[0065] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 핵산 분자 또는 벡터를 세포 내 단백질을 발현시키는 조건 하에 숙주 세포 내로 도입하는 단계를 포함하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 생성하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 세포로부터 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 단리시키거나 정제하는 단계를 더 포함한다.

[0066] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 폴리펩타이드가 세포에서 발현되는 조건 하에 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 숙주 세포에 도입하는 단계를 포함하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시키는 세포의 조작 방법이 제공된다.

[0067] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 핵산 분자, 또는 벡터를 발현시키는 조작된 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 세포는 면역 세포이다. 일부 실시형태에서, 면역 세포는 림프구이다. 일부 실시형태에서, 림프구는 T 세포이다. 일부 실시형태에서, T 세포는 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포이다. 일부 실시형태에서, T 세포는 조절 T 세포(Treg)이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 1차 세포이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 포유류 세포이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 인간 세포이다.

[0068] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 막관통 도메인을 통해 본 명세서에 제공된 세포 표면 상에서 발현된다. 일부 이러한 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 도메인을 함유하되, 선택적으로 세포질 도메인은 막관통 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 천연 CTLA-4 세포질 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 및/또는 ITIM 신호전달 모티프이거나 이들을 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 서열번호 1의 잔기 183 내지 223으로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 183 내지 223에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 나타내는 이의 기능성 변이체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 세포질 도메인은 ITAM 신호전달 모티프를 함유하고/하거나 CD3 제타의 세포내 신호전달 도메인이거나 이를 함유한다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 신호전달 도메인을 함유하지 않고/않거나 세포 상에서 발현될 때 세포내 신호를 매개 또는 조절할 수 없다.

[0069] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 조작된 세포는 키메라 항원 수용체(CAR)를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 조작된 T-세포 수용체(TCR)를 추가로 함유한다.

[0070] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 함유하는 감염제가 제공된다. 일부 실시형태에서, 감염제는 박테리아 또는 바이러스이다.

[0071] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질, 본 명세서에 제공된 접합체, 본 명세서에 제공된 조작된 세포 또는 본 명세서에 제공된 감염제를 함유하는, 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 멸균이다.

[0072] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 바이알 또는 용기에 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물을 수용하는 제조 물품이 제공된다. 일부 실시형태에서, 바이알 또는 용기는 밀봉된다.

[0073] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물 및 사용을 위한 설명서를 수용하는 키트가 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 제조 물품 및 사용을 위한 설명서를 수용하는 키트가 제공된다.

[0074] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 본 명세서에서 대상체에게 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서의 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 조작된 세포를 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서의 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다. 일부 이러한 실시형태에서, 조작된 세포는 대상체에 대해 자가이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 대상체에 대해 동종이다. 일부 실시형태에서, 면역 반응을 조절하는 것은 대상체에서의 질환 또는 병태를 치료한다.

[0075] 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 면역 반응은 감소된다. 제공된 방법의 일부 실시형태에서, 저해(예를 들어, ITIM-함유) 세포질 신호전달 도메인을 함유하는 표면-발현 변이체 CTLA-4를 갖는 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드, 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질 또는 본 명세서에 제공된 조작된 세포는 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 염증 또는 자가면역 질환 또는 병태이거나, 과민성 면역 반응과 연관된 질환 또는 병태이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 항호중구 세포질 항체(ANCA)-연관 혈관염, 혈관염, 자가면역 피부질환, 이식, 류마티스 질환, 갑상선염, 염증성 위장 질환, 염증성 안질환, 염증성 신경학적 질환, 염증성 폐질환, 염증성 내분비 질환, 자가면역 혈액 질환, 자가면역 탈수초 질환, 또는 전신 자가면역 장애를 수반하는 자가면역 질환이다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 염증성 장질환, 이식, 크론병, 궤양성 대장염, 천식, 자가면역 천식, 류마티스 관절염, 건선, 홍반성 낭창, 셀리악병, I형 진성당뇨병, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 디큐베인 갑상선염, 중증근무력증, 혈관염, 자가면역 용혈성 빈혈, 악성빈혈의 자가면역 위축성 위염, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 고환염, 굿페스처병, 자가면역 혈소판감소증, 교감성안염, 원발성 담즙성 경변증, 만성 공격성 간염, 막 사구체병증, 원발성 특발성 점액수종, 피부경화증, 만성간염, 애디슨병, 성선기능저하증, 악성빈혈, 백반증, 원형 탈모증, 자가면역 소장병증, 특발성 혈소판 자반병, 후천성 비장 위축증, 특발성 요붕증, 항정자 항체에 기인하는 불임, 감음 신경성 청력 손실, 쇼그렌 증후군, 다발근염, 다발성 경화증, 횡단성 척수염, 운동실조 경화증, 천포창, 진행성 전신성 강피증, 피부근육염, 결절성 다발동맥염, 용혈성 빈혈, 사구체신염, 및 특발성 안면 신경마비 중에서 선택된다.

[0076] 제공된 방법의 일부 임의의 제공된 실시형태에서, 면역 반응이 증가된다. 제공된 방법의 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 조작된 세포, 예컨대 세포질 신호전달 도메인을 결여하는 표면-발현된 변이체 CTLA-4 또는 활성화(예를 들어, ITAM-함유) 세포질 신호전달 도메인을 함유하는 표면-발현된 변이체 CTLA-4를 발현시키는 것이 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 제공된 방법은 종양 또는 암인 질환 또는 병태를 치료한다. 일부 이러한 실시형태에서, 질환 또는 병태는 흑색종, 폐암, 방광암, 혈액학적 악성종양, 간암, 뇌암, 신세포암, 유방암, 췌장암, 결장직장암, 비장암, 전립선암, 고환암, 난소암, 자궁암, 위암종, 근골격암, 두경부암, 위장암, 생식세포암, 또는 내분비 및 신경내분비암으로부터 선택된다.

도면의 간단한 설명

[0077] **도 1**은 (1) Fc 쇄에 융합된 변이체 IgSF 도메인(vIgD); (2) 항체(V-mAb)에 연결된 변이체 IgSF 도메인(vIgD)을 포함하는 제공된 변이체 IgSF 도메인 분자, 예컨대 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 다양한 가용성 또는 비-세포 발현 형식을 도시한 도면. vIgD는 CTLA-4 IgSF 슈퍼패밀리 구성원의 IgV 도메인 또는 V-도메인(IgV)을 함유하는 ECD; 또는 (3) 제1 변이체 IgSF 도메인(제1 vIgD) 및 제2 IgSF 도메인, 예컨대 제2 변이체 IgSF 도메인(제2 vIgD)을 함유하는 적층(stack) 분자를 포함할 수 있다.

도 2는 예시적인 가용성 CTLA-4 폴리펩타이드의 면역조절 활성을 예시하는 도면. 예시적인 개략도에서, T 세포 활성화는 T 세포 수용체(TCR) 및 CD28 및/또는 ICOS 공자극 수용체를 통한 신호전달로부터 초래된다. 신호전달 및 T 세포 활성화는 MHC 및 공자극 리간드 CD80(B7-1), CD86(B7-2) 및/또는 ICOSL를 발현시키는 항원 제시 세포(APC)에 의해 유도된다(도 2의 좌측 참조). 나타낸 바와 같이, Fc에 융합된 변이체 CTLA-4 IgSF 도메인(vIgD)(CTLA-4 vIgD-Fc; 도 2의 중간 참조)에 의한 개략도에 예시하는 바와 같은 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 결합 상대 ICOSL, CD80(B7-1) 및/또는 CD86(B7-2)과 상호작용하여 T 세포 CD28 및 ICOS

활성화 수용체의 이들의 공자극 리간드에 대한 결합을 차단시킴으로써 T 세포 활성화, 증식 및 효과기 기능을 억제한다(도 2의 우측 참조).

도 3A 및 도 3B는 T 세포의 표면 상에서 막관통 면역조절 단백질(TIP)로서 CTLA-4, 예컨대 변이체 CTLA-4의 발현의 실시형태를 도시한 도면. 도 3A에 나타내는 바와 같이, 일부 경우에, T 세포 활성화는 항원-제시 세포(APC) 상에서 발현된 CD80(B7-1) 및 CD86(B7-2) 공자극 분자와의 맞물림에 의해 유도된 CD28/TCR 신호 전달에 의해 유도된다. T 세포-발현된 CTLA-4, 예컨대 활성화된 T 세포 또는 T 조절 세포 상에서 발현된 CTLA-4는 세포 내재화를 통해 세포내 구획과 세포 표면 사이에서 끊임없이 재순환된다. CTLA-4는 또한 CD80(B7-1) 및 CD86(B7-2) 공자극 분자(및, 일부 경우에 ICOSL)에 결합할 수 있다. 도 3B에 나타낸 바와 같이, 일부 경우에, T 세포-발현된 CTLA-4가 리간드, 예컨대 B7-1 및 B7-2에 결합하는 것은 트랜스엔도시토시스(transendocytosis)로 지칭되는 과정에서 APC의 표면으로부터 T 세포가 동족 리간드를 제거하는 것을 가능하게 한다. 기능적으로, 이는 CTLA-4가 APC의 리간드를 떼어내는 "스트립(strip)"을 가능하게 함으로써 CD28 공자극 리간드가 후속적으로 추가로T 세포를 활성화시키는 것을 방지하고, 따라서 T 세포 활성화를 제한한다.

도 4는 변이체 IgSF 도메인(vIgD)이 세포, 예컨대 제1 T 세포, 예를 들어, CAR(키메라 항원 수용체) T 세포로부터 분비되는 분비된 면역조절 단백질(SIP)을 도시한 도면. 예시적인 실시형태에서, SIP는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드이고, 결합 상대는 항원 제시 세포에 의해 발현될 수 있는 공자극 리간드(예를 들어, CD80, CD86 및/또는 ICOSL)이다. SIP가 결합 상대와 결합 시, SIP는 공자극 리간드가 공자극 수용체(예를 들어, CD28)에 결합하는 것을 차단시킴으로써, 공자극 수용체를 통해 활성화 신호를 차단시키고, T 세포 또는 효과기 T 세포 활성화를 약화시킨다.

도 5A 내지 도 5c는 변이체 IgSF-항체 접합체(V-Mab)의 다양한 예시적인 입체배열을 도시한 도면. 도 5A는 하나 이상의 변이체 IgSF 도메인(들)(vIgD)가 항체의 경쇄의 아미노 말단 및/또는 카복실 말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는 다양한 입체배열을 나타낸다. 도 5B는 하나 이상의 변이체 IgSF 도메인(들)이 항체 중쇄의 아미노 말단 및/또는 카복실 말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는 다양한 입체배열을 나타낸다. 도 5c는 도 5A에 도시된 바와 같은 경쇄 및 도 5B에 도시된 바와 같은 중쇄가 세포에서 공동 발현될 때 얻어진 V-Mab 입체배열을 도시한다.

도 6a는 제1 변이체 IgSF 도메인(제1 vIgD) 및 제2 IgSF 도메인, 예컨대 제2 변이체 IgSF 도메인(제2 vIgD)을 함유하는 적층 분자의 다양한 예시적인 입체배열을 도시한 도면. 나타낸 바와 같이, 제1 vIgD 및 제2 IgSF 도메인은 독립적으로 Fc 영역의 N- 또는 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 동형이량체 Fc 분자를 생성하기 위해, Fc 영역은 세포 내 개개 Fc 영역의 공동발현에 의해 매칭된 Fc 서브유닛과 동형이량체를 형성할 수 있는 것이다. 이형이량체 Fc 분자를 생성하기 위해, 개개 Fc 영역이 세포에서 공동 발현될 때의 동형이량체에 비해 이형이량체의 형성이 선호되도록 개개 Fc 영역은 돌연변이(예를 들어, CH3 도메인 내 "노브-인투-홀(knob-into-hole)")를 함유한다.

도 6b는 제1 변이체 IgSF 도메인(제1 vIgD), 제2 IgSF 도메인, 예컨대 제2 변이체 IgSF 도메인(제2 vIgD), 및 제3 IgSF 도메인, 예컨대 제3 변이체 IgSF 도메인(제3 vIgD)을 함유하는 적층 분자의 다양한 예시적인 입체배열을 도시한 도면. 나타낸 바와 같이, 제1 vIgD, 제2 IgSF 및 제3 IgSF 도메인은 독립적으로 Fc 영역의 N- 또는 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 동형이량체 Fc 분자를 생성하기 위해, Fc 영역은 세포 내 개개 Fc 영역의 공동발현에 의해 매칭된 Fc 영역과 함께 동형이량체를 형성할 수 있는 것이다.

도 7은 Fc, 아바타셉트(abatacept) 또는 Fc 대조군에 융합된 서열번호 93(돌연변이 G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L을 함유)에 제시된 예시적인 CTLA-4 변이체를 갖는 콜라겐-유도 관절염(CIA) 모델에서 마우스의 치료 후 CIA 발 스코어를 도시한 도면. CIA 발 스코어는 마우스 당 4개의 발 각각의 합계로서 결정하였고, 15마리 마우스의 그룹에 걸쳐 평균을 내었다(평균 CIA 발 스코어).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0078] 본 명세서에서 적어도 하나의 표적 결합 상대에 결합하는 활성을 나타내는 세포독성 T-림프구-연관 단백질 4(CTLA-4; 또한 분화 152 또는 CD152의 클러스터로서 알려짐) 또는 이의 특이적 결합 단편의 변이체 또는 돌연변이체이거나 이들을 포함하는 면역조절 단백질이 제공된다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 첨가)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)은 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드의 ECD에 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)은 비

변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드의 IgSF 도메인(예를 들어, IgV)에 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질은 유도성 T-세포 공자극 리간드(ICOSL; B7-H2,CD275 및 GL50로도 알려짐)에 대해 변경된, 예컨대 증가된 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질은 ICOSL, CD80(B7-1로도 불림), 및/또는 CD86(B7-2로도 불림)에 대한 증가된 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다.

[0079] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 가용성인 면역조절 단백질이다. 이러한 분자는 막관통 도메인을 함유하지 않고/않거나 세포에 막 고정되지 않거나 또는 세포 표면 상에서 발현될 수 없는 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 단백질은 세포 표면 상에서 발현될 수 있는 막관통 면역조절 단백질로서 또는 세포로부터 분비될 수 있는 분비 가능한 면역조절 단백질로서 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 또한 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 하나 이상의 다른 모이어티 또는 폴리펩타이드를 함유하는 접합체 또는 융합인 하나 이상의 다른 면역조절 단백질이 제공된다.

[0080] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질은 면역학저 면역 반응, 예컨대 면역 반응의 증가 또는 감소를 조절한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질은 조절되지 않는(dysregulated) 면역 반응과 연관된 질환 또는 병태, 예컨대 자가면역 증상 또는 자가면역 질환, 또는 일부 경우에, 종양학 적응증의 치료를 위해 사용될 수 있다.

[0081] 일반적으로, 항원 특이적 T-세포 활성화는 일반적으로 2개의 별개의 신호를 필요로 한다. 제1 신호는 항원 제시 세포(APC) 상에 존재하는 항원과 연관된 주조직 적합 복합체(major histocompatibility complex: MHC)와 T-세포 수용체(TCR)의 상호작용에 의해 제공된다. 제2 신호는 TCR 맞물림에 대한 공자극이고, 일부 경우에, T 세포의 세포자멸사 또는 아네르기(anergy)를 피하기 위한 것을 비롯하여, T 세포 증식, 분화 및/또는 생존에 필수적이다. 일부 실시형태에서, 정상 생리적 조건 하에서, T 세포-매개 면역 반응은 T 세포 수용체(TCR)에 의한 항원 인식에 의해 개시되고, 공자극(예를 들어, T 세포 활성화)과 공동-저해 신호(예를 들어, 면역관문 단백질)의 균형에 의해 조절된다. 면역계는 자가면역(즉, 자가-관용)을 방지하기 위해 그리고 면역 반응 동안에, 예를 들어, 병원성 감염에 의한 공격 동안에 과도한 손상으로부터 조직을 보호하기 위해 면역관문에 의존한다. 일부 경우에, 그러나, 면역계는 조절되지 않을 수 있고, 비정상적 면역 반응이 정상 신체 부분 또는 조직에 대해 시작되어 자가면역 질환 또는 병태 또는 자가면역 증상을 초래할 수 있다. 다른 경우에, 원치않는 면역 반응이 외래 조직, 예컨대 이식물에서 시작되어, 이식 거부를 초래할 수 있다.

[0082] CTLA-4는 TCR/CD28 신호전달의 조절을 통해 T 세포 반응을 저해하는 저해 IgSF 수용체이다. 공자극 수용체인 CD28은 공자극 리간드 CD80(B7-1로도 불림) 및 CD86(B7-2로도 불림)에 결합하고, TCR 신호의 존재 하에 미경험 T 세포의 활성화를 촉진시킨다. 공동 저해 수용체인 CTLA-4는 T 세포 활성화의 음성 조절을 유도하기 위해 CD80 및 CD86의 결합에 대해 CD28과 경쟁한다(도 2). CTLA-4가 CD80 및/또는 CD86에 결합하고, CD28이 이의 동종 리간드에 결합하는 것을 방해할 때, T 세포는 활성화 신호전달 캐스케이드를 효과적으로 전달하지 않으며, T 세포 활성화 및 효과기 기능은 제거되거나 약화될 수 있다. CTLA-4는 또한 마주보는 세포, 예컨대 APC로부터 공자극 리간드 CD80 및 CD86의 포획 및 트랜스엔도시토시스에 의해 저해 효과를 발휘함으로써, 이들 공자극 리간드가 CD28 공자극 수용체에 대한 결합에 이용될 수 없게 만든다(도 3). T 세포 수용체(TCR)의 맞물림은 공자극 리간드의 CTLA-4 획득을 향상시킨다(Hou et al. (2015) *J. Immunol.*, 194(5):2148-59; Soskic et al. (2014) *Adv. Immunol.*, 124:95-136; Qureshi et al. (2011), *Science*, 332(6029): 600-603).

[0083] CTLA-4는 CD80 및/또는 CD86 상호작용의 조절을 통해 T 세포 활성화를 약화시킴으로써 자가면역 질환을 치료하기 위한 치료 약물로서 이용되었다. 구체적으로는, 아바타셉트 및 벨라타셉트(belatacept)는 각각 류마티스 관절염 및 이식 상황에서 사용하기 위한 FDA-승인 치료제이다. 아바타셉트는는 항체의 Fc 일부에 융합된 야생형 CTLA-4 IgSF 도메인이다. 벨라타셉트는 CD80 및 CD86에 대해 증가된 친화도를 부여하기 위해 서열번호 2에 제시된 야생형 기준 CTLA-4 ECD 서열의 31 및 106번 위치에 대응하는, 31번 위치에서 알라닌을 타이로신으로의 치환 그리고 106번 위치에서 류신을 글루탐산으로의 치환(A31Y/L106E)을 포함하는 CTLA-4 IgSF 도메인의 변형된 변이체이다(Kremer et al., *N Engl J Med.* 2003;349(20):1907-1915; Larsen et al., *Am J Transplant.* 2005;5(3):443-453).

[0084] 일부 양상에서, ICOSL(B7-H2로도 불림)은 CTLA-4의 결합 상대가 되는 것으로 보고되었다(Yao et al. (2011) *Immunity*, 34(5):729-740). ICOSL은 공자극 수용체인 ICOS에 대한 리간드이다(도 2). CD28 및 CTLA-4는 또한 ICOSL에 결합할 수 있지만, ICOS보다 더 적은 친화도를 가진다. CD80, CD86 및 ICOSL은 APC(예를 들어, 수지상 세포)의 표면 상에서 정상적으로 발현된다. ICOSL, CD80 및/또는 CD86은 또한 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 비롯한 T

세포 상에서 발현될 수 있다. 공자극 수용체, 즉, CD28 및/또는 ICOS에 대한 CD80, CD86 및/또는 ICOSL의 결합은 면역 반응을 향상시키는데, 이는 활성 중에서도, T 세포 활성화, T 세포 증식, 사이토카인 생성을 수반할 수 있다. 예를 들어, ICOS에 대한 ICOSL 결합은 T 헬퍼 세포 및 B 세포 분화에 연루된다.

[0085] 전장 CTLA-4 폴리펩타이드는 신호전달 서열, 세포외 도메인(ECD), 막관통 영역 및 세포질 도메인을 함유한다. 세포질 도메인은 세포내 신호전달 도메인을 함유한다. 예시적인 인간 CTLA-4 서열은 서열번호 1에 제시된다. 신호 서열의 제거 후에, ECD는 서열번호 1의 아미노산 36 내지 161에 대응하는 아미노산을 함유한다. 예시적인 인간 CTLA-4 ECD 아미노산 서열은 서열번호 2 또는 569에 제시된다. CTLA-4의 ECD는 단일 IgSF 도메인(즉, 단일 IgV 도메인)을 함유한다. 일부 경우에, IgV 도메인은 서열번호 1의 아미노산 39 내지 140(서열번호 2의 아미노산 4 내지 105)이거나 이들을 함유한다. 일부 경우에, IgV 도메인은 서열번호 1의 아미노산 39 내지 152(서열번호 2의 아미노산 4 내지 117)이거나 이를 함유한다. IgV 도메인 내에서, 일부 양상에서 CTLA-4와 이의 CD80 및 CD86 동족 리간드의 상호작용에서 어떤 역할을 하는 것으로 보고된, CDR1-유사 루프(서열번호 2의 아미노산 27 내지 34에 대응), CDR2-유사 루프(서열번호 2의 아미노산 51 내지 55에 대응), 및 CDR3-유사 루프(서열번호 2의 아미노산 97 내지 104에 대응)가 있다(Peach et al., *J.Exp. Med.* (1994), 180(6):2049-2058).

[0086] 본 명세서에서 CD80, CD86 및/또는 ICOSL에 대해 증가된 결합 활성, 예컨대 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공된다. 제공된 실시형태 중에서 ICOSL에 대해 증가된 친화도를 나타내고, 일부 경우에, 또한 CD80 및/또는 CD86에 대해 더 높은 결합 친화도, 예컨대 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 분자에 관한 실시형태가 제공된다. 일부 실시형태에서, 단일 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 한 번에 하나 초과의 리간드에 결합하지 않도록 CD80, CD86 및 ICOSL에 대한 결합은 경쟁적이다. 따라서, 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 T 세포 상의 결합 활성화 수용체 CD28 및 ICOS에서 이들 리간드의 정상 기능을 조절하기 위해, 예를 들어, 길항하기 위해 CD80, CD86 및/또는 ICOSL에 결합할 수 있다.

[0087] 일부 양상에서, 면역 반응, 예컨대 T 세포 반응의 저해 또는 약화는 원치않는 자가면역 증상 및/또는 이식 거부를 감소시키거나 예방하는 데 바람직할 수 있었다. 제공된 실시형태 중에 자가면역 또는 염증 질환 또는 병태를 치료하기 위해 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 이의 가용성 또는 세포-발현된 형태를 이용하는 방법이 제공된다. 이런 방법에서, 일부 양상에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 감소된 T 세포 활성화, 확장 및/또는 효과기 기능의 효과를 갖는 T 세포 및 자가면역 장애 약화와 관련된 것과 같은 원치않는 자가면역을 경험하는 환자에게 전달된다. 이들 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제조 및 이용하는 방법이 또한 제공된다.

[0088] 일부 경우에, CTLA-4 폴리펩타이드의 다양한 형식은 면역 반응을 촉진시키거나 증가시키기 위해 이루어질 수 있다. 예를 들어, 효과기 세포 상에서 동족 결합 상대에 대한 CTLA-4 결합에 대해 경쟁하는 활성화 세포질 신호전달 도메인 또는 디코이(decoy) 수용체를 함유하는 특정 CTLA-4-스위치 수용체는 면역 반응의 촉진, 예컨대 면역 반응의 증가를 야기할 수 있다. 제공된 실시형태 중에 암 및 종양학적 적응증을 치료하기 위해 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 활성화 신호를 유도할 수 있고/있거나 저해 신호와 경쟁하는 특정 세포-발현 형태를 이용하는 방법이 제공된다.

[0089] 일부 실시형태에서, 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 및 면역조절 폴리펩타이드, 이러한 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 접합체 또는 조작된 세포에 의해 달성된 면역 신호전달의 조절은 다른 치료에 비해 염증 및 자가면역 장애 및 병태의 치료를 위한 이점을 제공한다. 일부 경우에, 이러한 리간드/수용체 상호작용의 면역조절 효과에 개입하거나 변경시키기 위한 요법, 및 후속적 신호전달은 공간적 배향 필요뿐만 아니라 면역 시냅스의 국한에 의해 겹쳐진 크기 제한에 의해 제약을 받는다. 일부 양상에서, 항체 약물을 비롯한 기존의 치료적 약물은 이들 상호작용을 조절하는 데 연루된 다중 표적 단백질과 동시에 상호작용하지 못할 수도 있다. 추가적으로, 이들 리간드/수용체 상호작용 중 하나를 독립적으로 표적화하는 약물 사이의 약물동태학적 차이는 치료 과정 전체적으로 이러한 약물 조합의 목적하는 혈액 농도를 적절히 유지함에 있어서 차이를 생성할 수 있다.

[0090] 본 명세서에 언급된 특허, 특허 출원, 과학적 논문 및 데이터베이스를 포함하는 모든 간행물은, 특허, 특허 출원, 과학적 문헌 또는 데이터베이스를 비롯한 각각의 개개 간행물이 구체적이고 개별적으로 참고로 포함되도록 나타내는 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 명세서에 제시된 정의가 본 명세서에 참고로 포함된 특허, 출원, 간행물 출원 및 다른 간행물에 제시된 정의와 대조적이거나 또는 달리 불일치된다면, 본 명세서에 제시된 정의가 참고로 포함되는 특허, 출원, 공개된 출원 및 다른 간행물에 제시된 정의보다 우선한다.

[0091] 본 명세서에 사용된 표제 부문은 단지 유기적 목적을 위한 것이며 기재된 대상 물질을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0092] I. 정의

[0093] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 용어, 표기 및 다른 기술적 및 과학적 용어 또는 전문용어는 청구된 대상 물질이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 일부 경우에, 통상적으로 이해되는 의미를 갖는 용어는 분명함을 위해 그리고/또는 사전의 참고를 위해 본 명세서에 정의되며, 본 명세서의 이러한 정의의 포함은 반드시 당업계에서 일반적으로 이해되는 것 이상의 실질적인 차이를 나타내는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0094] 본 명세서 전체적으로 사용되는 용어는 구체적 예에서 달리 제한되지 않는 한 다음과 같이 정의된다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용되는 바와 같은 단수 형태는 달리 분명하게 표시되지 않는다면 복수의 대상을 포함한다. 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어, 두문자어 및 약어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 달리 표시되지 않는 한, 화학적 및 생화학적 명칭에 대한 약어 및 기호는 IUPAC-IUB 명명법에 따른다. 달리 표시되지 않는 한, 모든 수치 범위는 범위를 정하는 값뿐만 아니라 그 사이의 모든 정수 값을 포함한다.

[0095] 면역글로불린 슈퍼패밀리 도메인과 관련하여 사용되는 용어 "친화도 변형된"은 모 야생형 또는 비변형(즉, 비친화도 변형된) IgSF 대조군 도메인에 비해 적어도 하나의 결합 상대(대안적으로 "상대 구조")에 대한 증가된 또는 감소된 결합 친화도 또는 결합활성을 갖도록 (대응하는 야생형 모 또는 비변형된 IgSF 도메인에 대한) 변경된 아미노산 서열을 갖는 포유류 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인을 의미한다. 이와 관련하여 친화도-변형된 CTLA-4 IgSF 도메인이 포함된다. 일부 실시형태에서, 친화도-변형된 IgSF 도메인은 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인에서 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, 30개 이상의 아미노산 차이, 예컨대 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 결합 친화도 또는 결합활성의 증가 또는 감소는 잘 알려진 결합 분석, 예컨대 유세포 분석을 이용하여 결정될 수 있다(Larsen et al., *Am J Transplant*, 5(3): 443-453(2005); 또한 문헌[Linsley et al., *Immunity*, 1(9): 793-801(1994)] 참조). 결합 상대(들)에 대한 단백질의 결합 친화도 또는 결합활성의 증가는 야생형 IgSF 도메인 대조군보다 적어도 10% 더 큰 값이며, 일부 실시형태에서 야생형 IgSF 도메인 대조군 값보다 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1000%, 5000% 또는 10000% 더 큰 값이다. 결합 상대 중 적어도 하나에 대한 단백질의 결합 친화도 또는 결합활성의 감소는 대조군의 90% 이하이지만, 야생형 IgSF 도메인 대조군 값 10% 이상이며, 일부 실시형태에서 80%, 70% 60%, 50%, 40%, 30% 또는 20% 이하이지만 야생형 IgSF 도메인 대조군 값의 10% 이상인 값이다.

[0096] 친화도-변형된 단백질은 아미노산 잔기의 치환, 첨가 또는 결실에 의해 1차 아미노산 서열에서 변경된다. 용어 "친화도 변형된 IgSF 도메인"은 친화도-변형된 IgSF 도메인에 의해 생성된 임의의 출발 조성물 또는 방법에 대한 임의의 조건을 부과하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 따라서, 본 발명의 친화도 변형된 IgSF 도메인은 친화도 변형의 임의의 특정 과정에 의해 친화도 변형된 IgSF 도메인에 대해 이후에 형질전환되는 야생형 IgSF 도메인으로 제한되지 않는다. 친화도-변형된 IgSF 도메인 폴리펩타이드는, 예를 들어, 야생형 포유류 IgSF 도메인 서열 정보로부터 시작해서 생성될 수 있고, 이어서, 이의 결합 상대에 대한 결합을 위해 인실리코로 모델링되며, 최종적으로 재조합 발현되거나 화학적으로 합성되어 물질의 친화도 변형된 친화도 변형된 IgSF 도메인 조성물을 수득한다. 대안의 예에서, 친화도 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인의 부위-지정 돌연변이유발에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 친화도-변형된 IgSF 도메인은 생성물을 의미하며, 반드시 임의의 주어진 과정에 의해 생성된 생성물을 의미하지는 않는다. 재조합 방법, 화학적 합성 또는 이들의 조합물을 포함하는 다양한 기법이 사용될 수 있다.

[0097] 용어 "동종" 또는 "동종이계"는 하나의 유기체로부터 제거되고 이어서 유전자가 유사하지 않은 동일한 종의 유기체에 주입되거나 입양 전달된 세포 또는 조직을 의미하기 위해 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용된다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 종은 뮤린 또는 인간이다.

[0098] 본 명세서에서 사용되는 용어 "자가"는 이후에 주입되거나 입양 전달되는 동일한 유기체로부터 제거되는 세포 또는 조직을 의미한다. 유기체로부터 제거된 천연 세포 또는 천연 조직에 대해 더 이상 유전적으로 동일하지 않도록 자가 세포 또는 조직은, 예를 들어, 재조합 DNA 방법에 의해 변경될 수 있다. 예를 들어, 천연 자가 T-세포는 일부 경우에 T-세포 또는 TIL(종양 침윤성 림프구) 조작을 수반하는 막관통 면역조절 단백질 및/또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현시키는 자가 조작된 세포가 되는 재조합 DNA 기법에 의해 유전적으로 조작될 수 있다. 이어서, 조작된 세포는 천연 T-세포가 단리된 환자에 융합된다. 일부 실시형태에서, 유기체는 인간 또는 뮤린이다.

[0099] 본 명세서에서 사용되는 용어 "결합 친화도" 및 "결합 활성"은 특정 결합 조건 하에 상대-구조에 대한 단백질의 특이적 결합 친화도 및 특이적 결합 활성을 각각 의미한다. 생화학적 역학에서, 결합활성은 예컨대 CTLA-4와 이의 상대 구조 ICOSL, CD80 및/또는 CD86 사이의 개개 비공유적 결합 상호작용의 다중 친화도의 축적된 강도를 지칭한다. 이렇게 해서, 결합활성은 단일 상호작용의 강도를 기재하는 친화도와 별개이다. 친화도-변형된 CTLA-4 IgSF 도메인를 함유하는 변이체 CTLA-4의 상대-구조에 대한 결합 친화도의 증가 또는 약화는 비변형 CTLA-4, 예컨대 천연 또는 야생형 IgSF 도메인, 예컨대 IgV 도메인을 함유하는 비변형 CTLA-4의 결합 친화도에 대해 결정된다. 결합 친화도 또는 결합활성을 결정하기 위한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Larsen et al., *Am J Transplant*, 5(3): 443-453(2005)] 참조. 일부 실시형태에서, 본 발명의 변이체 CTLA-4(즉, 친화도 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 CTLA-4 단백질)는, 유세포 분석에 의해 측정하여, 결합 분석에서 야생형 CTLA-4 대조군보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 더 큰 평균 형광 강도(Mean Fluorescence Intensity: MFI) 값을 수득하는 결합 친화도로 ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 특이적으로 결합한다.

[0100] 용어 "생물학적 반감기"는 본 발명의 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드와 같은 물질을 취하여 약리학적 또는 생리적 활성 또는 농도의 절반을 상실하는 시간의 양을 지칭한다. 생물학적 반감기는 물질의 제거, 배설, 분해(예를 들어, 효소 분해/소화), 또는 신체의 특정 기관 또는 조직에서의 흡수 및 농도에 의해 영향받을 수 있다. 일부 실시형태에서, 생물학적 반감기는 물질의 혈액 혈장 농도를 취하여 정상 상태 수준의 절반에 도달하는 시간("혈장 반감기")을 결정함으로써 평가될 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 유도하고 증가시키기 위해 사용될 수 있는 접합체는 당업계에 공지되어 있고, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 하이드록시에틸 전분(HES), 상표명 XTEN(등록상표) 하에 시판되는 연장된 재조합 펩타이드(미국 캘리포니아주에 소재한 아뮤닉스 오퍼레이팅(Amunix Operating))(WO2013130683 참조), 인간 혈청 알부민(HSA), 소 혈청 알부민(BSA), 지질(아실화), 폴리-Pro-Ala-Ser(PAS) 및 폴리글루탐산(글루타밀화)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0101] 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "키메라 항원 수용체" 또는 "CAR"은 적어도 엑토도메인, 막관통, 및 엔도도메인을 포함하는 포유류 세포 상에서 발현되는 인공(즉, 사람이 만든) 막관통 단백질을 지칭한다. 선택적으로, CAR 단백질은 엑토도메인을 막관통 도메인에 공유적으로 연결시키는 "스페이서"를 포함한다. 스페이서는 종종 펩타이드 결합을 통해 막관통 도메인에 엑토도메인을 연결시키는 폴리펩타이드이다. CAR은 전형적으로 포유류 림프구 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, CAR은 포유류 세포, 예컨대 T-세포 또는 종양 침윤성 림프구(TIL) 상에서 발현된다. T 세포 상에서 발현된 CAR은 본 명세서에서 "CAR-T 세포" 또는 "CAR-T"로서 지칭된다. 일부 실시형태에서, CAR-T는 T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포, 자연 살해 T 세포, 기억 T 세포, 조절 T 세포, 또는 감마 델타 T-세포이다. 임상적으로 사용될 때, 예를 들어, 입양 세포 전달에서, 환자의 종양 또는 환자의 다른 조직에 대해 항원 결합 특이성을 갖는 CAR-T는 전형적으로 환자로부터 얻은 T 세포 상에서 발현되도록 조작된다. CAR을 발현시키는 조작된 T 세포는 환자에게 다시 주입된다. 따라서 CAR-T는 종종 자가 CAR-T이지만, 동종이계 CAR-T가 본 발명의 범주 내에 포함된다. CAR의 엑토도메인(또는 ECD)은 세포 표면 또는 종양 특이적 항원 상에서 면역조절 펩타이드의 ECD와 같은 표적 항원에 대한 생리학적 조건 하에서 특이적으로 결합하는 항원 결합 영역, 예컨대 항체 또는 이의 항원 결합 단편(예를 들어, 단일쇄 가변 단편(scFv))을 포함한다. 특이적 결합 시, 사건의 생물학적 사슬(즉, 신호 전달)은 CAR-T의 면역학적 활성의 조절을 초래한다. 따라서, 예를 들어, 표적 항원에 대한 CAR-T의 항원 결합 영역의 특이적 결합 시 세포독성, 증식 또는 사이토카인 생성에서 변화(증가 또는 감소)에 의해 반영되는 바와 같은 T-세포 활성의 면역학적 활성 변화를 야기할 수 있다. CAR-T 활성화 시 신호 전달은 일부 실시형태에서 천연 포유류 T-세포에서 신호 전달에 연루된 CD3-제타 쇄("CD3-z") 엔도도메인에 의해 달성된다. CAR-T는 T 세포의 면역조절 반응을 추가로 조절하기 위해 다중 신호전달 도메인, 예컨대 CD28, 4-1BB 또는 OX40을 추가로 포함할 수 있다. CD3-z는 T-세포 수용체 신호 전달에 연루된 면역수용체 타이로신 기반 활성화 모티프(ITAM)로서 알려진 보존된 모티프를 포함한다.

[0102] 시험관내 분석에서 본 발명의 2 이상의 변이체 CTLA-4의 존재에 의해 유도된 사이토카인 생성에 관해 사용될 때 용어 "총괄적으로" 또는 "총괄적"은 개개 변이체 CTLA-4 분자에 의해 유도된 사이토카인 생성과 상관없이 전반적 사이토카인 발현 수준을 의미한다. 일부 실시형태에서, 분석 중인 사이토카인은 시험관내 1차 T-세포 분석에서와 같이 IFN-감마이다.

[0103] 변이체 CTLA-4의 IgSF 도메인에 대해서와 같은 폴리펩타이드에 관한 용어 "결합 상대"("상대-구조"와 상호 호환적으로 사용됨)는 언급된 폴리펩타이드가 특정 결합 조건 하에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 분자(전형적으로 천연 포유류 단백질)을 지칭한다. 일부 양상에서, 친화도 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 변이체 CTLA-4는

대응하는 천연 또는 야생형 CTLA-4의 결합 상대에, 그러나 증가 또는 약화된 친화도로 특이적으로 결합한다. "세포 표면 결합 상대"는 포유류 세포 표면 상에서 발현되는 결합 상대이다. 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 분자의 결합 상대의 예는 CD80, CD86 및 ICOSL, 및 특히 인간 CD80, 인간 CD86 및 인간 ICOSL을 포함한다.

[0104] 본 명세서에서 사용되는 "접합체", "접합" 또는 이의 문법적 변형은 당업계에 공지된 임의의 결합 또는 연결 방법에 의해 다른 화합물의 형성을 초래하는 2 이상의 화합물을 함께 결합 또는 연결시키는 것을 지칭한다. 이는 또한 2 이상의 화합물을 함께 결합 또는 연결시킴으로써 생성되는 화합물을 지칭한다. 예를 들어, 하나 이상의 화학적 모이어티 또는 폴리펩타이드에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 예시적인 접합체이다. 이러한 접합체는 융합 단백질, 화학적 접합에 의해 생성된 것 및 임의의 방법에 의해 생성된 것을 포함한다.

[0105] 본 명세서에 사용되는 용어 "경쟁적 결합"은 단백질이 적어도 2개의 결합 상대에 특이적으로 결합할 수 있지만, 하나의 결합 상대의 특이적 결합이 제2 결합 상대에 대한 동시 결합을 저해하는, 예컨대 방해하거나 불가능하게 하는 것을 의미한다. 따라서, 일부 경우에, 단백질이 동시에 2개의 결합 상대에 결합하는 것은 가능하지 않다. 일반적으로, 경쟁적 결합제는 특이적 결합에 대한 동일한 또는 중복되는 결합 부위를 함유한다. 일부 실시형태에서, 경쟁적 결합은 제2 결합 상대의 특정 결합에 기인하여 결합 상대 중 하나에 대한 단백질의 특이적 결합의 측정 가능한 (부분적 또는 완전한) 저해를 야기한다. 다양한 방법은 ELISA(효소 결합 면역흡착 분석) 분석과 같은 경쟁적 결합을 정량화하는 것으로 알려져 있다.

[0106] 본 명세서에서 사용되는 용어 "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄 R 기를 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환되는 아미노산 치환을 의미한다. 유사한 화학적 특성을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 기의 예는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 아이소류신; 2) 지방족-하이드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아마이드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 타이로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 라이신, 알기닌 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산 및 글루탐산; 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 보존적 아미노산 치환기는 발린-류신-아이소류신, 페닐알라닌-타이로신, 라이신-알기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트 및 아스파라긴-글루타민이다.

[0107] 단백질의 위치에 대해 "에 대응하는"이라는 용어, 예컨대 서열목록에 제시된 것과 같은 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치가 개시된 서열 내 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치"에 대응한다"는 설명은 구조적 서열 정렬에 기반하여 또는 표준 정렬 알고리즘, 예컨대 GAP 알고리즘을 이용하여 개시된 서열에 의한 정렬 시 확인된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치를 지칭한다. 예를 들어, 대응하는 잔기는 본 명세서에 기재된 바와 같은 구조적 정렬 방법에 의해 서열번호 2 또는 569에 제시된(ECD) 또는 서열번호 3에 제시된(IgV 도메인) 야생형 CTLA-4의 서열과 함께 기준 서열의 정렬에 의해 결정될 수 있다. 서열을 정렬함으로써, 당업자는, 예를 들어, 가이드로서 보존된 그리고 동일한 아미노산 잔기를 이용하여, 대응하는 잔기를 확인할 수 있다.

[0108] 본 명세서에서 사용되는 용어 "감소시킨다" 또는 "약화시킨다", "또는 억제시킨다"는 통계학적으로 유의한 양만큼의 감소를 의미한다. 감소는 대조군 값, 예컨대 0이 아닌 대조군 값의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%일 수 있다.

[0109] 포유류 림프구의 면역학적 활성 감소와 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "줄어든" 또는 "감소된"은 비처리 대조군 또는 비변형 또는 비변이체 대조군을 이용하는 치료가 동일한 조건 하에 사용되는 대조군과 같은 대조군에 비해 림프구의 하나 이상의 활성을 감소시키는 것을 의미한다. 감소된 활성은 통계학적으로 유의한 양만큼 세포 주기 저해, 감소된 세포 생존, 감소된 세포 증식, 감소된 사이토카인 생성 또는 감소된 T-세포 세포독성 중 하나 이상을 지칭할 수 있다. 일부 실시형태에서, 감소된 면역학적 활성에 대한 언급은 치료의 부재 하에 비해 인터페론 감마(IFN-감마) 생성을, 예컨대 통계학적으로 유효한 양만큼 감소시키는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 면역학적 활성은 혼합 림프구 반응(Mixed Lymphocyte Reaction: MLR) 분석에서 평가될 수 있다. MLR 분석을 수행하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 문헌[Wang et al., *Cancer Immunol Res.* (2014) 2(9):846-56]. 본 명세서에 기재된 임의의 분석을 비롯한 림프구의 활성을 평가하는 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 향상은 대조군 값, 예컨대 비치료 대조군 값 또는 0이 아닌 대조군 값에 비해 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%만큼 감소될 수 있다.

[0110] 용어 "유도체" 또는 "유도체화된"은 생물학적 반감기, 생체이용률, 면역원성, 가용성, 독성, 효력 또는 효능과 같은 특징을 변경시키기 위해 조성물에 직접적으로 또는 간접적으로 공유적으로 연결하는 한편, 치료적 이점을

유지하거나 향상시키는 것에 의한 단백질의 변형을 지칭한다. 본 발명의 면역조절 폴리펩타이드의 유도체는 본 발명의 범주 내에 있고, 예를 들어, 글리코실화, 페길화(PEGylation), 지질 또는 Fc-융합에 의해 생성될 수 있다.

[0111] 본 명세서에서 사용되는 "도메인"(전형적으로 3개 이상, 일반적으로 5 또는 7개 이상의 아미노산, 예컨대 10 내지 200개의 아미노산 잔기의 서열)은 분자의 다른 부분과 구조적으로 그리고/또는 기능적으로 별개이며, 식별 가능한 분자, 예컨대 단백질 또는 암호화 핵산의 일부를 지칭한다. 예를 들어, 도메인은 하나 이상의 구조적 모티프로 구성된 단백질 내의 독립적으로 폴딩된 구조를 형성할 수 있고/있거나 기능적 활성, 예컨대 결합 활성 때문에 인식되는 폴리펩타이드 쇄의 해당 부분을 포함한다. 단백질은 1, 또는 1개 초과의 별개의 도메인을 가질 수 있다. 예를 들어, 도메인은 관련된 패밀리 구성원에 대한 1차 서열 또는 구조의 상동성, 예컨대 모티프에 대한 상동성에 의해 확인되거나, 정해지거나 또는 구별될 수 있다. 다른 예에서, 도메인은 이의 기능, 예컨대 생체분자, 예컨대 결합 상대와 상호작용하는 능력에 의해 구별될 수 있다. 독립적이거나 또는 다른 분자에 융합된 도메인이 활성, 예컨대 결합을 수행할 수 있도록 도메인은 독립적으로 생물학적 기능 또는 활성을 나타낼 수 있다. 도메인은 아미노산의 선형 서열 또는 아미노산의 비선형 서열일 수 있다. 다수의 폴리펩타이드는 복수의 도메인을 함유한다. 이러한 도메인이 알려져 있으며, 당업자에 의해 확인될 수 있다. 본 명세서의 예시를 위해, 정의가 제공되지만, 명칭에 의해 특정 도메인을 인식하는 것은 당업자의 기술 내에서 용이하다. 필요하다면, 적절한 소프트웨어를 사용하여 도메인을 확인할 수 있다.

[0112] 본 명세서에서 사용되는 용어 "엑토도메인"은 소포성 막 외부에 놓인 막 단백질, 예컨대 막관통 단백질의 영역을 지칭한다. 엑토도메인은 종종 리간드 또는 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 통해, 리간드 또는 세포 표면 수용체에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함한다. 세포의 막관통 단백질의 엑토도메인은 세포외 도메인과 교대로 지칭된다.

[0113] 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 단독으로(즉, 단일요법으로서) 또는 추가적인 치료제(들)와 병용하여 생체외(환자로부터의 세포와 접촉에 의해) 또는 생체내(환자 내로 투여에 의해) 투여될 때, 예를 들어 질환의 증상 및/또는 원인을 개선시키거나 제거함으로써 질환 진행의 통계적으로 유의한 감소를 수득하는 단백질 조성물 또는 세포 조성물을 포함하는 본 발명의 치료적 조성물의 양 및/또는 농도를 지칭한다. 유효량은 질환 또는 장애와 연관된 적어도 하나의 증상 또는 생물학적 반응 또는 효과를 없애거나, 줄이거나 또는 완화시키거나, 질환 또는 장애의 진행을 방지하거나, 환자의 신체 기능을 개선시키는 양일 수 있다. 세포 요법의 경우에, 유효량은 입양 세포 요법에 의해 환자에게 투여되는 세포의 유효 용량 또는 수이다. 일부 실시형태에서, 환자는 비인간 영장류 또는 인간 환자와 같은 포유류이다.

[0114] 본 명세서에서 사용되는 용어 "엔도도메인"("세포내 도메인" 또는 "세포질 도메인"으로도 불림)은 세포 표면막에 의해 정해지는 내부 공간으로 연장되는 일부 막 단백질, 예컨대 막관통 단백질에서 발견되는 영역을 지칭한다. 포유류 세포에서, 엔도도메인은 막 단백질의 세포질 영역이다. 세포에서, 엔도도메인은 세포내 구성성분과 상호작용하고, 신호 전달에서 어떤 역할을 할 수 있으며, 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인일 수 있다. 세포의 막관통 단백질의 엔도도메인은 일부 경우에 신호 전달을 매개하거나 신호 전달에서 어떤 역할을 하는 세포질 신호전달 도메인일 수 있는 세포질 도메인으로서 교대로 지칭된다. 따라서, 용어 세포내 신호전달 도메인 및 세포질 신호전달 도메인은 상호 호환적으로 사용된다.

[0115] 포유류 림프구의 면역학적 활성 증가과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "향상된" 또는 "증가된"은 대조군, 예컨대 비변형 또는 비변이체 대조군을 이용하는 치료가 동일한 조건 하에 사용된 대조군에 비해 림프구의 하나 이상의 활성을 증가시키는 것을 의미한다. 증가된 활성은 예컨대 통계학적으로 유의한 양만큼 증가된 세포 생존, 세포 증식, 사이토카인 생성 또는 T-세포의 세포독성 중 하나 이상일 수 있다. 일부 실시형태에서, 증가된 면역학적 활성에 대한 언급은, 예컨대 통계학적으로 유의한 양만큼 인터페론 감마(IFN-감마) 생성을 증가시키는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, MLR 분석에서 면역학적 활성이 평가될 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 분석을 포함하여 림프구의 활성을 평가하는 다른 방법이 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 향상은 대조군 값, 예컨대 0이 아닌 대조군 값보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 100%, 200%, 300%, 400% 또는 500% 초과의 증가일 수 있다.

[0116] 본 명세서에서 사용되는 용어 "조작된 세포"는 인간 개입에 의해, 예컨대 재조합 DNA 방법 또는 바이러스 형질도입에 의해 유전자 변형된 포유류 세포를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 세포는 면역 세포, 예컨대 림프구(예를 들어, T 세포, B 세포, NK 세포) 또는 항원 제시 세포(예를 들어, 수지상 세포)이다. 세포는 환자로부터의 1차 세포일 수 있거나 세포주일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조작된 세포는 본 명세서에 제공된 변이

체 CTLA-4를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 조작된 세포 상에서 발현된 막관통 면역조절 단백질(본 명세서에서 이후에 "TIP"로 지칭됨)이다. 일부 실시형태에서, TIP는 막관통 도메인(예를 들어, CTLA-4 막관통 도메인) 및, 선택적으로, 세포내 신호전달 도메인에 연결된 IgV 도메인을 함유하는 세포외 도메인 또는 이의 일부를 함유한다. 일부 경우에, TIP는 이종성 세포질 신호전달 도메인 또는 엔도도메인을 함유하는 키메라 수용체로서 형식화된다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 본 명세서에 기재된 바와 같은 면역조절 단백질을 발현 및 분비할 수 있다. 또한 제공되는 조작된 세포 중에 조작된 T-세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 추가로 함유하는 세포가 있다.

[0117] 본 명세서에 사용되는 용어 "조작된 T 세포"는 인간 개입에 의해, 예컨대 재조합 DNA 방법 또는 바이러스 형질도입 방법에 의해 유전자 변형된 T 헬퍼 세포, 세포독성 T 세포(대안적으로, 세포독성 T 림프구 또는 CTL), 자연 살해 T 세포, 조절 T 세포, 기억 T 세포, 또는 감마 델타 T 세포와 같은 T 세포를 지칭한다. 조작된 T 세포는 T 세포 상에서 발현되고 조작된 T 세포 그 자체, 또는 T 세포 상에서 발현된 변이체 CTLA-4에 결합하는 포유류 세포의 면역학적 활성을 조절하도록 조작된 본 발명의 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질(TIP)을 포함할 수 있다. 조작된 T 세포는 T 세포에 의해 발현되고/되거나 분비되며 조작된 T 세포 그 자체, 또는 T 세포에 의해 분비될 때 변이체 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 포유류 세포의 면역학적 활성을 조절하도록 조작된 본 발명의 변이체 CTLA-4 분비된 면역조절 단백질(SIP)을 포함할 수 있다.

[0118] 용어 "조작된 T-세포 수용체" 또는 "조작된 TCR"은 입양 면역요법에 대해 종종 사용되는 T 세포의 집단을 선택, 클로닝 및/또는 후속적으로 도입되는 주조직 적합 복합체(MHC)/펩타이드 표적 항원에 대해 목적하는 친화도로 특이적으로 결합하도록 조작된 T-세포 수용체(TCR)를 지칭한다. 조작된 TCR과 대조적으로, CAR은 MHC 독립적 방식으로 표적 항원에 결합하도록 조작된다.

[0119] 본 명세서에서 사용되는 용어 "상에서 발현되는"은 세포, 예컨대 포유류 세포 상에서 발현되는 단백질에 관해 사용된다. 따라서, 단백질은 막 단백질로서 발현된다. 일부 실시형태에서, 발현된 단백질은 막 단백질이다. 일부 실시형태에서, 단백질은 소분자 모이어티, 예컨대 약물 또는 검출 가능한 표지에 접합된다. 세포 표면 상에서 발현된 단백질은 세포-표면 단백질, 예컨대 포유류 세포 상에서 발현되는 세포 표면 수용체를 포함할 수 있다.

[0120] 용어 "반감기 연장 모이어티"는 모이어티에 접합되지 않은 단백질의 반감기에 비해 포유류 혈액 혈청에서 순환하는 단백질의 반감기를 연장시키는 폴리펩타이드 융합 또는 화학적 접합체의 모이어티를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 반감기는 약 1.2배, 1.5배, 2.0배, 3.0배, 4.0배, 5.0배 또는 6.0배 초과만큼 연장된다. 일부 실시형태에서, 반감기는 반감기 연장 모이어티가 없는 단백질에 비해 생체내 투여 후 6시간 초과, 12시간 초과, 24시간 초과, 48시간 초과, 72시간 초과, 96시간 초과 또는 1주 초과만큼 연장된다. 반감기는 단백질이 농도, 양 또는 활성의 절반을 상실하는 동안 걸린 시간의 양을 지칭한다. 반감기는, 예를 들어, ELISA 분석 또는 활성 분석을 이용함으로써 결정될 수 있다. 예시적인 반감기 연장 모이어티는 Fc 도메인, 다량체화 도메인, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 하이드록시에틸 전분(HES), 상표명 XTEN(등록상표)(WO2013130683 참조) 하에 시판되는 연장된 재조합 펩타이드, 인간 혈청 알부민(HSA), 소 혈청 알부민(BSA), 지질(아실화) 및 폴리-Pro-Ala-Ser(PAS), 및 폴리글루탐산(글루타밀화)을 포함한다.

[0121] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역 시냅스" 또는 "면역 시냅스"는 MHC I(주조직 적합 복합체 클래스 I) 또는 MHC II, 예컨대 항원-제시 세포 또는 종양 세포, 및 포유류 림프구, 예컨대 효과기 T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포를 발현시키는 포유류 세포 사이의 계면을 의미한다.

[0122] 면역글로불린 분자(또한 Fc 폴리펩타이드로 지칭됨)의 Fc(결정화 가능한 단편) 영역 또는 도메인은 대체로 면역글로불린 중쇄의 불변 영역에 대응하며, 항체의 효과기 기능(들)을 비롯한 다양한 기능을 초래한다. Fc 도메인은 면역글로불린 분자의 힌지 도메인 + CH2 및 CH3 도메인의 부분 또는 모두를 함유한다. Fc 도메인은 하나 이상의 이황화 결합에 의해 결합된 2개의 폴리펩타이드의 이량체를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc는 효과기 기능을 용이하게 하기 위해 감소된(예를 들어, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상 감소된) 활성을 나타내는 변이체 Fc이다. 일부 실시형태에서, Fc 영역 내 아미노산 치환에 대한 언급은 구체적 서열번호에 대해 기재되지 않는 한 EU 넘버링 시스템에 의한다. EU 넘버링은 공지되어 있으며, 가장 최근에 업데이트된 IMGT 사이언티픽 차트(Scientific Chart)(IMGT(등록상표), 국제 면역유전학 정보 시스템(the international ImMunoGeneTics information system)(등록상표), http://www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html(생성: 2001년 5월 17일자, 최근의 업데이트: 2016년 6월 8일자) 및 문헌[Kabat, E.A. et al. Sequences of Proteins of Immunological interest.

5th ed. US Department of Health and Human Services, NIH publication No. 91-3242(1991)]에 보고된 바와 같은 EU 색인에 따른다.

[0123] 면역글로불린 Fc 융합("Fc-융합"), 예컨대 면역조절 Fc 융합 단백질은 면역글로불린의 Fc 영역에 작동 가능하게 연결된 하나 이상의 폴리펩타이드(또는 하나 이상의 소분자)를 포함하는 분자이다. Fc-융합은, 예를 들어, 항체의 Fc 영역(효과기 기능 및 약물동태학을 용이하게 함) 및 변이체 CTLA-4를 포함할 수 있다. 면역글로불린 Fc 영역은 하나 이상의 변이체 CTLA-4 또는 소분자(융합 상대)에 간접적으로 또는 직접적으로 연결될 수 있다. 다양한 링커는 당업계에 공지되어 있고, Fc를 융합 상대에 연결하여 Fc-융합을 생성하기 위해 선택적으로 사용될 수 있다. 동일한 종의 Fc-융합은 이량체화되어 Fc-융합 동형이량체를 형성하거나 비동일 종을 이용하여 Fc-융합 이형이량체를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc는 포유류 Fc, 예컨대 뮤린 또는 인간 Fc이다.

[0124] 용어 "숙주 세포"는 재조합 발현 벡터에 의해 암호화된 단백질을 발현시키기 위해 사용될 수 있는 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어, 이콜라이(*E. coli*)일 수 있거나, 진핵생물, 예를 들어, 단세포 진핵생물(예를 들어, 효모 또는 다른 진균), 식물 세포(예를 들어, 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예를 들어, 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 숙주 세포의 예는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 이들의 유도체, 예컨대 Veggie CHO 및 무혈청 배지에서 성장하는 관련된 세포주 또는 다이하이드로엽산 환원효소(DHFR)가 결핍된 CHO 균주 DX-B11을 포함한다. 다른 예는 인간 배아 신장 293(HEK-293) 세포 또는 이들의 유도체이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 포유류 세포(예를 들어, 인간 세포, 원숭이 세포, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포 또는 곤충 세포)이다.

[0125] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역글로불린"("Ig"로 약칭됨)은 5가지의 인간 부류 항체(IgA(하위부류 IgA1 및 IgA2를 포함함), IgD, IgE, IgG(하위부류 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함함) 및 IgM) 중 어느 것을 포함하는 포유류 면역글로불린 단백질을 지칭한다. 상기 용어는 또한 전체로 또는 부분적으로 합성이든(예를 들어, 재조합 또는 화학적 합성) 또는 자연적으로 생성되든(예컨대 항원 결합 단편(Fab), V_H 및 V_L을 함유하는 가변 단편(Fv), 하나의 쇄에서 함께 연결된 V_H 및 V_L을 함유하는 단일 쇄 가변 단편(scFv)뿐만 아니라 다른 항체 V 영역 단편, 예컨대 Fab', $F(ab)_2$, $F(ab')_2$, dsFv 다이어바디, Fc 및 Fd 폴리펩타이드 단편) 전장보다 적은 면역글로불린을 포함한다. 이중특이성 항체, 동종이중특이성 및 이종이중특이성은 상기 용어의 의미 내에 포함된다.

[0126] 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역글로불린 슈퍼패밀리" 또는 "IgSF"는 세포의 인식, 결합 또는 접착에 연루된 세포 표면 및 가용성 단백질의 그룹을 의미한다. 분자는 면역글로불린(즉, 항체)과의 공유된 구조적 특징에 기반한 이런 슈퍼패밀리의 구성원으로서 범주화되며; 이들은 모두 면역글로불린 도메인 또는 접힘으로서 알려진 도메인을 가진다. IgSF의 구성원은 세포 표면 항원 수용체, 공동 수용체 및 면역계의 공자극 분자, 림프구에 대한 항원 제시에 연루된 분자, 세포 접착 분자, 특정 사이토카인 수용체 및 세포내 근육 단백질을 포함한다. 이들은 통상적으로 면역계에서의 역할과 연관된다. 면역 시냅스 내 단백질은 종종 IgSF의 구성원이다. IgSF는 또한 공유된 특성, 예컨대 기능에 기반하여 "서브패밀리"로 분류될 수 있다. 이러한 서브패밀리는 전형적으로 4 내지 30명의 IgSF 구성원으로 이루어진다.

[0127] 본 명세서에서 사용되는 용어 "IgSF 도메인" 또는 "면역글로불린 도메인" 또는 "Ig 도메인"은 IgSF 단백질의 구조적 도메인을 지칭한다. Ig 도메인은 면역글로불린 분자 다음에 명명된다. 이들은 약 70 내지 110개의 아미노산을 함유하며, 이들의 크기 및 기능에 따라 범주화된다. Ig-도메인은 역평행 베타 가닥의 2개 시트에 의해 형성된 샌드위치-유사 구조를 갖는 특징적 Ig 접힘을 가진다. 샌드위치의 내측 상의 소수성 아미노산과 B 가닥과 F 가닥 내 시스테인 잔기 사이에 형성된 고도로 보존된 이황화 결합 사이의 상호작용은 Ig 접힘을 안정화시킨다. Ig 도메인의 한 말단은 리간드에 대한 항체의 특이성에 중요한 상보성 결정 영역으로 불리는 부문을 가진다. Ig 유사 도메인은 (하기 부류로) 분류될 수 있다: IgV, IgC(IgC1 또는 IgC2일 수 있음) 또는 IgI. 대부분의 Ig 도메인은 가변(IgV) 또는 불변(IgC) 중 하나이다. 9개의 베타 가닥을 갖는 IgV 도메인은 일반적으로 7개의 베타 가닥을 갖는 IgC 도메인보다 더 길다. IgSF의 일부 구성원의 Ig 도메인은 아미노산 서열 내 IgV 도메인과 유사하며, 또한 IgC 도메인의 크기와 유사하다. 이들은 IgC2 도메인으로 불리는 한편, 표준 IgC 도메인은 IgC1 도메인으로 불린다. T-세포 수용체(TCR) 쇄는 세포외 부분에서 2개의 Ig 도메인, 즉, N-말단에서 한 개의 IgV 도메인 및 세포막에 인접한 한 개의 IgC1 도메인을 함유한다. CTLA-4는 한 개의 Ig 도메인, 즉, IgV 도메인을 함유한다.

[0128] 본 명세서에 사용되는바와 같은 용어 "IgSF 종"은 동일한 또는 실질적으로 동일한 1차 아미노산 서열을 갖는 IgSF 구성원 단백질의 앙상블을 의미한다. 각각의 포유류 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 구성원은 IgSF 구성원

에 속하는 모든 IgSF 종의 독특한 정체를 정한다. 따라서, 각각의 IgSF 패밀리 구성원은 다른 IgSF 패밀리 구성원으로부터 독특하며, 따라서, 특정 IgSF 패밀리 구성원의 각각의 종은 다른 IgSF 패밀리 구성원의 종으로부터 독특하다. 그럼에도 불구하고, 동일한 IgSF 종을 갖는 분자 사이의 변화가 번역후 변형을 갖는 분자 사이의 변화, 예컨대 글리코실화, 인산화, 유비퀴틴화, 나이트로실화, 메틸화, 아세틸화 및 지질화의 차이에 기인하여 일어날 수 있다. 추가적으로, 유전자 다형성에 기인하는 단일 IgSF 종 내의 약간의 서열 차이는, 예를 들어, 단백질 분해 절단에 기인하여 IgSF 종의 야생형 절단 형태와 같이 단일 IgSF 종 내에서의 변형의 다른 형태를 구성한다. "세포 표면 IgSF 종"은 세포, 일반적으로 포유류 세포의 표면 상에서 발현되는 IgSF 종이다.

[0129] 포유류 림프구, 예컨대 T-세포와 관련하여 본 명세서에 사용되는 용어 "면역학적 활성"은 활성화, 세포 생존, 세포자멸사, 세포 증식, 세포 주기 저해, 사이토카인 생성(예를 들어, 인터페론-감마), 사이토카인 방출 또는 T 세포 세포독성 활성 중 하나 이상을 지칭한다. 일부 경우에, 면역학적 활성은 사이토카인, 예컨대 케모카인 또는 인터류킨의 세포 발현을 의미할 수 있다. 면역학적 활성의 향상 또는 억제를 결정하기 위한 분석은 배양 상청액 내 인터페론-감마 사이토카인 수준을 측정하는 MLR(혼합 림프구 반응) 분석(Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep: 2(9):846-56), SEB(스타필로코커스 엔테로톡신(staphylococcal enterotoxin) B), T 세포 자극 분석(Wang et al., *Cancer Immunol Res*, (2014) 2(9):846-56), 및 항-CD3 T 세포 자극 분석(Li and Kurlander, *J Transl Med,* (2010) 8:104)을 포함한다. T 세포 활성화가 IFN-감마 사이토카인의 분비와 연관되기 때문에, 이들 시험관내 인간 T 세포 분석으로부터 배양물 상청액에서 IFN-감마 수준을 검출하는 것은 상업적 ELISA 키트를 이용하여 분석될 수 있다(Wu et al., *Immunol Lett* (2008), 117(1):57-62). 면역 반응의 유도는 휴지 상태 림프구에 대해 면역학적 활성의 증가를 초래한다. 면역조절 단백질, 예컨대 본 명세서에 제공된 바와 같은 친화도 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 IgSF 구성원 또는 IgSF 도메인 대조군에 비해 1차 T 세포 분석에서 IFN-감마(인터페론-감마) 발현을, 일부 실시형태에서 감소시키거나, 대안의 실시형태에서 증가시킬 수 있다. 당업자는 IFN-감마 발현의 증가를 결정하기 위해 사용되는 1차 T 세포 분석의 형식이 IFN-감마 발현의 감소를 위한 분석을 위해 사용되는 것과 다를 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0130] 1차 T 세포 분석에서 IFN-감마 발현을 변경하는 본 발명의 면역조절 단백질 또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 능력에 대해 분석함에 있어서, 혼합 림프구 반응(MLR) 분석이 사용될 수 있다. 편리하게는, 일부 경우에, 본 발명의 친화도 변형된 IgSF 도메인의 가용성 형태는 MLR에서 IFN-감마 발현을 증가 또는 감소시키는 능력을 결정하는 데 사용될 수 있다. 대안적으로, 공동-고정화(co-immobilization) 분석이 사용될 수 있다. 공동 고정화 분석에서, 일부 실시형태에서 항-CD3 항체에 의해 제공되는 T-세포 수용체 신호는 공동 고정화된 친화도 변형된 IgSF 도메인, 예컨대 변이체 CTLA-4과 함께 사용되어, 야생형 IgSF 도메인 대조군에 비해 IFN-감마 발현을 증가 또는 감소시키는 능력을 결정한다. 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질의 활성을 평가하는 것을 포함하는, 조작된 세포의 면역학적 활성을 분석하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 적절한 동물 모델에서의, 항원 자극 후 T 세포 확장 또는 증식의 저해 또는 향상, 1차 및 2차 동종-자극 T 세포 증식의 저해, 및 자가 면역 활성, 예컨대 동종이식 생존 분석 및 항-공여자 항체 반응 분석을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 분석은 또한 표준 ^{51}Cr-방출 분석(예를 들어, 문헌[Milone et al., *Mol Ther* (2009), 17(8):1453-1464] 참조) 또는 유동 기반 세포독성 분석, 또는 임피던스 기반 세포독성 분석(Peper et al. (2014), *J Immunol Methods*, 405:192-198)을 비롯한, 세포독성을 평가하기 위한 분석을 포함한다.

[0131] "면역조절 폴리펩타이드" 또는 "면역조절 단백질"은 면역학적 활성을 조절하는 폴리펩타이드 또는 단백질 분자이다. 면역 반응의 "조절" 또는 "조절하는"은 면역학적 활성이 증가되거나 감소되는 것을 의미한다. 면역조절 단백질은 단일 폴리펩타이드 쇄, 또는 예를 들어, 쇄간 이황화 결합에 의해 서로 공유 결합되는 적어도 2개의 폴리펩타이드 쇄의 다량체(이량체 또는 더 고차의 다량체)일 수 있다. 따라서, 단량체, 이량체 및 더 고차의 다량체 폴리펩타이드는 정의된 용어의 범주 내이다. 다량체 폴리펩타이드는 (동일한 폴리펩타이드 쇄의) 동종다량체 또는 (비동일 폴리펩타이드 쇄의) 이형다량체일 수 있다. 본 발명의 면역조절 단백질은 변이체 CTLA-4를 포함한다.

[0132] 본 명세서에 사용되는 용어 "증가하다"는 통계학적으로 유의한 양만큼 증가하는 것을 의미한다. 증가는 대조군 값, 예컨대 0이 아닌 대조군 값보다 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 100% 초과일 수 있다.

[0133] CTLA-4의 "동형"은 아미노산 서열이 다른 복수의 천연 유래 CTLA-4 폴리펩타이드 중 하나이다. 동형은 단일 유전자에 의해 발현된 RNA 전사체의 스플라이스 변이체의 산물, 또는 기능적으로 유사한 단백질을 수득하는, 예컨대 유전자 중복으로부터 생길 수 있는 고도로 유사하지만 상이한 유전자의 발현 산물일 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 CTLA-4의 "동형"이라는 용어는 또한 CTLA-4 유전자의 상이한 대립유전자의 산물을 지칭한다.

[0134] 본 명세서에 사용되는 용어 "림프구"는 포유류 면역계에서 백혈구의 3가지 아형 중 어느 것을 의미한다. 이들은 자연 살해 세포(NK 세포)(세포-매개, 세포독성 선천성 면역에서 작용함), T 세포(세포-매개, 세포독성 적응성 면역에 대해), 및 B 세포(체액성, 체액성, 항체-유도 적응성 면역에 대해)를 포함한다. T 세포는 T 헬퍼 세포, 세포독성 T-세포, 자연 살해 T-세포, 기억 T-세포, 조절 T-세포 또는 감마 델타 T-세포를 포함한다. 선천성 림프구 세포(Innate lymphoid cell: ILC)는 또한 림프구의 정의 내에 포함된다.

[0135] 용어 "포유류" 또는 "환자"는 구체적으로는 인간, 침팬지, 레서스 원숭이, 사이노몰거스 원숭이, 개, 고양이, 마우스 또는 래트 중 적어도 하나에 대한 언급을 포함한다.

[0136] 본 명세서에 사용되는 용어 "막 단백질"은 생리적 조건 하에, 지질 이중층에 직접적으로 또는 간접적으로 부착되는 단백질을 의미한다. 막을 형성하는 지질 이중층은 생물학적 막, 예컨대 진핵생물(예를 들어, 포유류) 세포막 또는 인공(즉, 사람이 만든) 막, 예컨대 리포좀 상에서 발견되는 것일 수 있다. 지질 이중층에 대한 막 단백질의 부착은 공유적 부착에 의하거나, 또는 비공유적 상호작용, 예컨대 소수성 또는 정전기적 상호작용에 의할 수 있다. 막 단백질은 필수 막 단백질 또는 말초 막 단백질일 수 있다. 말초 막 단백질인 막 단백질은 지질 이중층에 비공유적으로 부착되거나 필수 막 단백질에 비공유적으로 부착된다. 포유류에서 생리적인 다양한 조건 하에, 말초 막 단백질이 지질 이중층으로부터 결합하고/하거나 해리될 수 있도록, 말초 막 단백질은 지질 이중층에 대한 일시적 부착을 형성한다. 말초 막 단백질과 대조적으로, 포유류에서 생리적인 다양한 조건 하에, 필수 막 단백질이 지질 이중층에 대한 이들의 부착으로부터 해리되지 않도록, 필수 막 단백질은 막의 지질 이중층에 대한 실질적으로 영구적인 부착을 형성한다. 막 단백질은 지질 이중층의 하나의 층에 의한 막에 대한 부착(단원성(monotopic))을 형성하거나, 막의 층 둘 다에 의해 부착될 수 있다(다원성(polytopic)). 단지 하나의 지질 이중층과 상호작용하는 필수 막 단백질은 "필수 단원성 단백질"이다. 지질 이중층 둘 다와 상호작용하는 필수 막 단백질은 대안적으로 본 명세서에서 "막관통 단백질"로 지칭되는 "필수 다원성 단백질"이다.

[0137] 면역 반응, 예컨대 포유류 면역 반응과 관련하여 본 명세서에 사용되는 용어 "조절하는" 또는 "조절하다"는 본 발명의 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드의 투여 결과로서 또는 면역조절 단백질, 예컨대 본 발명의 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질을 발현시키는 조작된 세포의 투여 결과로서 생기는 존재하는 또는 잠재적인 면역 반응의 임의의 변경, 예컨대 증가 또는 감소를 지칭한다. 따라서, 이는 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 단백질 또는 이러한 면역조절 폴리펩타이드를 발현시키는 세포의 부재 하에 생기거나 존재하는 면역 반응에 비해 면역 반응의 변경, 예컨대 증가 또는 감소를 지칭한다. 이러한 조절은 면역 세포의 면역학적 활성 정도 또는 수준의 임의의 유도, 활성화 또는 변경을 포함한다. 면역 세포는 B 세포, T 세포, NK(자연 살해) 세포, NK T 세포, 전문적 항원-제시 세포(APC) 및 비-전문적 항원-제시 세포, 및 염증 세포(호중구, 대식세포, 단핵구, 호산구 및 호염기구)를 포함한다.

[0138] 조절은 존재하는 면역 반응, 발생 중인 면역 반응, 잠재적 면역 반응, 또는 면역 반응을 유도하거나, 조절하거나, 영향을 미치거나 반응하는 능력에 대해 주어진 임의의 변화를 포함한다. 조절은 직접적 또는 간접적일 수 있다. 조절은 면역 반응의 부분으로서 면역 세포 내 유전자, 단백질 및/또는 다른 분자의 발현 및/또는 기능의 임의의 변경을 포함한다. 면역 반응의 조절 또는 면역학적 활성의 조절은, 예를 들어, 다음을 포함한다: 면역 세포의 제거, 결실 또는 격리; 자가반응성 림프구, 항원 제시 세포, 또는 염증 세포와 같은 다른 세포의 기능성 능력을 조절할 수 있는 면역 세포의 유도 또는 생성; 면역 세포의 비반응성 상태(즉, 아네르기)의 유도; 이들 세포에 의해 발현되는 단백질 패턴의 변경을 포함하지만, 이것으로 제한되지 않는 면역 세포의 활성 또는 기능의 향상 또는 억제. 예는 사이토카인, 케모카인, 성장 인자, 전사 인자, 키나제, 공자극 분자, 또는 다른 세포 표면 수용체와 같은 특정 부류의 분자의 변경된 생성 및/또는 분비 또는 이들 조절 사건의 임의의 조합을 포함한다. 조절은, 예를 들어, 1차 T 세포 분석에서 야생형 CTLA-4 대조군에 대해 IFN-감마(인터페론 감마) 발현의 변경에 의해 평가될 수 있다(문헌[Zhao et al. (2016), *Exp Cell Res*, 340(1):132-138] 차조). 조절, 예를 들어, 조작된 세포의 면역학적 활성의 변경, 예컨대 조작된 세포의 세포독성 활성의 변경 또는 야생형 CTLA-4 막관통 단백질에 의해 조작된 세포에 대해 조작된 세포의 사이토카인 분비의 변경이 평가될 수 있다.

[0139] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "분자 종"은 동일한 또는 실질적으로 동일한 1차 아미노산 서열을 갖는 단백질의 앙상블을 의미한다. 각각의 포유류 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 구성원은 동일한 또는 실질적으로 동일한 분자 종의 수집을 정한다. 따라서, 예를 들어, 인간 CTLA-4는 IgSF 구성원이고, 각각의 인간 CTLA-4 분자는 CTLA-4의 분자 종이다. 동일한 분자 종을 갖는 분자 사이의 변형은 번역 후 변형, 예컨대 글리코실화, 인산화, 유비퀴틴화, 나이트로실화, 메틸화, 아세틸화 및 지질화의 차이에 기인하여 일어날 수 있다. 추가적으로, 유전자 다형성에 기인하는 단일 분자 종 내의 약간의 서열 차이는, 예를 들어, 단백질분해 절단에 기인하는 단일 분자 종의 야생형 절단 형태에서와 같은 단일 분자 종 내의 다른 형태의 변형을 구성한다. "세포 표면 분자

종"은 포유류 세포 표면 상에서 발현된 분자 종이다. 2가지 이상의 상이한 종의 단백질은 서로 "시스"이거나 "시스 입체배치"가 되는 것으로 언급되며, 이들 각각은 IS를 형성하는 2가지의 포유류 세포 중 하나 또는 배타적으로 다른 하나(그러나 둘 다는 아님) 상에서 배타적으로 존재한다. 2가지 상이한 종의 단백질은 "트랜스" 또는 "트랜스 입체배치"가 되는 것으로 언급되며, 이 중 첫 번째는 IS를 형성하는 2가지의 포유류 세포 중 하나 상에 배타적으로 존재하고, 이 중 두 번째는 IS를 형성하는 2가지의 포유류 세포 중 두 번째 상에 배타적으로 존재한다. 2가지 종의 단백질은 이들 세포 상에서 시스와 트랜스 입체배치 둘 다이며, 이들 각각은 IS를 형성하는 2가지의 포유류 세포 둘 다에 존재한다.

[0140] 용어 "다량체화 도메인"은 폴리펩타이드 분자와 하나 이상의 추가적인 폴리펩타이드 분자와의 안정한 상호작용을 촉진시키는 아미노산의 서열을 지칭하며, 각각은 동일 또는 상이한 다량체화 도메인일 수 있는 상보적 다량체화 도메인(예를 들어, 제1 다량체화 도메인 및 제2 다량체화 도메인)을 함유한다. 상보성 다량체화 도메인 사이의 상호작용, 예를 들어, 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인 사이의 상호작용은 추가적인 폴리펩타이드 분자를 갖는 폴리펩타이드 분자의 다량체를 생성하기 위해 안정한 단백질-단백질 상호작용을 형성한다. 일부 경우에, 다량체화 도메인은 동일하며, 그 자체와 상호작용하여 두 폴리펩타이드 쇄 사이의 안정한 단백질-단백질 상호작용을 형성한다. 일반적으로, 폴리펩타이드는 다량체화 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 결합된다. 예시적인 다량체화 도메인은 면역글로불린 서열 또는 이의 일부, 류신 지퍼, 소수성 영역, 친수성 영역 및 양립 가능한 단백질-단백질 상호작용 도메인을 포함한다. 다량체화 도메인은, 예를 들어, 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 아형, IgA, IgE, IgD 및 IgM 및 이들의 변형된 형태를 비롯한 IgG로부터의 Fc 도메인 또는 이의 일부일 수 있다.

[0141] 용어 "핵산" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 단일- 또는 이중-가닥 형태로 핵산 잔기의 중합체(예를 들어, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드)를 지칭하기 위해 상호 호환적으로 사용된다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 상기 용어는 천연 뉴클레오타이드의 알려진 유사체를 함유하는 핵산을 포함하고, 유사한 결합 특성을 가지며, 천연 유래 뉴클레오타이드와 유사한 방식으로 대사된다. 달리 나타내지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 이의 보존적으로 변형된 변이체(예를 들어, 축퇴 코돈 치환) 및 상보성 뉴클레오타이드 서열뿐만 아니라 명확하게 표시된 서열("기준 서열")을 명확하게 포함한다. 구체적으로는, 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈의 제3 위치는 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환되는 서열을 생성함으로써 축퇴 코돈 치환이 달성될 수 있다. 용어 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 유전자에 의해 암호화된 cDNA 또는 mRNA를 포함한다.

[0142] 본 명세서에서 사용되는 용어 "비-경쟁적 결합"은 적어도 2개의 결합 상대와 동시에 특이적으로 결합하는 단백질의 능력을 의미한다. 따라서, 단백질은 적어도 2개의 상이한 결합 상대와 동시에 결합할 수 있지만, 일부 경우에, 단백질이 결합 상대 중 하나에만 특이적으로 결합하도록, 동일한 지속 기간 동안 결합 상호작용은 필요하지 않다. 일부 실시형태에서, 결합은 특이적 결합 조건 하에 일어난다. 일부 실시형태에서, 동시 결합은 하나의 결합 상대의 결합이 제2 결합 상대에 대한 동시 결합을 저해하지 않도록 한다. 일부 실시형태에서, 비-경쟁적 결합은 단백질 상의 결합 부위에 대한 제2 결합 상대의 결합이 단백질 상의 결합 부위에 대한 제1 결합 상대의 부위를 대신하지 않는다는 것을 의미한다. 비-경쟁적 결합을 평가하는 방법은 문헌[Perez de la Lastra et al. (1999), *Immunology*, 96(4): 663-670]에 기재된 방법과 같이 당업계에 잘 공지되어 있다. 일부 경우에, 비경쟁적 상호작용에서, 제2 결합 상대의 결합이 제1 결합 상대의 결합을 직접적으로 방해하지 않도록 제1 결합 상대는 제2 결합 상대의 상호작용 부위와 중복되지 않는 상호작용 부위에서 특이적으로 결합한다. 따라서, 제2 결합 상대의 결합에 의한 결합 상대의 효과에 대한 임의의 효과는 제1 결합 상대의 결합과의 직접적인 간접 이외의 메커니즘을 통한다. 예를 들어, 효소-기질 상호작용과 관련하여, 비경쟁적 저해제는 효소의 활성 부위 이외의 부위에 결합한다. 비-경쟁적 결합은 제2 결합 상대가 제1 결합 상대의 결합과 중복되지 않는 상호작용 부위에 특이적으로 결합하지만 제1 상호작용 부위가 제1 결합 상태에 의해 점유될 때에만 제2 상호작용 부위에 결합하는 비경쟁적 결합 상호작용을 포함한다.

[0143] 용어 "약제학적 조성물"은 포유류 대상체, 종종 인간에서의 약제학적 용도에 적합한 조성물을 지칭한다. 약제학적 조성물은 전형적으로 유효량의 활성제(예를 들어, 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드 또는 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질) 및 담체, 부형제 또는 희석제를 포함한다. 담체, 부형제 또는 희석제는 전형적으로 각각 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제이다.

[0144] 용어 "폴리펩타이드"와 "단백질"은 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 펩타이드 결합을 통해 연결된 2개 이상의 아미노산의 분자 쇄를 지칭한다. 상기 용어는 생성물의 구체적 길이를 지칭하지 않는다. 따라서, "펩타이드" 및 "올리고펩타이드"는 폴리펩타이드의 정의 내에 포함된다. 상기 용어는 폴리펩타이드의 번역 후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등을 포함한다. 상기 용어는 또한 공지된 단백질 조작 기법을 이용하

여 합성되거나 재조합적으로 발현될 수 있는 하나 이상의 아미노산 유사체 또는 비정규 또는 비천연 아미노산이 포함되는 분자를 포함한다. 추가로, 단백질은 유도체화될 수 있다.

[0145] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "1차 T-세포 분석"은 인터페론-감마 ("IFN-감마") 발현을 측정하기 위한 시험관내 분석을 지칭한다. 다양한 이러한 1차 T-세포 분석은 당업계에 공지되어 있다. 바람직한 실시형태에서, 사용된 분석은 항-CD3 공동 고정화 분석이다. 이 분석에서, 1차 T 세포는 추가적인 재조합 단백질과 함께 또는 이것 없이 고정된 항-CD3에 의해 자극된다. 배양물 상청액은 시점, 보통 24 내지 72시간에 채취된다. 다른 실시형태에서, 사용한 분석은 MLR이다. 본 분석에서, 1차 T 세포는 동종이계 APC로 자극된다. 배양물 상청액은 시점, 보통 24 내지 72시간에 채취된다. 인간 IFN-감마 수준은 표준 ELISA 기법에 의해 배양물 상청액에서 측정된다. 상업적 키트는 공급업자로부터 입수 가능하며, 분석은 제조업자의 권장에 따라 수행된다.

[0146] 본 발명의 면역조절 단백질을 암호화하는 것과 같은 핵산에 적용되는 용어 "정제된"은 일반적으로 당업계에 잘 공지된 분석 기법에 의해 결정된 다른 성분에 의해 결정된 다른 성분이 실질적으로 없는 핵산 또는 폴리펩타이드를 의미한다(예를 들어, 정제된 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드는 전기영동 겔, 크로마토그래피 용출액, 및/또는 밀도 구배 원심분리 처리된 배지에서 별개의 밴드를 형성한다). 예를 들어, 전기영동 겔에서 본질적으로 하나를 생기게 하는 핵산 또는 폴리펩타이드는 "정제된다". 본 발명의 정제된 핵산 또는 단백질은 적어도 약 50% 순수, 보통 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 99% 이상 순수(예를 들어, 중량% 또는 몰 기준)하다.

[0147] 용어 "재조합"은 물질(예를 들어, 핵산 또는 폴리펩타이드)이 인간 개입에 의해 인공적으로(즉, 비자연적으로) 변경된 것을 나타낸다. 변경은 천연 환경 또는 상태 내의 또는 이로부터 제거된 물질에 대해 수행될 수 있다. 예를 들어, "재조합 핵산"은, 예를 들어, 클로닝, 친화도 변형, DNA 셔플링 또는 다른 잘 공지된 분자 생물학 절차 동안 재조합 핵산에 의해 생성된 것이다. "재조합 DNA 분자"는 이러한 분자 생물학 기법에 의해 함께 결합된 DNA의 세그먼트를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "재조합 단백질" 또는 "재조합 폴리펩타이드"는 재조합 DNA 분자를 이용하여 발현되는 단백질 분자를 지칭한다. "재조합 숙주 세포"는 재조합 핵산을 함유하고/하거나 발현시키는 세포, 또는 유전자 조작에 의해, 예컨대 재조합 단백질, 예컨대 막관통 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 세포에 도입함으로써 달리 변경된 세포이다. 진핵생물에서 전사 제어 신호는 "프로모터" 및 "인핸서" 요소를 포함한다. 프로모터 및 인핸서는 전사에 연루된 세포 단백질과 특이적으로 상호작용하는 DNA 서열의 짧은 어레이로 이루어진다. 프로모터 및 인핸서 요소는 효모, 곤충 및 포유류 세포 및 바이러스에서 유전자를 포함하는 다양한 진핵생물 공급원으로부터 단리되었다(유사한 제어 요소, 즉, 프로모터가 또한 원핵생물에서 발견됨). 특정 프로모터 및 인핸서의 선택은 관심 대상의 단백질을 발현시키기 위해 어떤 세포 유형이 사용되는지에 의존한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "작동 가능한 조합에서", "작동 가능한 순서로" 및 "작동 가능하게 연결된"은 주어진 유전자의 전사 및/또는 목적하는 단백질 분자의 합성을 지시할 수 있는 핵산 분자가 생성되는 방식 또는 배향으로 핵산 서열의 결합을 지칭한다.

[0148] 본 명세서에서 사용되는 용어 "재조합 발현 벡터"는 특정 숙주 세포에서 작동 가능하게 연결된 암호 서열의 발현에 필수적인 목적하는 암호 서열 및 적절한 핵산 서열을 함유하는 DNA 분자를 지칭한다. 원핵생물에서 발현에 필수적인 핵산 서열은 프로모터, 선택적으로 오퍼레이터 서열, 리보솜 결합 부위 및 가능하게는 다른 서열을 포함한다. 프로모터, 인핸서 및 종결 및 폴리아데닐화 신호를 이용하는 진핵 세포는 공지되어 있다. 발현된 융합 단백질이 원한다면 세포로부터 융합 단백질의 더 용이한 단리를 위해 재조합 숙주 세포에 의해 분비될 수 있도록, 분비 신호 펩타이드 서열은 또한 재조합 단백질, 예컨대 재조합 융합 단백질에 대한 암호 서열에 작동 가능하게 연결된 재조합 발현 벡터에 의해 선택적으로 암호화될 수 있다. 상기 용어는 자기-복제 핵산 구조로서의 벡터뿐만 아니라 벡터가 도입되는 숙주 세포의 게놈 내로 혼입된 벡터를 포함한다. 벡터 중에 바이러스 벡터, 예컨대 렌티바이러스 벡터가 있다.

[0149] 용어 "선택성"은 다른 기질, 예컨대 대상 단백질의 상이한 결합 상대에 대한 특이적 결합에 비해, 하나의 기질, 예컨대 하나의 결합 상대의 특이적 결합에 대한 대상 단백질 또는 폴리펩타이드의 선호도를 지칭한다. 선택성은 대상 단백질 및 제1 기질, 예컨대 제1 결합 상대의 결합 활성(예를 들어, 결합 친화도)(예를 들어, K_{d1}) 및 제2 결합 상대의 동일한 대상 단백질의 결합 활성(예를 들어, 결합 친화도)(예를 들어, K_{d2})의 비로서 반영될 수 있다.

[0150] 본 명세서에서 사용되는 용어 "서열 동일성"은 뉴클레오타이드 또는 아미노산 수준에서 각각 유전자 또는 단백질 사이의 서열 동일성을 지칭한다. "서열 동일성"은 아미노산 수준에서 단백질 사이의 동일성 측정 및 뉴클레오타이드 수준에서 핵산 사이의 동일성 측정이다. 단백질 서열 동일성은 서열이 정렬될 때 각각의 서열 내 주어

진 위치에서 아미노산 서열을 비교함으로써 결정될 수 있다. 유사하게, 핵산 서열 동일성은 서열이 정렬될 때 각각의 서열 내 주어진 위치에서 뉴클레오타이드 서열을 비교함으로써 결정될 수 있다. 비교를 위한 서열 정렬 방법은 당업계에 잘 공지되어 있고, 이러한 방법은 GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA 및 TFASTA를 포함한다. BLAST 알고리즘은 서열 동일성%를 계산하며, 두 서열 사이의 유사성의 통계학적 분석을 수행한다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립생물공학정보센터(NCBI) 웹사이트를 통해 공중이 이용 가능하다.

[0151] 단백질과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "가용성"은 단백질이 막 단백질이 아니라는 것을 의미한다. 일반적으로, 가용성 단백질은 IgSF 패밀리 구성원 수용체의 세포외 도메인, 또는 IgSF 도메인을 함유하는 이의 일부 또는 도메인 또는 이의 특이적-결합 단편만을 함유하지만, 막관통 도메인을 함유하지 않고/않거나 세포 표면상에서 발현될 수 없다. 일부 경우에, 단백질의 가용성은 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 Fc 도메인 또는 다른 모이어티에 대한 결합 또는 부착에 의해 개선될 수 있는데, 일부 경우에, 또한 단백질의 안정성 및/또는 반감기를 개선시킬 수 있다. 일부 양상에서, 가용성 단백질은 Fc 융합 단백질이다.

[0152] 폴리펩타이드 또는 핵산에 대해 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "종"은 동일한 또는 실질적으로 동일한 서열을 갖는 분자의 앙상블을 의미한다. 동일한 종의 폴리펩타이드 사이의 변형은 번역 후 변형, 예컨대 글리코실화, 인산화, 유비퀴틴화, 나이트로실화, 메틸화, 아세틸화 및 지질화의 차이에 기인하여 일어날 수 있다. 1, 2 또는 3개 이하의 아미노산 잔기에 의해 아미노-말단 또는 카복시-말단에서 전장 종과 다른(또는 차이를 암호화하는) 폴리펩타이드의 약간 절단된 서열은 단일 종인 것으로 간주된다. 이러한 미세이질성(microheterogeneity)은 제조된 단백질의 통상적인 특징이다.

[0153] 전장 야생형 포유류 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 IgV 도메인에 관해 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "특이적 결합 단편"은 전장 폴리펩타이드 또는 IgV 도메인의 부분서열(subsequence)을 갖고, 시험관내 및/또는 생체내에서 포유류 ICOSL, 포유류 CD80, 및/또는 포유류 CD86, 예컨대 인간 또는 뮤린 ICOSL, CD80 또는 CD86에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드를 의미한다. 일부 실시형태에서, 특이적 결합 단편은 전장 야생형 서열 또는 이의 IgV 서열의 적어도 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 길이인 CTLA-4 IgV 부분서열을 포함한다. 특이적 결합 단편은 서열에서 변경되어 본 발명의 변이체 CTLA-4를 형성할 수 있다.

[0154] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "특이적으로 결합하는"은 친화도 또는 결합활성이 충분한 통계학적 크기의 무작위 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 수집에 대해 동일한 단백질의 평균 친화도 또는 결합활성의 적어도 5배만큼 크지만, 선택적으로 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 100, 250 또는 500배, 또는 심지어 적어도 1000배만큼 크도록, 특이적 결합 조건 하에 표적 단백질에 결합하는 능력을 의미한다. 특이적으로 결합하는 단백질은 단일 표적 분자에 배타적으로 결합할 필요는 없지만, 표적과 비표적 사이의 구조적 입체배좌(예를 들어, 파라로그 또는 오솔로그)의 유사성에 기인하여 비표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있다. 당업자는 동물의 상이한 종에서 동일한 기능을 갖는 분자(즉, 오솔로그)에 대한 또는 표적 분자와 실질적으로 유사한 에피토프를 갖는 비표적 분자(예를 들어, 파라로그)에 대한 특이적 결합이 가능하며, 독특한 비표적(예를 들어, 무작위 폴리펩타이드)의 통계적으로 타당한 수집에 대해 결정되는 결합의 특이성으로부터 손상되지 않는다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드는 교차 반응성에 기인하는 표적 분자의 하나 초과의 별개의 종에 특이적으로 결합할 수 있다. 고체상 ELISA 면역분석, 포르테바이오 옥텟(ForteBio Octet)(등록상표) 또는 비아코어(Biacore)(등록상표) 측정은 두 단백질 사이의 특이적 결합을 결정하는 데 사용될 수 있다. 일반적으로, 두 결합 단백질 사이의 상호작용은 1×10^{-5}M 미만, 종종 1×10^{-12}M만큼 낮은 해리 상수(K_d)를 가진다. 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 두 결합 단백질 사이의 상호작용은 해리 상수가 약 1×10^{-6}M 이하, 1×10^{-7}M, 1×10^{-8}M, 1×10^{-9}M, 1×10^{-10}M 또는 1×10^{-11}M 이하이다.

[0155] 폴리펩타이드를 발현시키는 포유류 세포에 관해 용어 "표면 발현시키는", "표면 발현" 또는 "표면 상에서 발현된"은 폴리펩타이드가 막 단백질로서 발현된다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 막 단백질은 막관통 단백질이다.

[0156] 예를 들어, 합성 핵산 분자 또는 합성 유전자 또는 합성 펩타이드에 관해 본 명세서에서 사용되는 "합성"은 재조합 방법에 의해 그리고/또는 화학적 합성 방법에 의해 생성되는 핵산 분자 또는 폴리펩타이드 분자를 지칭한다.

[0157] 본 명세서에서 사용되는 용어 "표적화 모이어티"는 본 발명의 변이체 CTLA-4를 포함하는 폴리펩타이드에 공유적으로 또는 비공유적으로 부착되거나 물리적으로 캡슐화하는 조성물을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 표적화 모

이어티는 표적 분자, 예컨대 세포 상에서 발현되는 표적 분자에 대한 특이적 결합 친화도를 가진다. 전형적으로, 표적 분자는 특이적 조직 또는 세포 유형 상에서 국소화된다. 표적화 모이어티는 항체, 항원 결합 단편(Fab), V_H 및 V_L을 함유하는 가변 단편(Fv), 하나의 쇄에서 함께 연결된 V_H 및 V_L을 함유하는 단일 쇄 가변 단편(scFv)뿐만 아니라 다른 항체 V 영역 단편, 예컨대 Fab', $F(ab)_2$, $F(ab')_2$, dsFv 다이어바디, 나노바디, 가용성 수용체, 수용체 리간드, 친화도 성숙 수용체 또는 리간드뿐만 아니라 소분자(500 달톤 미만) 조성물(예를 들어, 특이적 결합 수용체 조성물)을 포함한다. 표적화 모이어티는 또한 본 발명의 폴리펩타이드를 캡슐화하는 리포좀의 지질 막에 공유적으로 또는 비공유적으로 부착될 수 있다.

[0158] 본 명세서에 사용되는 용어 "막관통 단백질"은 지질 이중층, 예컨대 포유류 세포와 같은 생물학적 막에서 또는 리포좀과 같은 인공 작제물에서 발견되는 해당 지질 이중층에 실질적으로 또는 완전히 걸쳐 있는 막 단백질을 의미한다. 막관통 단백질은 지질 이중층 내로 통합되고 생리적 조건 하에서 통합이 열역학적으로 안정한 막관통 도메인("막관통 도메인")을 포함한다. 막관통 도메인은 일반적으로 수성 환경(예를 들어, 사이토졸, 세포외 유체)과 상호작용하는 단백질의 영역에 비해 상승된 소수성에 기반한 다수의 상업적으로 입수 가능한 생물정보학적 소프트웨어를 통해 아미노산 서열로부터 예측 가능하다. 막관통 도메인은 종종 막에 걸쳐 있는 소수성 알파 나선이다. 막관통 단백질은 지질 이중층의 층 둘 다를 1회 또는 다회 통과할 수 있다. 막관통 단백질은 본 명세서에 기재된 제공된 막관통 면역조절 단백질을 포함한다. 막관통 도메인에 추가로, 본 발명의 막관통 면역조절 단백질은 추가로 엑토도메인, 및 일부 실시형태에서, 엔도도메인을 포함한다.

[0159] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 질환 또는 장애의 "치료하는", "치료" 또는 "요법"이라는 용어는 임상 또는 진단 증상의 감소, 중단 또는 제거에 의해, 단독으로 또는 본 명세서에 기재된 다른 화합물과 병용하여 본 발명의 치료적 조성물(예를 들어, 면역조절 단백질 또는 조작된 세포를 함유)의 투여에 의해 증명되는 바와 같은 질환 또는 장애 진행의 늦춤, 중단 또는 반전을 의미한다. "치료하는", "치료" 또는 "요법"은 또한 급성 또는 만성 질환 또는 장애에서 증상 중증도의 감소 또는 예를 들어, 자가면역 질환 과정의 재발 또는 경감의 경우에 재발률의 감소 또는 자가면역 질환의 염증 양상의 경우에 염증의 감소를 의미한다. "치료하는", "치료" 또는 "요법"은 또한 염증 및/또는 이식 거부와 연관된 다른 증상의 감소를 의미할 수 있다.

[0160] 암과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 암을 "치료" 또는 "저해하다" "저해하는" 또는 "저해"라는 용어는 고형 종양에 대한 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria for Solid Tumor: RECIST), 또는 무진행의 생존(progression free survival: PFS) 또는 전반적 생존(overall survival: OS)의 통계학적으로 유의한 증가와 같지만, 이들로 제한되지 않는 표준 기준에 의해 측정하여, 종양 성장 속도의 통계적으로 유의한 감소, 종양 성장의 중단, 또는 크기, 질량, 대사 활성 또는 종양 용적의 감소 중 적어도 하나를 지칭한다.

[0161] 본 발명과 관련하여 사용되는 질환 또는 장애를 "예방하는", "예방" 또는 "방지"는 질환 또는 장애, 또는 질환 또는 장애 증상 중 일부 또는 모두의 발생 또는 개시를 방지하기 위한 또는 질환 또는 장애의 개시 가능성을 줄이기 위한, 단독으로 또는 다른 화합물과 병용한 본 발명의 면역조절 폴리펩타이드 또는 조작된 세포의 투여를 지칭한다.

[0162] 본 명세서에서 사용되는 용어 "종양 특이적 항원" 또는 "TSA"는 포유류 대상체의 종양 세포 상에서 주로 존재하지만, 일반적으로 포유류 대상체의 정상 세포 상에서 발견되지 않는 상대-구조를 지칭한다. 종양 특이적 항원은 종양 세포에 배타적일 필요는 없지만, 항 종양 치료제, 예컨대 본 발명의 면역조절 폴리펩타이드에 의해 표적화될 수 있고, 종양 효과로부터 포유류의 예방 또는 치료를 제공할 수 있도록, 종양 특이적 항원을 갖는 특정 포유류 세포의 백분율이 충분히 높다. 일부 실시형태에서, 종양을 갖는 포유류로부터의 세포의 무작위 통계학적 샘플에서, TSA를 나타내는 세포의 적어도 50%는 암성이다. 다른 실시형태에서, TSA를 나타내는 세포의 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%는 암성이다.

[0163] 변이체 CTLA-4에 관해 사용되는 용어 "변이체"(또한 "변형된" 또는 돌연변이체")는 인간 개입에 의해 생성된 CTLA-4, 예컨대 포유류(예를 들어, 인간 또는 뮤린) CTLA-4를 의미한다. 변이체 CTLA-4는 비변형 또는 야생형 CTLA-4에 대해 변경된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드이다. 변이체 CTLA-4는 하나 이상의 변형, 예컨대 하나 이상의 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 이들의 조합에 의해 야생형 CTLA-4 동형 서열과 상이한 폴리펩타이드이다. 본 명세서의 목적을 위해, 변이체 CTLA-4는 적어도 하나의 친화도 변형된 도메인을 함유함으로써, IgSF 도메인(예를 들어, IgV 도메인)에서 아미노산 차이 중 하나 이상이 생긴다. 변이체 CTLA-4는 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, 30개 이상의 아미노산 차이, 예컨대 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 일반적으로 대응하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4, 예컨대 서열번호 1의 서열, 이의 성숙 서열(신호 서열을 결여) 또는 세포외 도메인

또는 이의 IgSF 도메인을 함유하는 이의 일부에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 서열번호 3에 제시된 서열을 포함하는 대응하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 대해 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타낸다. 비천연 유래 아미노산뿐만 아니라 천연 유래 아미노산은 허용 가능한 치환 또는 첨가의 범주 내에 포함된다. 변이체 CTLA-4는 임의의 특정 제조 방법으로 제한되지 않으며, 예를 들어, 드노보 화학적 합성, 드노보 재조합 DNA 기법, 또는 이들의 조합을 포함한다. 본 발명의 변이체 CTLA-4는 포유류 종의 ICOSL, CD80 및/또는 CD86에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 변경된 아미노산 서열은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 단백질에 비해 ICOSL; CD80; CD86; CD80 및 CD86; ICOSL 및 CD80; ICOSL 및 CD86; 및/또는 ICOSL, CD80 및 CD86에 대해 변경된(즉, 증가된 또는 감소된) 결합 친화도 또는 결합활성을 초래한다. 결합 친화도 또는 결합활성의 증가 또는 감소는 잘 공지된 결합 분석, 예컨대 유세포 분석을 이용하여 결정될 수 있다. 이러한 분석은 문헌[Larsen et al., *Am J Transplant*, 5(3):443-453(2005) 및 Linsley et al., *Immunity*, 1(9):793-801(1994)]에 기재되어 있다.

[0164] ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 대한 변이체 CTLA-4 결합 친화도 또는 결합활성의 증가는 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 대한 결합 친화도 또는 결합활성보다 적어도 5% 초과인 값이며, 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 대조군 값의 결합 친화도 또는 결합활성보다 적어도 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 100% 초과이다. ICOSL, CD80 및/또는 CD86에 대한 CTLA-4 결합 친화도 또는 결합활성의 감소는 야생형 또는 비변형 대조군 값의 95% 이하의 값이며, 일부 실시형태에서 야생형 또는 비변형 대조군 값의 80%, 70% 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% 이하, 또는 검출 가능하지 않은 결합 친화도 또는 결합활성이다. 변이체 CTLA-4는 아미노산 잔기의 치환, 첨가 또는 결실에 의해 1차 아미노산 서열에서 변경된다.

[0165] 변이체 CTLA-4와 관련하여 용어 "변이체"가 변이체 CTLA-4가 생성되는 임의의 특정 출발 조성물 또는 방법에 대한 임의의 조건을 부여하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 변이체 CTLA-4는, 예를 들어, 야생형 포유류 CTLA-4 서열 정보로부터 시작해서 생성될 수 있고, 이어서, ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 대한 결합을 위해 인실리코로 모델링되며, 최종적으로, 재조합적으로 발현되거나 화학적으로 합성되어 본 발명의 변이체 CTLA-4를 수득한다. 대안의 예에서, 변이체 CTLA-4는 야생형 CTLA-4의 부위-지정 돌연변이유발에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 변이체 CTLA-4는 조성물을 나타내며 반드시 임의의 주어진 과정에 의해 생성된 생성물을 나타내지는 않는다. 재조합 방법, 화학적 합성 또는 이들의 조합을 포함하는 다양한 기법이 사용될 수 있다.

[0166] 본 명세서에서 사용되는 용어 "야생형" 또는 "자연적" 또는 "천연"은 생물학적 물질, 예컨대, 핵산 분자, 단백질(예를 들어, CTLA-4), IgSF 구성원, 숙주 세포 등과 함께 사용되며, 천연에서 발견되고 인간 개입에 의해 변형되지 않은 것을 지칭한다.

[0167] **II. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드**

[0168] 본 명세서에서 CTLA-4 결합 상대 중 하나 이상에 대해 변경된(증가 또는 감소된) 결합 활성 또는 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 결합 상대는 ICOSL, CD80 및/또는 CD86 중 하나 이상이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 결합 상대는 ICOSL이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4의 하나 이상의 결합 상대는 ICOSL 및 CD80 또는 CD86이다. 일부 실시형태에서, CTLA-4의 하나 이상의 결합 상대는 ICOSL, CD80 및 CD86이다.

[0169] CTLA-4는 면역글로불린 도메인 또는 접힘으로서 알려진 도메인(본 명세서에서 이후에 "면역글로불린 슈퍼패밀리 도메인" 또는 IgSF 도메인)을 모두 갖는 단백질의 패밀리인 단백질의 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. 일부 실시형태에서, 다른 IgSF 패밀리 구성원은 신호-조절 단백질(SIRP) 패밀리, 골수 세포 유사(TREML) 패밀리 상에서 발현된 촉발 수용체, 암배 항원-관련 세포 접착 분자(CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴(SIGLEC) 패밀리, 뷰티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유(VSIG) 패밀리, V-세트 막관통 도메인(VSTM) 패밀리, 주조직 적합 복합체(MHC) 패밀리, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체(LIR), 넥틴(Nectin)(Nec) 패밀리, 넥틴-유사(NECL) 패밀리, 폴리오바이러스 수용체 관련(PVR) 패밀리, 천연 세포독성 촉발 수용체(NCR) 패밀리, T 세포 면역글로불린 및 뮤신(TIM) 패밀리 또는 살해-세포 면역글로불린-유사 수용체(KIR) 패밀리로부터의 구성원을 포함한다. 일부 실시형태에서, 다른 IgSF 패밀리 구성원은 CD80(B7-1), CD86(B7-2), CD274(PD-L1, B7-H1), PDCD1LG2(PD-L2, CD273), ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2), CD276(B7-H3), VTCN1(B7-H4), CD28, PDCD1(TIGIT), ICOS, BTLA(CD272), CD4, CD8A (CD8-알파), CD8B (CD8-베타), LAG3, HAVCR2(TIM-3), CEACAM1, TIGIT, PVR(CD155),

PVRL2(CD112), CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R1(CD200R) 및 NCR3(NKp30)을 포함한다.

[0170] 표 1은 IgSF 패밀리의 예시적 구성원을 요약한다. 표 1의 첫 번째 열은 명칭 및 선택적으로 특정 IgSF 구성원에 대해 일부 가능한 동의어 명칭을 제공한다. 두 번째 열은 uniprot.org에서 인터넷을 통해 접근 가능한 공중이 이용 가능한 데이터베이스인 UniProtKB 데이터베이스의 단백질 식별자 또는 일부 경우에, 젠뱅크 번호(GenBank Number)를 제공한다. 유니버셜 프로테인 리소스(Universal Protein Resource: UniProt)는 단백질 서열 및 주석 데이터에 대한 종합적인 자원이다. 유니프롯(UniProt) 데이터베이스는 유니프롯 지식베이스(UniProt Knowledgebase: UniProtKB)를 포함한다. 유니프롯은 유럽 생물정보학 연구소(European Bioinformatics Institute: EMBL-EBI), SIB 스위스 생물정보학 연구소(SIB Swiss Institute of Bioinformatics)와 단백질 정보 자원(Protein Information Resource: PIR) 간의 공동 작업물이고, 미국 국립보건원(U.S. National Institutes of Health: NIH)으로부터의 승인에 의해 주로 지원된다. 젠뱅크는 모든 공중이 입수 가능한 DNA 서열의 주석이 달린 수집물인 NIH 유전자 서열 데이터베이스이다(Nucleic Acids Research, 2013 Jan;41(D1):D36-42). 세 번째 열은 표시된 IgSF 도메인이 위치되는 영역을 제공한다. 영역은 도메인이 범위를 정하는 잔기를 포함하는 범위로서 구체화된다. 열 3은 또한 구체화된 IgSF 영역에 대한 IgSF 도메인 분류를 나타낸다. 열 4는 표시된 추가적인 도메인이 위치되는 영역을 제공한다(신호 펩타이드, S; 세포외 도메인, E; 막관통 도메인, T; 세포질 도메인, C). 도메인의 설명은 도메인을 식별하거나 분류하기위해 사용되는 방법에 따라 다를 수 있으며, 공급원이 상이하면 다르게 식별될 수 있다는 것이 이해된다. 표 1의 도메인에 대응하는 잔기의 설명은 단지 예시를 위한 것이며, 더 길거나 더 짧은 몇몇 아미노산(예컨대, 1, 2, 3 또는 4개)일 수 있다. 열 5는 열거된 IgSF 구성원의 일부, 이의 결합 상대의 일부를 나타낸다.

표 1

[0171]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
CD80 (B7-1)	NP_005182.1 P33681	35-135, 35-138 or 37-138 IgV, 145-230 또는 154-232 IgC	S: 1-34, E: 35-242, T: 243-263, C: 264-288	CD28, CTLA4, PD-L1	443 (35-288)	470	498

[0172]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
CD86 (B7-2)	P42081.2	33-131 IgV, 150-225 IgC2	S: 1-23, E: 24-247, T: 248-268, C: 269-329	CD28, CTLA4	444 (24-329)	471	499
CD274 (PD-L1, B7-H1)	Q9NZQ7.1	19-127, 24-130 IgV, 133-225 IgC2	S: 1-18, E: 19-238, T: 239-259, C: 260-290	PD-1, B7-1	445 (19-290)	472	500
PDCD1LG2 (PD-L2, CD273)	Q9BQ51.2	21-118 IgV, 122-203 IgC2	S: 1-19, E: 20-220, T: 221-241, C: 242-273	PD-1, RGMb	446 (20-273)	473	501
ICOSLG (B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2)	O75144.2	19-129 IgV, 141-227 IgC2	S: 1-18, E: 19-256, T: 257-277, C: 278-302	ICOS, CD28, CTLA4	447 (19-302)	474	502
CD276 (B7-H3)	Q5ZPR3.1	29-139 IgV, 145-238 IgC2, 243-357 IgV2, 367-453, 363-456 IgC2	S: 1-28, E: 29-466, T: 467-487, C: 488-534		448 (29-534)	475	503
VTCN1 (B7-H4)	Q7Z7D3.1	35-146 IgV, 153-241 IgV	S: 1-24, E: 25-259, T: 260-280, C: 281-282		449 (25-282)	476	504

[0173]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
CD28	P10747.1	28-137 IgV	S: 1-18, E: 19-152, T: 153-179, C: 180-220	B7-1, B7-2, B7RP1	450 (19-220)	477	505
CTLA4	AAL07473.1 P16410.3	39-152 IgV 39-140 IgV	S: 1-35, E: 36-161, T: 162-182, C: 183-223	B7-1, B7-2, B7RP1	1 (36-223)	478	2
PDCD1 (PD-1)	Q15116.3	35-145 IgV	S: 1-20, E: 21-170, T: 171-191, C: 192-288	PD-L1, PD-L2	451 (21-288)	479	506
ICOS	Q9Y6W8.1	30-132 IgV	S: 1-20, E: 21-140, T: 141-161, C: 162-199	B7RP1	452 (21-199)	480	507
BTLA (CD272)	Q7Z6A9.3	31-132 IgV	S: 1-30, E: 31-157, T: 158-178, C: 179-289	HVEM	453 (31-289)	481	508
CD4	P01730.1	26-125 IgV, 126-203 IgC2, 204-317 IgC2, 317-389, 318-374 IgC2	S: 1-25, E: 26-396, T: 397-418, C: 419-458	MHC 클래스 II	454 (26-458)	482	509

[0174]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
CD8A (CD8-알파)	P01732.1	22-135 IgV	S: 1-21, E: 22-182, T: 183-203, C: 204-235	MHC 클래스 I	455 (22-235)	483	510
CD8B (CD8-beta)	P10966.1	22-132 IgV	S: 1-21, E: 22-170, T: 171-191, C: 192-210	MHC 클래스 I	456 (22-210)	484	511
LAG3	P18627.5	37-167 IgV, 168-252 IgC2, 265-343 IgC2, 349-419 IgC2	S: 1-28, E: 29-450, T: 451-471, C: 472-525	MHC 클래스II	457 (29-525)	485	512
HAVCR2 (TIM-3)	Q8TDQ0.3	22-124 IgV	S: 1-21, E: 22-202, T: 203-223, C: 224-301	CEACAM-1, 포스파티딜세린, 갈렉틴-9, HMGB1	458 (22-301)	486	513
CEACAM 1	P13688.2	35-142 IgV, 145-232 IgC2, 237-317 IgC2, 323-413 IgCs	S: 1-34, E: 35-428, T: 429-452, C: 453-526	TIM-3	459 (35-526)	487	514
TIGIT	Q495A1.1	22-124 IgV	S: 1-21, E: 22-141, T: 142-162, C: 163-244	CD155, CD112	460 (22-244)	488	515

[0175]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
PVR (CD155)	P15151.2	24-139 IgV, 145-237 IgC2, 244-328 IgC2	S: 1-20, E: 21-343, T: 344-367, C: 368-417	TIGIT, CD226, CD96, 폴리오바이러스	461 (21-417)	489	516
PVRL2 (CD112)	Q92692.1	32-156 IgV, 162-256 IgC2, 261-345 IgC2	S: 1-31, E: 32-360, T: 361-381, C: 382-538	TIGIT, CD226, CD112R	462 (32-538)	490	517
CD226	Q15762.2	19-126 IgC2, 135-239 IgC2	S: 1-18, E: 19-254, T: 255-275, C: 276-336	CD155, CD112	463 (19-336)	491	518
CD2	P06729.2	25-128 IgV, 129-209 IgC2	S: 1-24, E: 25-209, T: 210-235, C: 236-351	CD58	464 (25-351)	492	519
CD160	O95971.1	27-122 IgV	N/A	HVEM, 단백질의 MHC 패밀리	465 (27-159)	493	520
CD200	P41217.4	31-141 IgV, 142-232 IgC2	S: 1-30, E: 31-232, T: 233-259, C: 260-278	CD200R	466 (31-278)	494	521
CD200R1 (CD200R)	Q8TD46.2	53-139 IgV, 140-228 IgC2	S: 1-28, E: 29-243, T: 244-264, C: 265-325	CD200	467 (29-325)	495	522

[0176]

본 개시내용에 따른 IgSF 구성원.							
IgSF 구성원 (동의어)	NCBI 단백질 수탁번호/ UniProtKB 단백질 식별자	IgSF 영역 및 도메인 부류	기타 도메인	결합상대	IgSF 구성원 아미노산 서열 (서열번호)		
					전구체 (성숙 잔기)	성숙	ECD
NCR3 (NKp30)	O14931.1	19-126 IgC-유사	S: 1-18, E: 19-135, T: 136-156, C: 157-201	B7-H6	468 (19-201)	496	523
VSIG8	Q5VU13	22-141 IgV 1 146-257 IgV 2	S: 1-21 E: 22-263 T: 264-284 C: 285-414	VISTA	469 (22-414)	497	524

[0177] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 IgD 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4의 일부에 비해 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도

메인(IgD)에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예컨대 하나 이상의 치환(대안적으로, "돌연변이" 또는 "대체"), 결실 또는 첨가를 함유한다. 따라서, 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)이 IgD에 있는 변이체 IgD IgD (본 명세서에서 이후에 "vIgD"로 불림)이거나 또는 이를 포함한다.

[0178] 일부 실시형태에서, IgD는 IgV 도메인 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 실시형태에서, IgD는 IgV 단독 또는 CTLA-4의 전체 세포외 도메인(ECD)일 수 있다. 일부 실시형태에서, IgD는 ECD의 특이적 결합 단편을 포함한다. 표 1은 IgV 영역 및 CTLA-4의 ECD에 대응하는 예시적인 잔기를 제공한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 또는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하며, 이때 아미노산 변형 중 적어도 하나(예를 들어, 치환)가 IgV 도메인 또는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편에 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하며, 이때 아미노산 변형 중 적어도 하나(예를 들어, 치환)는 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편에 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하며, 이때 아미노산 변형 중 적어도 하나(예를 들어, 치환)는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편에 있다. 일부 실시형태에서, 변경된 결합 활성 또는 친화도 때문에, 변경된 IgV 도메인 또는 ECD는 친화도-변형된 IgSF 도메인이다.

[0179] 일부 실시형태에서, 변이체는 비변형 CTLA-4 서열의 서열에 비해 하나 이상의 IgSF 도메인에서 변형된다. 일부 실시형태에서, 비변형 CTLA-4 서열은 야생형 CTLA-4이다. 일부 실시형태에서, 비변형 또는 야생형 CTLA-4는 천연 CTLA-4 또는 이의 오솔로그의 서열을 가진다. 일부 실시형태에서, 비변형 CTLA-4는 CTLA-4의 세포외 도메인(ECD) 또는 하나 이상의 IgSF 도메인을 함유하는 이의 일부이거나 이를 포함한다(표 1 참조). 일부 실시형태에서, 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포외 도메인은 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하거나 이들로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 가용성이거나 막관통 도메인을 결여한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 막관통 도메인 및, 일부 경우에, 또한 세포내 신호 전달 도메인을 함유할 수 있는 세포질 도메인을 추가로 포함한다.

[0180] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 포유류 CTLA-4 서열이다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 인간, 마우스, 사이노몰거스 원숭이, 또는 래트 CTLA-4를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 포유류 CTLA-4일 수 있다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 인간이다.

[0181] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 (i) 서열번호 1에 제시된 아미노산의 서열 또는 신호 서열을 결여하는 이의 성숙 형태, (ii) 서열번호 1에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열 또는 이의 성숙 형태를 갖거나, 또는 (iii) IgV 도메인 또는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하는 (i) 또는 (ii)의 부분이다.

[0182] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 CTLA-4의 세포외 도메인(ECD) 또는 이의 일부이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열(서열번호 1의 아미노산 잔기 36 내지 161에 대응), 또는 이의 오솔로그를 포함한다. 일부 경우에, 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드는 (i) 서열번호 2에 제시된 아미노산의 서열, (ii) 서열번호 2에 대해 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열을 포함할 수 있거나, 또는 (iii) IgV 도메인을 포함하는 (i) 또는 (ii)의 서열의 특이적 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 ECD는 하나 이상의 CTLA-4 결합 상대, 예컨대 ICOSL 및/또는 CD80 및/또는 CD86 중 하나 이상에 결합할 수 있다.

[0183] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인, 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 IgV 도메인은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열(서열번호 1의 아미노산 잔기 39 내지 140에 대응), 또는 이의 오솔로그를 포함한다. 예를 들어, 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드의 IgV 도메인은 (i) 서열번호 3에제시된 아미노산의 서열, (ii) 서열번호 3에 대해 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산의서열, 또는 (iii) (i) 또는 (ii)의 서열의 특이적 결합 단편을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 IgV 도메인은 하나 이상의 CTLA-4 결합 상대, 예컨대 ICOSL 및/또는 CD80 및/또는 CD86의 하나 이상에 결합할 수 있다.

[0184] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 CTLA-4의 특이적 결합 단편, 예컨대 IgV 도메인의 특이적 결합 단편 또는 ECD를 함유한다. 일부 실시형태에서, 특이적 결합 단편은 ICOSL에 결합할 수 있다.

일부 실시형태에서, 특이적 단편은 ICOSL 및 CD80 또는 CD86에 결합할 수 있다. 일부 실시형태에서, 특이적 단편은 ICOSL, CD80 및 CD86에 결합할 수 있다. 특이적 결합 단편은 적어도 50개의 아미노산, 예컨대 적어도 60, 70, 80, 90 또는 100개의 아미노산의 아미노산 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, IgV 도메인의 특이적 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 39 내지 140에 제시된 IgV 도메인 길이의 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%인 아미노산 서열을 함유한다. 일부 실시형태에서, ECD의 특이적 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 36 내지 161에 제시된 ECD 길이의 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%인 아미노산 서열을 포함한다.

[0185] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 친화도 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 ECD 도메인 또는 이의 일부를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인, 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편 또는 ECD의 특이적 결합 단편을 포함할 수 있으며, 이때 IgSF 도메인(IgV) 또는 ECD 중 하나 이상은 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 전장 IgV 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 전장 ECD를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ECD의 특이적 결합 단편을 포함한다.

[0186] 임의의 이러한 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)은 CTLA-4 폴리펩타이드 ECD에, 예컨대 이의 IgSF 도메인에 위치될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포외 도메인에 위치된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)은 IgV 도메인 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편에 위치된다.

[0187] 일반적으로, 폴리펩타이드의 다양한 속성 각각은 이하에 별개로 개시된다(예를 들어, 가용성 및 막 결합된 폴리펩타이드, ICOSL; CD80 및/또는 CD86에 대한 CTLA-4의 친화도, 폴리펩타이드 쇄 당 변이의 수, 연결된 폴리펩타이드 쇄의 수, 변이체 CTLA-4 당 아미노산 변경의 수 및 특성 등). 그러나, 당업자에게 분명한 바와 같이, 임의의 특정 폴리펩타이드는 이들 독립적 속성의 조합을 포함할 수 있다. IgSF 도메인의 도메인 조직화를 기재하기 위해 사용되는 서열번호로서 제시되는 구체적 서열을 포함하는 아미노산에 대한 언급은 예시적 목적을 위한 것이며, 제공되는 실시형태의 범주를 제한하는 것을 의미하지 않는다는 것이 이해된다. 폴리펩타이드 및 이의 도메인의 설명은 상동성 분석 및 유사한 분자와의 정렬에 기반하여 이론적으로 유도된다는 것이 이해된다. 따라서, 정확한 좌위는 다를 수 있으며, 각각의 단백질에 대해 반드시 동일하지는 않다. 따라서, 특이적 IgSF 도메인, 예컨대 특이적 IgV 도메인 또는 ECD는 몇몇 아미노산(예컨대 1, 2, 3 또는 4개)보다 길거나 짧을 수 있다.

[0188] 추가로, 이하에 논의하는 본 발명의 다양한 실시형태는 상기 개시한 바와 같은 정의된 용어의 의미 내에서 빈번하게 제공된다. 따라서, 특정 정의에 기재된 실시형태는 정의된 용어가 본 명세서에 기재된 다양한 양상 및 속성을 논의하는 데 이용될 때 참조에 의해 포함되는 것으로 해석되어야 한다. 따라서, 표제, 다양한 양상 및 실시형태의 제시 순서, 및 각각의 독립적 속성의 별개의 개시내용은 본 개시내용의 범주로 제한되는 것을 의미하지 않는다.

[0189] **A. 예시적인 변형**

[0190] 본 명세서에서 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 함유된 IgSF 또는 ECD에 비해, ECD, 이의 IgSF 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편에서 변형을 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 제공된다. 일부 실시형태에서, 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 적어도 하나의 친화도-변형된 IgSF 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하도록 적어도 하나의 변형은 IgSF 도메인(예를 들어, IgV) 또는 이의 특이적 결합 단편에 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL, CD80 및/또는 CD86에 대해 변경된(증가 또는 감소된) 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다. ICOSL, CD80 및/또는 CD86은 포유류 단백질, 예컨대 인간 단백질 또는 뮤린 단백질일 수 있다.

[0191] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및, 선택적으로, 하나 이상의 리간드 CD80 및 CD86에 대해 변경된(증가된 또는 감소된) 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는, 예를 들어, 고체상 ELISA 면역분석, 유세포분석, 포르테바이오 옥텟(ForteBio Octet)(등록상표) 또는 비아코어 분석에의해 결정하여 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군(예를 들어, 비변형) 서열과 상이한 ICOSL, 및 선택적으로 CD80 및/또는 CD86에 대한 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, 및 선택적으로 CD80 및/또는 CD86

에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해, ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도, 및 선택적으로 하나 이상의 CD80 및/또는 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다.

[0192] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80 및, 선택적으로, 하나 이상의 리간드 ICOSL 및 CD86에 대해 변경된(증가된 또는 감소된) 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는, 예를 들어, 고체상 ELISA 면역분석, 유세포분석, 포르테바이오 옥텟(등록상표) 또는 비아코어 분석에 의해 결정하여 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군(예를 들어, 비변형) 서열의 결합 친화도와 상이한, CD80, 및 선택적으로 ICOSL 및/또는 CD86에 대한 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD80, 및 선택적으로 ICOSL 및/또는 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도, 및 선택적으로 하나 이상의 ICOSL 및/또는 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다.

[0193] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86 및, 선택적으로, 하나 이상의 리간드 ICOSL 및 CD80에 대해 변경된(증가된 또는 감소된) 결합 활성 또는 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는, 예를 들어, 고체상 ELISA 면역분석, 유세포분석, 포르테바이오 옥텟(ForteBio Octet)(등록상표) 또는 비아코어 분석에의해 결정하여 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군(예를 들어, 비변형) 서열의 결합 친화도와 상이한, CD86, 및 선택적으로 ICOSL 및/또는 CD80에 대한 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD86, 및 선택적으로 ICOSL 및/또는 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해, CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가지고, 선택적으로 하나 이상의 ICOSL 및/또는 CD80에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다.

[0194] 결합 상대 각각에 대한 결합 친화도는 독립적이다. 즉, 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해, ICOSL, CD80, 및/또는 CD86 중 1, 2 또는 3개에 대해 증가된 결합 친화도 및 ICOSL, CD80, 및/또는 CD86 중 1, 2 또는 3개에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다.

[0195] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 이러한 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 또한 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다.

[0196] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 또는 감소된 결합 친화도 및 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 또는 감소된 결합 친화도 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 또는 감소된 결합 친화도 및 CD80에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 또는 감소된 결합 친화도 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다.

[0197] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도 및 CD80에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD80에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 감소된 결합 친화도 및 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다.

[0198] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및

CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 감소된 결합 친화도 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다.

[0199] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL, CD80 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD80에 대해 증가된 결합 친화도, 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도, 및 CD80에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL 및 CD80에 대해 감소된 결합 친화도, 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 감소된 결합 친화도 및 CD80 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도, 및 CD80 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL, CD80 및 CD86에 대해 감소된 결합 친화도를 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 감소된 결합 친화도, 및 CD80 및 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 가진다.

[0200] 일부 실시형태에서, ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 대해 증가된 또는 더 큰 결합 친화도를 갖는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 대해 적어도 약 5%, 예컨대 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 35% 또는 50%의 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군에 비한 결합 친화도의 증가를 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비한 결합 친화도의 증가는 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배 또는 50배 초과이다. 이러한 예에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 함유하지 않는 것을 제외하고, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드와 동일한 서열을 가진다.

[0201] 일부 실시형태에서, ICSOL, CD80, 및/또는 CD86에 대해 줄어든 또는 감소된 결합 친화도를 갖는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80, 및/또는 CD86에 대해 적어도 5%, 예컨대 적어도 약 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상의 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군에 비한 결합 친화도의 감소를 가질 것이다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비한 결합 친화도의 감소는 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배 또는 50배 초과이다. 이러한 예에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 함유하지 않는 것을 제외하고 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드와 동일한 서열을 가진다.

[0202] 일부 실시형태에서, ICOSL, CD80 및/또는 CD86에 대해 앞서 언급한 실시형태 중 어느 것의 평형 해리 상수는 1×10^{-5}M 미만, 1×10^{-6}M, 1×10^{-7}M, 1×10^{-8}M, 1×10^{-9}M, 1×10^{-10}M 또는 1×10^{-11}M 또는 1×10^{-12}M 이하일 수 있다.

[0203] 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열은 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 생성하기 위해 반드시 출발 조성물로서 사용되어야 하는 것은 아니다. 따라서, 용어 "변형", 예컨대 "치환"의 사용은 본 실시형태가 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제조하는 특정 방법으로 제한된다는 것을 나타내지 않는다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는, 예를 들어, 드노보 펩타이드 합성에 의해 만들어질 수 있고, 따라서, 변형, 예를 들어, 치환을 암호화하는 코돈을 변경시키는 의미에서 변형, 예컨대 "치환"을 반드시 필요로 하지는 않는다. 이 원칙은 또한 마찬가지로 특정 제조 방법을 나타내지 않는 아미노산 잔기의 "첨가" 및 "결실"이라는 용어로 연장된다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드에 의해 설계되거나 생성되는 수단은 임의의 특정 방법으로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 그러나, 핵산을 암호화하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 유전자 물질로부터 돌연변이유발되고, 목적하는 특이적 결합 친화도 및/또는 IFN-감마 발현 또는 다른 기능적 활성의 저해 또는 감소에 대해 선별된다.

[0204] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 다수의 공중이 이용 가능한 데이터베이스에서 입수 가능한 단백질 또는 핵산 서열을 이용하여 드노보로 합성되고, 이어서, 후속적으로 선별된다. 미국 국립생물공학정보센

터는 이러한 정보를 제공하며, 이의 웹사이트는 앞서 논의한 바와 같은 UniProtKB 데이터베이스와 같이 인터넷을 통해 공중이 접근 가능하다.

[0205] 달리 언급되지 않는 한, 본 개시내용 전체적으로 나타내는 바와 같은 아미노산 변형(들)은 다음과 같이, 서열번호 2에 제시된 비변형 ECD 서열 또는 적용 가능한 경우, 서열번호 569에 제시된 비변형 ECD 서열 위치의 넘버링에 대응하는 아미노산 위치 번호에 의해 표기된다:

[0206] KAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFL
DDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSD
(서열번호 2)

[0207] KAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELTFL
DDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDSDQ
(서열번호 569)

[0208] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 569, 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 제공된 아미노산 변형, 예를 들어, 아미노산 치환 중 임의의 하나 이상을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 3에 제시된 예시적인 서열에서와 같이 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편이거나 이들을 포함하는 폴리펩타이드 내 제공된 아미노산 변형 중 임의의 하나 이상을 함유한다.

[0209] HVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELT
FLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYY (서열번호 3)

[0210] CTLA-4 폴리펩타이드(이의 IgSF 도메인(예를 들어, IgV)을 함유하는 이의 일부를 포함)에서 변형, 예를 들어, 아미노산 치환, 예컨대 서열번호 2 또는 서열번호 569와 함께 기준 서열(예를 들어, 서열번호 3)의 정렬에 의한, 변형, 예를 들어, 아미노산 치환의 대응하는 위치를 확인하는 것은 당업자의 수준 내이다. 본 명세서 전체적으로 변형 목록에서, 숫자 앞에 열거된 대응하는 비변형(예를 들어, 야생형) 아미노산 및 숫자 다음에 열거된 확인된 변이체 아미노산 치환과 함께 아미노산 위치는 중간에 나타낸다. 변형이 위치의 결실이라면, "del"로 나타내고, 변형이 삽입이라면 "ins"로 나타낸다. 일부 경우에, 삽입은 중간에 나타내는 아미노산 위치와 함께 열거되며, 대응하는 비변형(예를 들어, 야생형) 아미노산은 숫자 전에 그리고 후에 열거되고, 확인된 변이체 아미노산 삽입은 비변형(예를 들어, 야생형) 아미노산 다음에 열거된다.

[0211] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다. 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 서열의 엑토도메인(세포외 도메인)에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환은 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편에 있다.

[0212] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다. 치환은 IgV 도메인 또는 ECD에 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편에서 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ECD 또는 이의 특이적 결합 단편에서 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편과, 예컨대 서열번호 2 또는 3의 아미노산 서열과 적어도 약 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 가진다.

[0213] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 124, 125, 및/또는 126번 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다.

[0214] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 및/또는 122번 위치(들)에 대응하는 비변형

CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다.

[0215] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 12, 18, 26, 29, 33, 53, 55, 56, 58, 63, 72, 87, 98, 99, 105, 106, 및/또는 117번 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다.

[0216] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 12, 18, 26, 29, 56, 63, 72, 98, 99, 105, 106, 및/또는 117번 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 가진다.

[0217] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 A6T, V10A, L12F, L12H, L12I, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, P102L, Y105F, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Q113H, Y115H, Y115N, V116A, I117E, I117K, I117L, I117M, I117T, P119H, E120D, P121S, C122P, D124P, D124I, S125I, S125P, D126P, 및/또는 D126T로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다.

[0218] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 A6T, V10A, L12F, L12H, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, Y105F, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Y115N, V116A, I117E, I117L, I117M, 및/또는 I117T로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다.

[0219] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 L12F, L12H, L12I, L12P, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A26D, A26S, A26T, G29R, G29W, E33M, E33V, T53S, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, L63H, L63P, S72G, S72T, M87A, M87K, M87T, M87V, L98Q, L98R, M99I, M99L, Y105F, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I117E, I117K, I117L, I117M, 및/또는 I117T로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 I12F, L12P, I18T, A26T, G29W, T53S, M55T, M56K, M56T, N58S, S72G, M99L, L63P, L98Q, Y105L, L106I, 및/또는 I117L로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 L12P, I18T, A26T, G29W, T53S, M55T, M56K, N58S, S72G, M99L, L63P, L98Q, Y105L, L106I, 및/또는 I117L로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 A26T, G29W, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형, 또는 이들의 보존적 아미노산을 가진다.

[0220] 보존적 아미노산 치환은 야생형 또는 비변형 아미노산 이외의 치환된 아미노산과 동일한 부류의 아미노산에 속하는 임의의 아미노산이다. 아미노산의 부류는 지방족 (글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 아이소류신), 하이드록실 또는 황-함유(세린, 시스테인, 트레오닌 및 메티오닌), 환식(프롤린), 방향족 (페닐알라닌, 타이로신, 트립토판), 염기성(히스티딘, 라이신 및 알기닌), 및 산성/아마이드(아스파르테이트, 글루타메이트, 아스파라긴 및 글루타민)이다.

[0221] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 A26T에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 G29W, T53S, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/G29W, A26T/T53S, A26T/L63P, A26T/S72G, A26T/L98Q, A26T/M99L, A26T/Y105L, A26T/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에

따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0222] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 G29W에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, T53S, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/G29W, G29W/T53S, G29W/L63P, G29W/S72G, G29W/L98Q, G29W/M99L, G29W/Y105L, 또는 G29W/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재된 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0223] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 T53S에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/T53S, G29W/T53S, T53S/L63P, T53S/S72G, T53S/L98Q, T53S/M99L, T53S/Y105L, 또는 T53S/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할수 있다. 표 2는 기재된 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0224] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 L63P에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/L63P, G29W/L63P, T53S/L63P, L63P/S72G, L63P/L98Q, L63P/M99L, L63P/Y105L, 또는 L63P/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재된 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0225] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 S72G에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, L63P, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/S72G, G29W/S72G, T53S/S72G, L63P/S72G, S72G/L98Q, S72G/M99L, S72G/Y105L 또는 S72G/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재된 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0226] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 L98Q에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, L63P, S72G, M99L, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/L98Q, G29W/L98Q, T53S/L98Q, L63P/L98Q, S72G/L98Q, L98Q/M99L, L98Q/Y105L 또는 L98Q/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0227] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 M99L에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, L63P, S72G, L98Q, Y105L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/M99L, G29W/M99L, T53S/M99L, L63P/M99L, S72G/M99L, L98Q/M99L, M99L/Y105L 또는 M99L/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다.

표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0228] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 Y105L에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, L63P, S72G, L98Q, M99L 및/또는 L106I를 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/Y105L, G29W/Y105L, T53S/Y105L, L63P/Y105L, S72G/Y105L, L98Q/Y105L, M99L/Y105L 또는 Y105L/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형 (예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0229] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 L106I에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 아미노산 치환 A26T, G29W, T53S, L63P, S72G, L98Q, M99L 및/또는 Y105L을 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 아미노산 치환 A26T/L106I, G29W/L106I, T53S/L106I, L63P/L106I, S72G/L106I, L98Q/L106I, M99L/L106I 또는 Y105L/L106I를 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0230] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 아미노산 치환 E33V/M99L을 함유한다. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 제공된 실시형태에 따라 추가적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환), 예컨대 본 명세서에 기재된 어느 것을 포함할 수 있다. 표 2는 기재한 바와 같은 예시적인 아미노산 변형(예를 들어, 치환) 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 제시한다.

[0231] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 적어도 3개의 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함하되, 비변형 또는 야생형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 적어도 3개의 변형(예를 들어, 치환)은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 A26T, G29W, T53S, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 L106I 또는 이들의 보존적 아미노산에 대응한다.

[0232] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 G29W/L98Q/Y105L에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0233] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0234] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L에 대응하는 비변형 또는 야생형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0235] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 단일 아미노산 치환을 가지며, 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 27, 31, 32, 33, 35, 95, 98, 105, 106, 또는 107번 위치에 대응하지 않는다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 단일 아미노산 치환을 가지며, 변형은 L106E가 아니다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 정확히 2개의 아미노산 치환을 가지며, 변형은 A31Y 및 L106E (즉, A31Y/L106E)가 아니다.

[0236] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4는 서열번호 2에 제시된 넘버링에 대해 A26E, T32N, V34I, A52M, G57E, I67F, S66P 및/또는 S72F에 대응하는 변형을 함유하지 않는다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 7개의 아미노산 치환을 가지며, 변형은 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 T32N, V34I, A52M, M56K, G57E, S66P 및 S72F에 대응하는 변형이 아니다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 또는 이의 특이적 결합 단편에서 10개의 아미노산 치환을 가지며, 변형은 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 A26E, T32N, V34I, A52M, M56K, N58D, S66P, I67S, S72F 및 L106E에 대응하는 변형이 아니다.

[0237] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 A6T, V10A, L12F, L12H, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, Y105F, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Y115N, V116A, I117E, I117L, I117M, 및 I117T 중에서 선택되는 2개 이상의 아미노산 변형을 가진다. 일부 실시형태에서, 2 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, L12H/E33M/L98Q/Y105L, L12H/M55T/E59D/L63P/M99L, L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L, L12P/A26T, L12P/A26T/L63P, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I, L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L, S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L, S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L, R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L, I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S, I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K, I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H, V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M, E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L, A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/M87V/N110K/I117E, A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M, P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S,G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L98Q/M99L/Y105L,

E33M/A42T/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, T37S/M56V/L98Q/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F, T53S/M56V/L98Q/Y105L, M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, M55T/E97Q/M99L/Y105F, M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I, M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, M56T/L91R/L98Q/Y105L, M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, L63P/K95R, L63P/L98Q, L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M, L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/V116A, L63P/L98R/N110K, L63P/M99L/Y105L/I108F, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, L98Q/M99L/Y105L, L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T, L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N, L98Q/Y105L 및 L98R/N110K이다.

[0238] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 A6T, V10A, L12F, L12H, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, Y105F, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Y115N, V116A, I117E, I117L, I117M, I117T, E120D, C122P, D124P, D124I, S125I, D126P 및 D126T 중에서 선택된 2 이상의 아미노산 변형을 가진다. 일부 실시형태에서, 2 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 넘버링에 관해 A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, L12H/E33M/L98Q/Y105L, L12H/M55T/E59D/L63P/M99L, L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L, L12P/A26T, L12P/A26T/L63P, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I, L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L, S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L, S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L, R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L, I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S, I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K, I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H, V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M, E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L, A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/M87V/N110K/I117E, A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L,

S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M, P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S,G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, E33M/A42T/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, T37S/M56V/L98Q/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F, T53S/M56V/L98Q/Y105L, M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, M55T/E97Q/M99L/Y105F, M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I, M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, M56T/L91R/L98Q/Y105L, M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, L63P/K95R, L63P/L98Q, L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M, L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/V116A, L63P/L98R/N110K, L63P/M99L/Y105L/I108F, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, L98Q/M99L/Y105L, L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T, L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N, L98Q/Y105L, L98R/N110K, T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P, N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T, R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T, L12H/E33M/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L/Y105L, E33V/L98Q/M99L, E33V/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L, M56T/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L, 및 G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L이다.

[0239] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 추가적으로 서열번호 2 또는 569에 제시된 위치에 대해 아미노산 변형 C122S를 포함한다.

[0240] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 임의의 치환(돌연변이)를 포함한다. 표 2는 또한 야생형 CTLA-4 또는 예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포외 도메인(ECD) 또는 IgV 도메인에 대한 서열번호를 참조로 하여 예시적인 서열을 제공한다. 표 2는 면역글로불린 Fc에 부착된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드("면역조절 Fc 융합", 예컨대 CTLA-4 vIgD-Fc 융합으로도 지칭되는 "CTLA-4-Fc 변이체 융합"을 수득함)의 예시적인 서열을 제공한다. 이러한 융합 폴리펩타이드는 이하에 추가로 기재된다. 나타낸 바와 같이, 주어진 도메인에 대응하는 정확한 좌위 또는 잔기는, 예컨대 도메인을 확인하거나 분류하기 위하여 사용되는 방법에 따라 다를 수 있다. 또한, 일부 경우에, 주어진 도메인(예를 들어, IgV)의 인접한 N- 및/또는 C-말단의 아미노산은

또한 변이체 IgSF 폴리펩타이드 서열에 포함되어, 예컨대 발현될 때 도메인의 적절한 접힘을 보장할 수 있다. 따라서, 표 2의 서열번호의 예시는 제한으로서 해석되어서는 안 된다는 것이 이해된다. 예를 들어, 특정 도메인, 예컨대 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 IgV 도메인은 각각의 서열번호에 제시된 아미노산의 서열보다 더 길거나 더 짧은 몇몇 아미노산, 예컨대 더 길거나 더 짧은 1 내지 10개, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 아미노산일 수 있다.

[0241] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 임의의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 임의의 세포외 도메인(ECD) 서열(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 또는 106 내지 155 중 어느 하나)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 세포외 도메인(ECD) 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 또는 106 내지 155 중 어느 하나)에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 예컨대 적어도 96% 동일성, 97% 동일성, 98% 동일성, 또는 99% 동일성을 나타내고, 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 치환(들)을 함유하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 임의의 세포외 도메인(ECD) 서열(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 또는 106 내지 155 중 어느 하나) 중 어느 것의 특이적 결합 단편을 포함하고, 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 치환(들)을 함유한다.

[0242] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 돌연변이 중 어느 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 세포외 도메인(ECD) 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 570 내지 602, 또는 636 중 어느 하나)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 세포외 도메인(ECD) 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 570 내지 602 또는 636 중 어느 하나)에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 예컨대 적어도 96% 동일성, 97% 동일성, 98% 동일성, 또는 99% 동일성을 나타내고 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 치환(들)을 함유하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 세포외 도메인(ECD) 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 570 내지 602 또는 636 중 어느 하나)의 특이적 결합 단편을 포함하고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들) 중 하나 이상, 예를 들어, 치환(들)을 함유한다.

[0243] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 156 내지 285 중 어느 하나)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 156 내지 285 중 어느 하나)에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 예컨대 적어도 96% 동일성, 97% 동일성, 98% 동일성, 또는 99% 동일성을 나타내고 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 치환(들)을 함유하는, 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 156 내지 285 중 어느 하나)의 특이적 결합 단편을 포함하고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들) 중 하나 이상, 예를 들어, 치환(들)을 함유한다.

[0244] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 하나)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 하나)에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 예컨대 적어도 96% 동일성, 97% 동일성, 98% 동일성, 또는 99% 동일성을 나타내고 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 치환(들)을 함유하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 표 2에 열거된 IgV 서열 중 어느 것(즉, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 하나)의 특이적 결합 단편을 포함하고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 각각의 서열번호의 아미노산 변형(들), 예를 들어, 치환(들)을 함유한다.

표 2

[0245]

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
야생형	2, 569	3
L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L	4	156
L63P/L98R/N110K	5	157
L12P/A26T	6	158
L12P/A26T/L63P	7	159
L63P/L98Q/Y105L	8	160
L98Q/Y105L	9	161
L63P	10	162
L98R/N110K	11	163
L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	12	164

[0246]

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L	13	165
L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	14	166
S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L	15	167
S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M	16	168
M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I	17	169
L63P/S72G/Y105L	18	170
L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M	19	227
L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L	20	166
A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	21	171
L63P/L98Q/V116A	22	205
G29W/L98Q/M99L/Y105L	23	172
T37S/M56V/L98Q/Y105L	24	173
A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L	25	174
L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L	26	175
V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M	27	176
A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	28	177
E33M/A42T/L98Q/Y105L	29	178
M55T/E97Q/M99L/Y105F	30	179
M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L	31	180
R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L	32	181
L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I	33	156
M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	34	182
S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L	35	183
I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L	36	184
L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L	37	185
L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T	38	206
L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N	39	206
M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L	40	186
A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L	41	187
I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L	42	188
L12H/M55T/E59D/L63P/M99L	43	189
I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V	44	190
I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	45	191
T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	46	192
V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	47	193
L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L	48	194
L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F	49	195
I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L	50	196
I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y	51	197
I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S	52	198
G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	53	199
G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L	54	200
G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L	55	201

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L	56	202
M56V	57	203
L63P/K95R	58	204
L63P/L98Q	59	205
L98Q/M99L/Y105L	60	206
L63P/M87K/M99L/L106R	61	207
L63P/M99L/Y105L/I108F	62	208
V10A/L63P/L98Q/Y105L	63	209
M56T/L91R/L98Q/Y105L	64	210
A26T/L63P/M87V/N110K/I117E	65	211
G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L	66	212
A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q	67	213
G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L	68	214
G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L	69	215
L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L	70	216
A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L	71	217
A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L	72	218
V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L	73	219
L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L	74	220
I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K	75	221
A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L	76	222
L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L	77	223
P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L	78	224
E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	79	225
I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	80	226
L63P/L98Q/M99L/Y105L	81	227
Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F	82	228
S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T	83	229
M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L	84	230
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L	85	231
L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I	86	227
A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L	87	232
L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L	88	233
A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L	89	234
V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H	90	235
A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	91	236
E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L	92	237
G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L	93	238
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L	94	231
A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L	95	239
L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R	96	240
S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	97	241
G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	99	243

[0247]

[0248]

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L	100	244
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N	101	245
L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A	102	246
G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L	103	247
G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L	104	248
T53S/M56V/L98Q/Y105L	106	249
L63P/S72G/L98Q/Y105L	107	250
I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L	108	251
G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L	109	252
I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L	110	253
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I	111	254
G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L	112	255
G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L	113	256
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L	114	254
L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	115	250
L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L	116	257
L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L	117	258
L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I	118	258
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	119	254
G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I	120	247
A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	121	259
G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L	122	260
G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H	123	261
G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V	124	247
A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	125	262
G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L	126	263
I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L	127	264
S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I	128	265
A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L	129	266
A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	130	267
L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S	131	268
I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L	132	269
L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L	133	270
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L	134	281
G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L	135	271
P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	136	272
G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L	137	273
I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S	138	274
L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V	139	227
A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L	140	275
M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E	141	276
G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L	142	242
L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H	143	277

[0249]

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L	144	278
I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K	145	279
I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	146	280
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	147	281
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F	148	231
L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L	149	282
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S	150	283
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S	151	254
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L	152	283
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V	153	283
G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L	154	284
V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S	155	285
T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P	570	603
N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T	571	604
R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P	572	605
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T	573	606
L12H/E33M/L98Q/Y105L	574	607
T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L	575	608
I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L	576	609
I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L	577	610
T53S/L63P/L98Q	578	611
T53S/L63P/Y105L	579	612
T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q	580	613
T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L	581	614
T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L	582	615
T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L	583	616
T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L	584	617
T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L	585	618
M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L	586	619
E33V/L98Q/Y105L	587	620
E33V/M99L/Y105L	588	621
E33V/L98Q/M99L	589	622
E33V/M99L	590	623
L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q	591	624
L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L	592	625
L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L	593	626
L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L	594	627
G29W/M56T/L98Q/Y105L	595	628
L12F/G29W/L98Q/Y105L	596	629
L12F/L98Q/Y105L	597	630
R16H/L98Q/Y105L	598	631
G29W/L98Q/Y105L	599	632
M56T/L98Q/Y105L	600	633

[0250]

예시적인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드		
돌연변이(들)	ECD 서열 번호	IgV 서열 번호
L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L	601	634
G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L	602	635
I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L	636	637

[0251] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80의 엑토도메인 및 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도를 나타낸다.

[0252] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인 및 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL의 엑토도메인 및 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도를 나타낸다.

[0253] 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인, CD80의 엑토도메인, 및 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도를 나타낸다.

[0254] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD80의 엑토도메인에 결합하는 데 증가된 결합 친화도를 나타내고, CD86 및/또는 ICOSL의 엑토도메인에 결합하는 데 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD80의 엑토도메인 및 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD80의 엑토도메인 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 CD86의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 CD86의 엑토도메인 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다.

[0255] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD86의 엑토도메인에 대한 결합에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내고, CD80 및/또는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 결합에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD86의 엑토도메인 및 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD86의 엑토도메인 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도 및 CD80의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 CD80의 엑토도메인 및 ICOSL의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다.

[0256] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인에 대한 결합에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내고, CD80 및/또는 CD86의 엑토도메인에 대한 결합에 대해 감소된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인 및 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 CD86의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인 및 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도, 및 CD80의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 것과 같은 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 비해 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도 및 CD80의 엑토도메인 및 CD86의 엑토도메인에 대해 감소된 친화도를 나타낸다.

[0257] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, CD80의 엑토도메인에 대한 증가된 친화도는 CD80의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합 친화도에 비해 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배 또는 60배 초과로 증가된다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 V10A, L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, M56T, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V 및/또는 P121S를 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴

리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L 및/또는 I108V를 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 I18T, A26T, G29W, A42V, Q45H, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, L98Q 및/또는 Y105L을 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 I18T, A26T, G29W, N58S, L63P, M87K, M87V, L98Q 및/또는 Y105L 중으로부터의 하나 이상의 아미노산 치환을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 적어도 2, 3, 4 또는 5개의 이러한 아미노산 치환을 가지고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD80의 엑토도메인에 대해 증가된 결합을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L 또는 M56T/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L 또는 E33V/L98Q/M99L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L 또는 T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 2에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 3에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다.

[0258] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도는 CD86의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합 친화도에 비해 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배 또는 60배 초과로 증가된다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 L12F, L12H, L12P, R16H, I18T, I18V, S20N, A26T, G29R, G29W, E33M, E33V, A42S, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, T61I, T61N, T61R, T61S, L63P, D65G, I67N, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V,T89A, T89M, T89S, V96I, L98Q, L98R, M99L, P102L, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, Q113H, Y115H, V116A, I117L, I117T 및/또는 P121S를 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 L12P, A26T, M55T, L63P, S72G, L98Q, M99L 및/또는 Y105L을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 적어도 2, 3, 4 또는 5개의 이러한 아미노산 치환을 가지고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CD86의 엑토도메인에 대해 증가된 결합을 나타낸다. 일부

실시형태에서, 아미노산 치환은 I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, T53S/M56V/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L98Q/M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/G29W/L98Q/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L 또는 L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 2에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 3에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다.

[0259] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 결합 친화도를 나타낸다. 일부 실시형태에서, ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 친화도는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합 친화도에 비해 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배 또는 60배 초과로 증가된다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 V10A, L12F, L12I, R16H, I18N, I18T, I18V, A19V, A26T, G29W, E33M, E33V, R35K, V38I, A42V, Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56V, N58D, N58S, T61A, T61R, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93L, I93V, E97Q, L98Q, M99L, M99I, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, Q113H, I117L 및/또는 P121S를 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 V10A,L12F, R16H, I18T, I18V, A19V, A26T, G29W, E33V, R35K, A42V,Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56T, N58D, N58S, L63P, D64E, D64V, I67N, I67V, S72G, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N100K 및/또는 I117L을 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 L12F, I18T, I18V, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, N58D, N58S, L63P, D64E, I67N, I67V, S72G, Q82H, R85G, M87K, M87V, T89A, T89S, I93V, E97Q, L98Q, M99I, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K 및/또는 N117L을 가진다. 일부 이들 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL에 대해 증가된 결합 친화도를 나타내는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2의 넘버링을 참고하여 비변형 또는 야생형 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgV 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환 I18T, A26T, G29W, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, S72G, L98Q, M99L, Y105L, L106I, 및/또는 N117L을 가진다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 적어도 2, 3, 4 또는 5개의 이러한 아미노산 치환을 가지며, 야생형 또

는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 서열번호 2 또는 3에 제시된 서열을 포함하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 ICOSL의 엑토도메인에 대해 증가된 결합을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/M99L/Y105L/I108F, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 아미노산 치환은 G29W/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M99L/Y105L/I108F, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 2에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 상기 치환 중 어느 것은 서열번호 3에 제시된 CTLA-4 세포외 도메인에 있으며, 예를 들어, 표 2에 제시된 예시적인 서열번호를 참조한다.

[0260] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 함유된 IgSF 도메인에 비해 적어도 하나의 친화도-변형된 IgSF 도메인(예를 들어, IgV) 또는 이의 특이적 결합 단편을 갖는 세포외 도메인을 함유하는 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 결합 상대(들)에 결합 시 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 CTLA-4의 하나 이상의 결합 상대(들), 예컨대 CD80, CD86 및/또는 ICOSL에 의해 맞물릴 수 있는 자극 수용체에 의해 변경된 신호전달(예를 들어, 신호전달의 감소/저해)을 나타낸다. 일부 양상에서, 자극 수용체는, 일부 양상에서 T-세포의 표면 상에서 발현되고 세포내 신호에 반응하여 사이토카인을 방출할 수 있는 CD28 또는 ICOS이다. 일부 실시형태에서, 변경된 신호전달은 구체화된 변이체 및/또는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드와 함께 인큐베이션 후에, 예를 들어, 사이토카인 방출(예를 들어, IL-2 방출 또는 IFN-감마)을 측정하는 분석에 의해 측정하여, 동일한 형식(예를 들어, Fc 융합 단백질)에서 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 대조군 서열에 의해 달성되는 것이 다르다. 예시적인 분석은 실시예에 기재되어 있다. 일부 경우에, 분석은 세포-기반 분석, 예컨대 혼합된 림프구 반응이며, 이때 얻어진 판독 또는 기능은 분석에서 세포 표면 상에서 발현되는 기능성 결합 상대의 신호전달 활성의 합이다. 본 명세서의 다른 곳에 논의되는 바와 같이, 일부 실시형태에서, 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 형식은 활성의 유형, 예를 들어, 작용제 또는 길항제에 영향을 미칠 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인 및 다량체화 도메인, 예컨대 Fc 도

메인을 함유하는 세포외 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편의 융합 단백질이고, 변경된 신호전달은 자극 수용체의 활성을 차단하는 길항제 활성에 기인한다. 다른 양상에서, 형식은 자극 수용체의 증가된 또는 작용제 활성을 초래할 수 있다.

[0261] **III. 변이체 폴리펩타이드의 형식**

[0262] 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드는 다양한 방법에서 형식화될 수 있으며, 가용성 단백질, 막 결합 단백질 또는 분비된 단백질로서 포함한다. 일부 실시형태에서, 특정 형식은 목적하는 치료 적용을 위해 선택될 수 있다. 일부 경우에, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드는 결합 상대(예를 들어, ICOSL, CD80 및/또는 CD86)에 결합하여, CD28 및/또는 ICOS 공자극 신호를 방지함으로써 CD28 및/또는 ICOS의 활성을 길항하거나 차단하는 형식으로 제공된다. 일부 실시형태에서, CD28 및/또는 ICOSL의 길항 작용은, 예를 들어, 자가면역에서 면역을 저해하거나 억제하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시형태에서, CD28 및/또는 ICOSL의 길항작용은 염증 또는 자가면역을 치료하는 데 유용할 수 있다. 일부 경우에, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드는 CTLA-4 저해 수용체가 활성화 수용체(예를 들어, ITAM 신호전달 도메인을 가짐)가 되고/되거나 세포내 신호전달 도메인 없이 데코이 수용체로서 세포 상에서 발현되는 스위치 수용체로서 세포 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 활성화 수용체 또는 데코이 수용체는 암을 치료하는 데 유용할 수 있다. 당업자는 하나 이상의 특이적 결합 상대를 길항하고/하거나, 경쟁하고/하거나 차단시키거나 또는 하나 이상의 하류의 신호전달 경로를 활성화시키기 위한 특정 형식의 활성을 용이하게 결정할 수 있다. 이러한 활성을 평가하기 위한 예시적인 방법은 실시예를 포함하여, 본 명세서에서 제공된다.

[0263] 일부 양상에서, 예를 들어, Fc 쇄에 융합된, CTLA-4의 vIgD를 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 이때 이러한 단백질은 가용성이다. 일부 양상에서, 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인, 예컨대 하나 이상의 추가적인 vIgD는 본 명세서에 제공된 바와 같은 CTLA-4의 vIgD(본 명세서에서 이후에 "적층" 또는 "적층된" 면역조절 단백질로 불림)에 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질의 모듈 형식은 다중 상대 구조(다중 동족 결합 상대)의 활성을 조절하기 위해 면역조절 단백질을 조작하거나 생성하기 위한 유연성을 제공한다. 일부 실시형태에서, 이러한 "적층" 분자는 가용성 형식으로 제공될 수 있거나 또는, 일부 경우에, 막 결합된 또는 분비된 단백질로서 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질은, 예컨대 대상체에게 투여될 때, 예를 들어, 특정 환경 또는 세포에 vIgD를 표적화하거나 국소화하기 위해 표적화제 또는 모이어티에, 예를 들어, 항체 또는 리간드에 특이적으로 결합하는 다른 결합 분자, 예를 들어, 항원에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는 CTLA-4의 vIgD가 함유된 접합체로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 표적화제, 예를 들어, 항체 또는 다른 결합 분자는 백혈구, 림프구, 또는 림프 조직, 예컨대 비장, 비장, 편도, 림프관, 림프절, 아데노이드, 및 간의 표면 상에서 항원에 결합함으로써, 면역계에 대해 vIgD를 함유하는 변이체 CTLA-4를 국소화시켜, 예를 들어, 면역계 내의 백혈구 또는 림프구의 활성을 조절한다.

[0264] 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 세포에서 또는 세포 상에서 발현되고, 조작된 세포 요법(ECT)의 부분으로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 막-결합 형태로 세포, 예컨대 면역 세포(예를 들어, T 세포 또는 항원 제시 세포) 상에서 발현되어, 막관통 면역조절 단백질(본 명세서에서 이후에 "TIP"로 불림)을 제공한다. 일부 양상에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 분비 가능한 형태로 세포, 예컨대 면역 세포(예를 들어, T 세포 또는 항원 제시 세포)에서 발현되어, 예컨대 세포가 대상체에게 투여될 때, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드(본 명세서에서 이후에 "SIP"로도 불림)의 분비된 또는 가용성 형태를 생성한다. 일부 양상에서, SIP는 이것이 분비되는 환경(예를 들어, 면역 미세환경)에서 결합 상대를 길항할 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 대상체에게 투여 시, 세포에서 TIP 또는 SIP로서 변이체 폴리펩타이드의 전달 또는 발현을 위해 생체내 세포, 예컨대 면역 세포(예를 들어, T 세포 또는 항원 제시 세포)에서 세포를 감염시킬 수 있는 감염제(예를 들어, 바이러스 또는 박테리아제)에서 발현된다.

[0265] 일부 실시형태에서, 가용성 면역조절 폴리펩타이드, 예컨대 vIgD를 함유하는 변이체 CTLA-4는 그 자체가 제공된 접합체(예를 들어, 표적화 모이어티) 중 어느 하나 또는 임의의 조합에 접합될 수 있는 리포좀 내에서 캡슐화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 가용성 또는 막 결합된 면역조절 폴리펩타이드는 탈글리코실화된다. 더 구체적인 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 서열은 탈글리코실화된다. 훨씬 더 특이적인 실시형태에서, 변이체 CTLA-4의 IgV 도메인 또는 ECD는 탈글리코실화된다.

[0266] 제공된 형식의 비제한적 예는 도 1에 기재되며, 이하에 추가로 기재된다.

[0267] **A. 가용성 단백질**

[0268] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 면역조절 단백질은 가용성 단백질이다. 당업자는 세포 표면 단백질이 전형적으로 세포내 도메인, 막관통 도메인, 및 세포외 도메인(ECD)을 가진다는 것과, 이러한 단백질의 가용성 형태가 세포외 도메인 또는 이의 면역학적으로 활성인 하위서열을 이용하여 만들어질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 면역조절 단백질은 막관통 도메인 또는 막관통 도메인의 일부를 결여한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4를 함유하는 면역조절 단백질은 세포내(세포질) 도메인 또는 세포내 도메인의 일부를 결여한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 면역조절 단백질은 IgV 도메인 또는 도메인들을 함유하는 ECD 도메인 또는 이의 일부를 함유하는 vIgD 부분, 또는 아미노산 변형(들)을 함유하는 이의 특이적 결합 단편만을 함유한다. 일부 양상에서, 이러한 가용성 폴리펩타이드는 CD28 및 ICOS의 활성을 차단하고/하거나 길항하여, 면역 반응을 저해하거나 약화시키는 데 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 바와 같은 가용성 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질(예를 들어, 변이체 CTLA-4-Fc)은 자가면역 또는 염증 적응증을 치료하기 위한 방법에서 사용될 수 있다.

[0269] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드는 본 발명의 하나 이상의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서 본 발명의 폴리펩타이드는 정확히 1, 2, 3, 4 또는 5개의 변이체 CTLA-4 서열을 포함할 것이다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 서열 중 적어도 둘은 동일한 변이체 CTLA-4 서열이다.

[0270] 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 폴리펩타이드는 CTLA-4의 2개 이상의 vIgD 서열을 포함한다. 폴리펩타이드 쇄 내의 다중 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서로에 대해 동일하거나(즉, 동일한 종) 또는 비동일(즉, 상이한 종) 변이체 CTLA-4 서열일 수 있다. 단일 폴리펩타이드 쇄 실시형태에 추가로, 일부 실시형태에서 본 발명의 폴리펩타이드 중 2, 3, 4개 이상은 서로에 대해 공유적으로 또는 비공유적으로 부착될 수 있다. 따라서, 단량체, 이량체, 및 더 고차의(예를 들어, 3, 4, 5개 이상) 다량체 단백질이 본 명세서에서 제공된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 정확히 2개의 본 발명의 폴리펩타이드는 서로에 대해 공유적으로 또는 비공유적으로 부착되어 이량체를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 부착은 쇄간 시스테인 이황화 결합을 통해 이루어진다. 2 이상의 본 발명의 폴리펩타이드를 포함하는 조성물은 폴리펩타이드의 동일한 종 또는 실질적으로 동일한 종(예를 들어, 동형이량체) 또는 폴리펩타이드의 비동일 종(예를 들어, 이형이량체)을 가질 수 있다. 복수의 연결된 본 발명의 폴리펩타이드를 갖는 조성물은 상기 언급한 바와 같이, 각각의 폴리펩타이드 쇄에서 본 발명의 하나 이상의 동일 또는 비동일 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 가질 수 있다.

[0271] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 면역조절 단백질은 면역글로불린 Fc에 부착된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드("면역조절 Fc 융합", 예컨대 CTLA-4 vIgD-Fc 융합으로도 칭하는 "CTLA-4-Fc 변이체 융합"을 수득)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 부착은 Fc의 N-말단에 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 부착은 Fc의 C-말단에 있다. 일부 실시형태에서, 2이상의 CTLA-4 변이체 폴리펩타이드(동일 또는 상이)는 N-말단 및 C-말단에 독립적으로 부착된다.

[0272] 일부 실시형태에서, Fc는 뮤린 또는 인간 Fc이다. 일부 실시형태에서, Fc는 포유류 또는 인간 IgG1, lgG2, lgG3, 또는 lgG4 Fc 영역이다. 일부 실시형태에서, Fc는 IgG1, 예컨대 인간 IgG1로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 533에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 533에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함한다.

[0273] 일부 실시형태에서, Fc 영역은 정상 기능 중 하나 이상을 변경(예를 들어, 감소)시키기 위해 하나 이상의 변형을 함유한다. 일반적으로, Fc 영역은 항원-결합 능력에 추가로 면역글로불린의 주요 기능인 효과기 기능, 예컨대 상보체-의존적 세포독성(CDC) 및 항체-의존적 세포독성(ADCC)을 초래한다. 추가적으로, Fc 영역에 존재하는 FcRn 서열은 생체내 FcRn 수용체에 대한 접합에 의해 생체내 반감기를 증가시킴으로써 혈청 중의 IgG 수준을 조절하는 역할을 한다. 일부 실시형태에서, 이러한 기능은 제공된 Fc 융합 단백질과 함께 사용하기 위해 Fc에서 감소되거나 변경될 수 있다.

[0274] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형은 본 명세서에 제공된 CTLA-4-Fc 변이체 융합의 Fc 영역에 도입되어, Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. 일부 실시형태에서, Fc 영역 변이체는 감소된 효과기 기능을 가진다. 효과기 기능을 변경시키는 Fc 서열에 대한 변화 또는 돌연변이의 많은 예가 있다. 예를 들어, WO 2000/042072, WO2006/019447, WO2012/125850, WO2015/107026, 미국 특허 제2016/0017041호 및 문헌[Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 276(9):6591-6604(2001)]은 FcR에 대해 개선된 또는 감소된 결합을 갖는 예시적인 Fc 변이체를 기재한다. 상기 간행물의 내용은 본 명세서에 참고로 구체적으로 포함된다.

[0275] 일부 실시형태에서, 제공된 변이체 CTLA-4-Fc 융합은 감소된 효과기 기능을 나타내는 Fc 영역을 포함하는데, 생체내 CTLA-4-Fc 변이체 융합의 반감기가 중요하고 또한 특정 효과기 기능(예컨대 CDC 및 ADCC)가 불필요하거나 유해한 적용분야에 대한 바람직한 후보로 만든다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 수행될 수 있다. 예를 들어, CTLA-4-Fc 변이체 융합이 FcγR 결합(따라서 ADCC 활성을 결여할 가능성이 있음)을 결여하지만, FcRn 결합 능력을 보유한다는 것을 보장하기 위해 Fc 수용체(FcR) 결합 분석이 수행될 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포인 NK 세포는 FcγRIII만을 발현시키는 반면, 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII를 발현시킨다. 조혈세포에 대한 FcR 발현은 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-492(1991)]의 464 페이지의 표 3에서 요약한다.

[0276] 관심 대상 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 분석의 비제한적 예는 미국 특허 제5,500,362호(예를 들어, 문헌[Hellstrom et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83(18):7059-7063(1986)] 참조) 및 문헌[Hellstrom et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82(5):1499-1502(1985)]; 미국 특허 제5,821,337호(문헌[Bruggemann et al., *J. Exp. Med.* 166(5):1351-1361(1987)] 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로, 비방사성 분석 방법이 사용될 수 있다(예를 들어, 유세포 분석을 위한 ACTI(상표명) 비방사성 세포독성 분석(캘리포니아주 마운틴 뷰에 소재한 셀테크놀로지 인코포레이티드(CellTechnology, Inc.) 참조); 및 사이토톡스(CytoTox) 96(상표명) 비방사성 세포독성 분석(위스콘신주 메디슨에 소재한 프로메가(Promega)). 이러한 분석을 위한 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 관심 대상 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어, 문헌[Clynes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(2):652-656(1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다.

[0277] CTLA-4-Fc 변이체 융합이 C1q에 결합할 수 없고 따라서 CDC 활성을 결여한다는 것을 확인하기 위해 C1q 결합 분석이 또한 수행될 수 있다. 예를 들어, WO 2006/029879 및 WO 2005/100402에서의 C1q 및 C3c 결합 ELISA 참조. 상보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 분석이 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 202:163(1997); Cragg et al., *Blood*, 101(3):1045-1052(2003); 및 Cragg and Glennie, *Blood*, 103(7):2738-2743(2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 클리어런스/반감기 결정은 또한 당업계에 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Petkova et al., *Int. Immunol.*, 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0278] 감소된 효과기 기능을 갖는 CTLA-4-Fc 변이체 융합은 EU 넘버링에 의해 Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329 중 하나 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다(미국 특허 제6,737,056호). 이러한 Fc 돌연변이체는 알라닌에 대한 잔기 265 및 297의 치환을 갖는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하는, EU 넘버링에 의한 아미노산 위치 265, 269, 270, 297 및 327 중 2 이상에서 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다(미국 특허 제7,332,581호).

[0279] 일부 실시형태에서, CTLA-4-Fc 변이체 융합의 Fc 영역은 234, 235, 236, 237, 238, 239, 270, 297, 298, 325 및 329번 위치(EU 넘버링에 의해 나타냄)에서 아미노산 중 임의의 하나 이상이 천연 Fc에 비해 상이한 아미노산으로 치환되는 Fc 영역을 가진다. Fc 영역의 이러한 변경은 상기 기재한 변경으로 제한되지 않으며, 예를 들어, 문헌[Stohl, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 20(6):685-691(2009)]에 기재된 탈글리코실화 쇄(N297A 및 N297Q), IgG1-N297G, IgG1-L234A/L235A, IgG1-L234A/L235E/G237A, IgG1-A325A/A330S/P331S, IgG1-C226S/C229S, IgG1-C226S/C229S/E233P/L234V/L235A, IgG1- E233P/L234V/L235A/G236del/ S267K, IgG1-L234F/L235E/P331S, IgG1-S267E/L328F, IgG2-V234A/G237A, IgG2-H268Q/V309L/A330S/A331S, IgG4-L235A/G237A/E318A, 및 IgG4-L236E와 같은 변경; WO 2008/092117에 기재된 G236R/L328R, L235G/G236R, N325A/L328R, 및 N325LL328R과 같은 변경; 233, 234, 235, 및 237번 위치(EU 넘버링에 의해 나타냄)에서의 아미노산 삽입; 및 WO 2000/042072에 기재된 부위에서의 변경을 포함한다.

[0280] FcR에 대한 개선된 또는 감소된 특정 Fc 변이체는 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 제6,737,056호; WO 2004/056312, WO2006019447 및 문헌[Shields et al., *J. Biol. Chem.*, 276(9):6591-6604(2001)] 참조).

[0281] 일부 실시형태에서, 반감기를 증가시키고/시키거나 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 결합을 개선시키는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 변이체 Fc 영역을 포함하는 CTLA-4-Fc 변이체 융합이 제공된다. 증가된 반감기를 갖고 FcRn에 대해 개선된 결합을 갖는 항체는 미국 특허 제2005/0014934A1호(Hinton *et al.*) 또는 WO2015107026에 기재되어 있다. 상기 항체들은 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 하나 이상의 치환이 있는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 EU 넘버링에 의해 Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 하나 이상에

서 치환, 예를 들어, Fc 영역 잔기 434의 치환을 갖는 것을 포함한다(미국 특허 제7,371,826).

[0282] 일부 실시형태에서, CTLA-4-Fc 변이체 융합의 Fc 영역은 EU 넘버링에 의해 하나 이상의 아미노산 치환 E356D 및 M358L을 포함한다. 일부 실시형태에서, CTLA-4-Fc 변이체 융합의 Fc 영역은 EU 넘버링에 의해 하나 이상의 아미노산 치환 C220S, C226S, 및/또는 C229S를 포함한다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 변이체 융합의 Fc 영역은 EU 넘버링에 의해 하나 이상의 아미노산 치환 R292C 및 V302C를 포함한다. 또한 Fc 영역 변이체의 다른 예에 관해 문헌[Duncan & Winter, *Nature*, 332(6166):738-40 (1988)]; 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO 94/29351 참조.

[0283] 일부 실시형태에서, 야생형 IgG1 Fc는 EU 넘버링에 의해 356 및 358번 위치에서 잔기 Glu(E) 및 Met(M)을 함유하는 알로타입(allotype)(예를 들어, f 알로타입)을 갖는 서열번호 533에 제시된 Fc일 수 있다. 다른 실시형태에서, 야생형 IgG1 Fc는 인간 G1m1 알로타입의 아미노산, 예를 들어, 서열번호 638에 제시된 바와 같은 356 및 358번 위치에서 Asp (D) 및 Leu(L)을 함유하는 잔기를 함유한다. 따라서, 일부 경우에, 본 명세서에 제공된 Fc는 알로타입 G1 m1의 잔기(예를 들어, 알파 알로타입)를 재구성하기 위해 아미노산 치환 E356D 및 M358L을 함유할 수 있다. 일부 양상에서, 야생형 Fc는 효과기 활성을 감소시키기 위해 또는 Fc 효과기 기능을 위해 Fc 비활성을 제공하기 위해 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 변형된다. 예시적인 효과기 없음 또는 비활성 돌연변이는 본 명세서에 기재된 것을 포함한다. 본 명세서에 제공된 작제물의 Fc에 포함될 수 있는 효과기 없음 돌연변이 중에 EU 넘버링에 의한 L234A, L235E 및 G237A가 있다. 일부 실시형태에서, 야생형 Fc는 하나 이상의 시스테인 잔기의 제거에 의해, 예컨대 EU 넘버링에 의한 220번 위치에서 시스테인 잔기의 세린 잔기로의 대체(C220S)에 의해 추가로 변형된다. 감소된 효과기 기능을 갖는 예시적인 비활성 Fc 영역은 서열번호 526 및 서열번호 438 또는 439에 제시되어 있으며, 이들은 각각 서열번호 533 또는 서열번호 638에 제시된 알로타입에 기반한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 작제물에서 사용되는 Fc 영역은 C-말단의 라이신 잔기를 추가로 결여할 수 있다.

[0284] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 미국 특허 제6,194,551호, WO 99/51642, 및 문헌[Idusogie et al., *J. Immunol.*, 164(8):4178-4184(2000)]에 기재된 바와 같은, 감소된 C1q 결합 및/또는 상보체 의존적 세포독성(CDC)을 초래하는 Fc 영역에서 변경이 만들어진다.

[0285] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 변이체 Fc 영역을 포함하는 CTLA-4-Fc 변이체 융합이 제공되되, 변이체 Fc 영역은 IgG1, 예컨대 인간 IgG1로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 서열번호 533에 제시된 아미노산 서열로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 533의 넘버링에 의해 N82G(EU 넘버링에 의해 N297G에 대응)인 적어도 하나의 아미노산 치환을 함유한다. 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 533의 넘버링에 의해 R77C 또는 V87C(EU 넘버링에 의해 R292C 또는 V302C에 대응)인 적어도 하나의 아미노산 치환을 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 서열번호 533의 넘버링에 의해 C5S 아미노산 변형(EU 넘버링에 의해 C220S에 대응)을 추가로 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 다음의 아미노산 변형을 포함한다:

[0286] V297G 및 EU 넘버링에 의한 다음의 아미노산 변형 C220S, R292C 또는 V302C 중 하나 이상(서열번호 533에 관해 N82G 및 다음의 아미노산 변형 C5S, R77C 또는 V87C 중 하나 이상에 대응), 예를 들어, Fc 영역은 서열번호 440에 제시된 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 아미노산 변형 C220S, L234A, L235E 또는 G237A 중 하나 이상을 포함하고, 예를 들어, Fc 영역은 서열번호 441에 제시된 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc 영역은 아미노산 변형 C220S, L235P, L234V, L235A, G236del 또는 S267K 중 하나 이상을 포함하고, 예를 들어, Fc 영역은 서열번호 442에 제시된 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 Fc는 아미노산 변형 C220S, L234A, L235E, G237A, E356D 또는 M358L 중 하나 이상을 포함하고, 예를 들어, Fc 영역은 서열번호 439에 제시된 서열을 포함한다.

[0287] 일부 실시형태에서, Fc 영역은 서열번호 533에 제시된 야생형 또는 비변형 Fc의 232번 위치에 대응하는(EU 넘버링에 의해 K447del에 대응하는) C-말단의 라이신이 없다. 일부 양상에서, 예컨대 Fc 영역은 하나 이상의 추가적인 변형, 예를 들어, 아미노산 치환, 예컨대 기재된 어느 것을 추가적으로 포함할 수 있다. 이러한 Fc 영역의 예는 서열번호 438, 526, 527 또는 528에 제시된다.

[0288] 일부 실시형태에서, 변이체 Fc가 서열번호 438 내지 442 또는 526 내지 528 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 438 내지 442 또는 526 내지 528 중 어느 것에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함하는 변이체 Fc 영역을 포함하는 CTLA-4-Fc 변이체 융합이 제공된다.

[0289] 일부 실시형태에서, Fc는 IgG2, 예컨대 인간 IgG2로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 529에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 529에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함한다.

[0290] 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 530에 대해 서열번호 530에 제시된 인간 IgG4의 아미노산 서열 또는 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, IgG4 Fc는 인간 IgG4의 CH3 도메인이 인간 IgG1의 CH3 도메인으로 치환되고 저해된 응집물 형성을 나타내는 안정화된 Fc, 인간 IgG4의 CH3 및 CH2 도메인이 각각 인간 IgG1의 CH3 및 CH2 도메인으로 치환되는 항체, 또는 인간 IgG4의 문헌[Kabat et al.]에 의해 제안된 EU 지표에 표시된 409번 위치에서의 알라닌이 라이신으로 치환되고 저해된 응집물 형성을 나타내는 항체이다(예를 들어, 미국 특허 제8,911,726호 참조). 일부 실시형태에서, Fc는 Fab-아암 교환에 의해 치료적 항체와 내인성 IgG4 사이의 재조합을 방지하는 것으로 나타난 S228P 돌연변이를 함유하는 IgG4이다(예를 들어, 문헌[Labrijin et al. (2009), *Nat. Biotechnol.*, 27(8)767-71.] 참조). 일부 실시형태에서, Fc는 서열번호 531에 제시된 S228P을 갖는 인간 IgG4에 제시된 아미노산 서열 또는 서열번호 531에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함한다.

[0291] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 Fc 서열에 직접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 Fc 서열에, 예컨대 링커를 통해 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 "펩타이드 링커"는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드와 Fc 도메인을 연결한다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 길이가 단일 아미노산 잔기이거나 또는 더 클 수 있다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 길이가 적어도 하나의 아미노산 잔기이지만, 20개 이하, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1 아미노산 잔기이다. 일부 실시형태에서, 링커는 3개의 알라닌(AAA)이다. 일부 실시형태에서, 링커는 (한 글자 아미노산 암호로): GGGGS("4GS"; 서열번호 535) 또는 4GS 링커의 다량체, 예컨대 2, 3, 4 또는 5개의 4GS 링커의 반복부, 예컨대 서열번호 537 (2xGGGGS) 또는 서열번호 536(3xGGGGS)에 제시된 것이다. 일부 실시형태에서, 링커는 (한 글자 아미노산 암호로) GSGGGGS(서열번호 534)이다. 일부 실시형태에서, 링커는 2xGGGGS 다음에 3개의 알라닌(GGGGSGGGGSAAA; 서열번호 538)이다.

[0292] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 또는 388 내지 437에 제시된 CTLA-4-Fc 서열 중 어느 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 또는 388 내지 437에 제시된 CTLA-4-Fc 서열 중 어느 것에 대해 적어도 90% 동일성, 적어도 91% 동일성, 적어도 92% 동일성, 적어도 93% 동일성, 적어도 94% 동일성, 적어도 95% 동일성, 예컨대 적어도 96% 동일성, 97% 동일성, 98% 동일성, 또는 99% 동일성을 나타내고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 아미노산 변형(들), 예를 들어, 치환(들)을 함유하는 폴리펩타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 또는 388 내지 437에 제시된 CTLA-Fc 서열 중 어느 것의 특이적 결합 단편을 포함하고, 야생형 또는 비변형 CTLA-4에 존재하지 않는 아미노산 변형(들), 예를 들어, 치환(들)을 함유한다.

[0293] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4-Fc 융합 단백질은 Fc 도메인에 연결된 2개의 변이체 CTLA-4 Fc 폴리펩타이드에 의해 형성된 이량체이다. 일부 실시형태에서, 이량체는 2개의 변이체 CTLA-4 Fc 폴리펩타이드가 동일한 동형이량체이다. 일부 실시형태에서, 이량체는 2개의 변이체 CTLA-4 Fc 폴리펩타이드가 상이한 이형이량체이다.

[0294] 또한 변이체 CTLA-4-Fc 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시형태에서, Fc 융합 단백질의 생성을 위해, 변이체 CTLA-4-Fc 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 적절한 발현 벡터 내로 삽입된다. 얻어진 변이체 CTLA-4-Fc 융합 단백질은 Fc 도메인 사이의 조립체가 Fc 모이어티 사이에 형성된 쇄간 이황화 결합에 의해 생성되어 이량체, 예컨대 2가, 변이체 CTLA-4-Fc 융합 단백질을 수득하는 발현에 의해 형질전환된 숙주 세포에서 발현될 수 있다.

[0295] 얻어진 Fc 융합 단백질은 단백질 A 또는 단백질 G 칼럼을 거쳐서 친화도 크로마토그래피에 의해 용이하게 정제될 수 있다. 이형이량체화의 생성을 위해, 정제를 위한 추가적인 단계가 필요할 수 있다. 예를 들어, 상이한 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 암호화하는 2개의 핵산이 세포 내로 형질전환되는 경우, 이형이량체의 형성이 생화학적으로 달성되어야 하는데, Fc-도메인을 운반하는 변이체 CTLA-4 분자가 이황화물-결합된 동형이량체로서도 발현될 수 있다. 따라서, 동형이량체는 쇄간 이황화물의 붕괴를 선호하는 조건 하에 감소될 수 있지만, 쇄내 이황화물에는 어떠한 효과도 없다. 일부 경우에, 상이한 변이체-CTLA-4 Fc 단량체는 등몰량으로 혼합되며, 산화되어 동형이량체와 이형이량체의 혼합물을 형성한다. 이 혼합물의 성분은 크로마토그래피 기법에 의해 분리된다.

대안적으로, 이 유형의 이형이량체의 형성은 이하에 기재하는 노브-인투-홀 방법을 이용하여 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 Fc 융합 분자를 유전자 조작하고 발현시킴으로써 편향될 수 있다.

[0296] **B. 추가적인 IgSF 도메인을 갖는 적층 분자**

[0297] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 하나 이상의 다른 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인("II형" 면역조절 단백질로도 불리는 "적층된" 면역조절 단백질 작제물)에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 중 어느 것을 함유할 수 있다. 일부 양상에서, 이는 2 이상의, 예컨대 3 이상의, 동족 결합 상대에 결합하는 독특한 다중-도메인 면역조절 단백질을 생성함으로써, 면역 시냅스의 다중-표적화 조절을 제공할 수 있다.

[0298] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 패밀리 구성원에서 발견되지 않는 다른 IgSF 패밀리 구성원(예를 들어, 포유류 IgSF 패밀리 구성원)의 하나 이상의 다른 친화도 변형된 및/또는 비-친화도 변형된 IgSF 도메인 서열을 갖는 변이체 CTLA-4 도메인의 조합("비-야생형 조합") 및/또는 배열("비야생형 배열" 또는 "비야생형 순열")을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 2, 3, 4, 5 또는 6개의 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인을 함유하며, IgSF 도메인 중 적어도 하나는 제공된 설명에 따라 변이체 CTLA-4 IgSF 도메인(CTLA-4의 vIgD)이다.

[0299] 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인의 서열은 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 함유하는 변형된 IgSF 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, IgSF 도메인은 비-친화도 변형(예를 들어, 야생형)될 수 있거나 친화도 변형되었다. 일부 실시형태에서, 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인은 마우스, 래트, 사이노몰거스 원숭이, 또는 인간 유래, 또는 이들의 조합으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 구성원의 IgSF 도메인일 수 있다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 구성원에 함유된 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형, 예를 들어, 치환을 함유하는 친화도-변형된 IgSF 도메인일 수 있다.

[0300] 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 신호-조절 단백질(SIRP) 패밀리, 골수 세포 유사(TREML) 패밀리 상에서 발현된 촉발 수용체, 암배 항원-관련 세포 접착 분자(CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴(SIGLEC) 패밀리, 뷰티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유(VSIG) 패밀리, V-세트 막관통 도메인(VSTM) 패밀리, 주조직 적합 복합체(MHC) 패밀리, 신호전달 림프구 활성화 분자(SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체(LIR), 넥틴(Nectin)(Nec) 패밀리, 넥틴-유사(NECL) 패밀리, 폴리오바이러스 수용체 관련(PVR) 패밀리, 천연 세포독성 촉발 수용체(NCR) 패밀리, T 세포 면역글로불린 및 뮤신(TIM) 패밀리 또는 살해-세포 면역글로불린-유사 수용체(KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리 구성원에 함유된 친화도 또는 비-친화도 변형된 IgSF 도메인이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 CD80(B7-1), CD86(B7-2), CD274(PD-L1, B7-H1), PDCD1LG2(PD-L2, CD273), ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2), CD276(B7-H3), VTCN1(B7-H4), CD28, CTLA4, PDCD1(TIGIT), ICOS, BTLA(CD272), CD4, CD8A(CD8-알파), CD8B(CD8-베타), LAG3, HAVCR2(TIM-3), CEACAM1, TIGIT, PVR(CD155), PVRL2(CD112), CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R1(CD200R) 및 NCR3(NKp30)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 IgSF 단백질로부터 독립적으로 유래된다.

[0301] "적층된" 면역조절 단백질 작제물에 (비야생형 조합이든 비야생형 배열이든) 존재하는 이러한 비-친화도 변형된 또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 수는 적어도 2, 3, 4 또는 5개이며, 일부 실시형태에서 정확히 2, 3, 4 또는 5개의 IgSF 도메인이다(이에 의해 친화도 변형된 IgSF 도메인 수의 결정은 이의 임의의 비특이적 결합 분획 서열 및/또는 이의 실질적으로 면역적으로 비활성인 분획 서열을 무시한다).

[0302] 본 명세서에 제공된 적층된 면역조절 단백질의 일부 실시형태에서, IgSF 도메인의 수는 적어도 2이되, 친화도 변형된 IgSF 도메인의 수 및 비-친화도 변형된 IgSF 도메인의 수는 각각 독립적으로 적어도 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 따라서, 친화도 변형된 IgSF 도메인의 수 및 비-친화도 변형된 IgSF 도메인의 수는 각각 (친화도 변형된 IgSF 도메인: 비-친화도 변형된 IgSF 도메인) 정확히 또는 적어도: 2:0(친화도 변형된: 야생형), 0:2, 2:1, 1:2, 2:2, 2:3, 3:2, 2:4, 4:2, 1:1, 1:3, 3:1, 1:4, 4:1, 1:5, 또는 5:1일 수 있다.

[0303] 적층된 면역조절 단백질의 일부 실시형태에서, 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 둘은 동일한 IgSF 도메인이다.

[0304] 적층된 면역조절 단백질의 일부 실시형태에서, 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인은 비-동일(즉, 상이한) IgSF 도메인이다. 비-동일 친화도 변형된 IgSF 도메인은 특이적 결합 조건 하에, 상이한 동족 결합 상대에 특이적으로 결합하고, 이들로부터 조작된 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인이 동일한지의 여부와 상관

없이 "비-동일"이다. 따라서, 예를 들어, 면역조절 단백질 내 적어도 2개의 비-동일 IgSF 도메인의 비-야생형 조합은 이것이 유래되고 하나의 CTLA-4에 고유한 적어도 하나의 IgSF 도메인 서열 및 이것이 유래되고 CTLA-4가 아닌 다른 IgSF 패밀리 구성원에 고유한 적어도 하나의 제2 IgSF 도메인 서열을 포함할 수 있되, 면역조절 단백질의 IgSF 도메인은 비-친화도 변형 및/또는 친화도 변형된 형태이다. 그러나, 대안의 실시형태에서, 2개의 비 동일 IgSF 도메인은 동일한 IgSF 도메인 서열로부터 유래되지만, 적어도 하나는 친화도 변형되어, 이들은 상이한 동족 결합 상태에 특이적으로 결합한다.

[0305] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 것에 추가로 제공된 면역조절 단백질은 또한 적어도 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 추가적인 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인, 예컨대 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 구성원의 IgD 도메인을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 하나의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 2개의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 및 제3 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 3개의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2, 제3 및 제4 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 4개의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2, 제3, 제4 및 제5 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 5개의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2, 제3, 제4, 제5 및 제6 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 6개의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6 및 제7 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질 내 IgSF 도메인 각각은 상이하다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 면역조절 단백질에서 적어도 하나의 다른 IgSF 도메인과 동일하다. 일부 실시형태에서, IgSF 도메인의 각각은 상이한 IgSF 패밀리 구성원으로부터 생기 이로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, IgSF 도메인 중 적어도 둘은 동일한 IgSF 패밀리 구성원으로부터 생기 이로부터 유래된다.

[0306] 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들, 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편 또는 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들의 특이적 결합 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 전장 IgV 도메인이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 전장 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 IgV 도메인의 특이적 결합 단편이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가적인 IgSF 도메인은 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들의 특이적 결합 단편이거나 이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 단일(동일한) IgSF 구성원으로부터의 적어도 2개의 추가적인 IgSF 도메인을 함유한다. 예를 들어, 일부 양상에서, 면역조절 단백질은 전장 IgV 도메인 및 전장 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들 또는 이의 특이적 결합 단편을 함유하는 IgSF 구성원의 ECD 또는 이의 일부를 함유한다.

[0307] 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 하나의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 또는, 일부 경우에, 또한 제3 IgSF 도메인)을 함유하며, 이때 적어도 하나의 추가적인, 예를 들어, 제2 또는 제3 IgSF 도메인은 야생형에 제시된 IgSF 도메인 또는 서열번호 1, 443 내지 469 중 어느 것에 제시된 아미노산 서열에 함유된 비변형 IgSF 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 IgC 도메인, 예컨대 IgC1 또는 IgC2 도메인이다.

[0308] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 것이 추가로 제공된 면역조절 단백질은 또한 적어도 하나의 추가적인 친화도-변형된 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 또는, 일부 경우에, 또한 제3 친화도-변형된 IgSF 도메인 등)을 함유하며, 이때 적어도 하나의 추가적인 IgSF 도메인은 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인 내 IgSF 도메인, 예컨대 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 구성원 내 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환, 결실 또는 돌연변이)를 함유하는 vIgD이다. 일부 실시형태에서, 추가적인, 예를 들어, 제2 또는 제3 친화도-변형된 IgSF 도메인은 서열번호 1, 443 내지 469 중 어느 것에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 포함한다.

[0309] 일부 실시형태에서, 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 IgC 도메인, 예컨대 IgC1 또는 IgC2 도메인이다. 일부 실시형태에서, 추가적인, 예를 들어, 제2 또는 제3 IgSF 도메인은 친화도-변형된 IgV 도메인 및/또는 IgC 도메인이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인은 IgV 도메인 및/또는 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인, 또는 IgV 도메인의 특이적 결합 단편 및/또는 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들의 특이적 결합 단편을 함유하는 친화도-변형된 IgSF 도메인이며, 이때 IgV 및/또는 IgC 도메인은 아미노산 변형(들)(예를 들어, 치환(들))을 함유한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가적인 친화도-변형된

IgSF 도메인은 아미노산 변형(들)(예를 들어, 치환(들))을 함유하는 IgV 도메인을 함유한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가적인 친화도-변형된 IgSF 도메인은 대응하는 비변형 IgSF 패밀리 구성원의 ECD 또는 ECD의 일부에 존재하는 IgSF 도메인, 예컨대 전장 IgV 도메인 및 전장 IgC(예를 들어, IgC2) 도메인 또는 도메인들, 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하며, 이때 IgV 및 IgC 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형(들)(예를 들어, 치환(들))을 함유한다.

[0310] 일부 실시형태에서, 제공된 면역조절 단백질은 CTLA-4 이외의 야생형 또는 비변형 IgSF 도메인의 IgSF 도메인(예를 들어, IgV)에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 vIgD인, 적어도 하나의 추가적인(예를 들어, 제2 또는, 일부 경우에, 또한 제3 IgSF 도메인 등) IgSF 도메인을 함유한다.

[0311] 일부 실시형태에서, 다른 IgSF 패밀리 구성원으로부터의 CTLA-4 및 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)의 vIgD를 포함하는 2 이상의 IgSF 도메인은 공유적으로 또는 비공유적으로 연결된다. 적층된 면역조절 단백질 폴리펩타이드 쇄에서 복수의 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인은 서로에 대해 직접적으로 공유적으로 연결될 필요는 없다. 일부 실시형태에서, 2 이상의 IgSF 도메인은 직접적으로 또는 예컨대 링커를 통해 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기의 개재 스팬(intervening span)은 IgSF 도메인을 서로에 대해 간접적으로 공유결합시킨다. 결합은 N-말단 내지 C-말단의 잔기를 통할 수 있다. 일부 실시형태에서, 결합은 IgSF 도메인(들)의 N-말단 또는 C-말단에 위치되지 않은 아미노산 잔기의 측쇄를 통해 이루어질 수 있다. 따라서, 결합은 말단 또는 내부의 아미노산 잔기 또는 이들의 조합을 통해 이루어질 수 있다.

[0312] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 적어도 2개의 IgSF 도메인을 함유하며, 각각 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 적어도 3개의 면역조절 단백질을 함유하며, 각각 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 연결된다. 다양한 입체배치를 도 6a 및 도 6b에 나타낸다.

[0313] 일부 실시형태에서, 하나 이상의 "펩타이드 링커"는 CTLA-4 및 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)의 vIgD를 연결시킨다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 길이가 단일 아미노산 잔기이거나 더 길 수 있다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 갖지만, 길이가 20개 이하, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 잔기이다. 일부 실시형태에서, 링커는 (한 글자 아미노산 암호로): GGGGS("4GS"; 서열번호 535 또는 4GS 링커의 다량체, 예컨대 2, 3, 4 또는 5개의 4GS 링커의 반복부이다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 링커는 $(GGGGS)_2$(서열번호 537) 또는 $(GGGGS)_3$(서열번호 536)이다. 일부 실시형태에서, 링커는 또한 단독으로 또는 펩타이드 링커(예컨대 4GS 링커 또는 이의 다량체; 예를 들어, 서열번호 538 참조)에 추가로 일련의 알라닌 잔기를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 각각의 시리즈에서 알라닌 잔기의 수는 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 알라닌이다.

[0314] 일부 실시형태에서, 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인은 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 N-말단 및/또는 C-말단에서 삽입된 "야생형 펩타이드 링커"에 의해 연결된다. 이들 링커는 또한 리딩 서열(비-친화도 변형된 또는 친화도 변형된 IgSF 도메인에 대한 N-말단) 또는 트레일링(trailing)서열(비-친화도 변형된 또는 친화도 변형된 IgSF 도메인에 대해 C-말단), 및 IgSF의 Ig 접힘의 구조적 예측 바로 바깥쪽으로 걸쳐 있는 야생형 단백질에 존재하는 서열로 불린다. 일부 실시형태에서, "야생형 링커"는 야생형 단백질의 아미노산 서열에서 신호 서열 다음에, 그러나 IgSF 도메인, 예컨대 정해진 IgV 도메인 앞에 존재하는 아미노산 서열이다. 일부 실시형태에서, "야생형" 링커는 야생형 단백질의 아미노산 서열에서 IgSF 도메인 바로 다음에, 예컨대 정해진 IgV 도메인 바로 다음에, 그러나 IgC 도메인 앞에 존재하는 아미노산 서열이다. 이들 링커 서열은 이웃하는 IgSF 도메인(들)의 적절한 접힘 및 기능에 기여할 수 있다.

[0315] 일부 실시형태에서, 제1 IgSF 도메인의 N-말단에 삽입된 리딩 펩타이드 링커 및/또는 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 트레일링 서열에 존재한다. 일부 실시형태에서, 제2 IgSF 도메인의 N-말단에 삽입된 제2 리딩 펩타이드 링커 및/또는 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인에 삽입된 제2 트레일링 서열이 존재한다. 제1 및 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 동일한 모 단백질로부터 유래되고 동일한 배향으로 연결될 때, 제1 및 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인 사이의 야생형 펩타이드 링커는 중복되지 않는다. 예를 들어, 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커와 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커가 동일할 때, II형 면역조절 단백질은 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커 또는 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커 중 하나를 포함하지 않는다.

[0316] 일부 실시형태에서, II형 면역조절 단백질은 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 N-말

단에 삽입된 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커를 포함하되, 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커는 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 앞에 오는 도메인(예컨대 신호 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 개재 서열로부터의 적어도 5개의(예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상 중 어느 것)연속적 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커는 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 앞에 오는 도메인(예컨대 신호 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함한다.

[0317] 일부 실시형태에서, II형 면역조절 단백질은 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커를 추가로 포함하되, 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 다음의 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막관통 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 개재 서열로부터의 적어도 5개의(예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 이상 중 어느 것) 연속적 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 제1 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 다음의 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막관통 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함한다.

[0318] 일부 실시형태에서, II형 면역조절 단백질은 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 N-말단에 삽입된 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커를 더 포함하되, 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커는 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 앞에 오는 도메인(예컨대 신호 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 개재 서열로부터의 적어도 5개의(예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상의 중 어느 것) 연속적 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커는 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 앞에 오는 도메인(예컨대 신호 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함한다.

[0319] 일부 실시형태에서, II형 면역조절 단백질은 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커를 더 포함하되, 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 다음의 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막관통 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 개재 서열로부터 적어도 5개의(예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상 중 어느 것) 연속적 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 제2 비-친화도 변형된 및/또는 친화도 변형된 IgSF 도메인이 모 IgSF 도메인과 바로 다음의 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막관통 도메인) 사이에서 유래된 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함한다.

[0320] 일부 실시형태에서, CTLA-4의 vIgD 및 다른 IgSF 패밀리 구성원으로부터의 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 및/또는 제3 변이체 IgSF 도메인)을 포함하는 2 이상의 IgSF 도메인은 Fc에 연결되거나 부착되어 Fc 융합을 형성하고, 이는 세포에서 발현 시, 일부 양상에서, 이량체 다중-도메인 적층 면역조절 단백질을 생성할 수 있다. 따라서, 또한 이량체 다중-도메인 면역조절 단백질이 제공된다.

[0321] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인은 독립적으로 Fc 영역의 N- 또는 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 직접적으로 또는 간접적으로 연결되며, 변이체 CTLA-4 중 하나 및 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인 중 하나는 또한 Fc 영역의 N- 또는 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, Fc 영역의 N- 또는 C-말단은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인에 연결되고, Fc 영역의 N- 또는 C-말단 중 다른 하나는 CTLA-4 변이체의 나머지 또는 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인 중 나머지에 연결된다. 일부 실시형태에서, Fc에 대한 결합은 펩타이드 링커, 예를 들어, 펩타이드 링커, 예컨대 상기 기재한 것을 통한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4와 제2 IgSF 도메인 사이의 결합은 펩타이드 링커, 예를 들어, 펩타이드 링커, 예컨대 상기 기재한 것을 통한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4와 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인 사이의 결합은 펩타이드 링커, 예를 들어, 펩타이드 링커, 예컨대 상기 기재한 것을 통한다. 일부 실시형태에서, CTLA-4의 vIgD, 하나 이상의 추가적인 IgSF 도메인, 및 Fc 도메인은 도 6a 및 도 6b에 도시된 바와 같은 임의의 다수의 입체배치로 함께 연결될 수 있다. 예시적인 입체배치는 실시예에 기재되어 있다.

[0322] 일부 실시형태에서, 적층된 면역조절 단백질은 2개의 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드에 의해 형성된 이량체이다. 또한 적층된 면역조절 단백질 중 어느 것을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시형태에서, 이량체 다중-도메인 적층 면역조절 단백질은 적층 면역조절 Fc 영역 폴리펩타이드, 예컨대 이량체 Fc 융합 단백질 생성에 따라 상기 기재된 것의 발현, 또는 일부 경우에 공동-발현에 의해 세포에서 생성될 수 있다.

[0323] 일부 실시형태에서, 이량체 다중-도메인 적층 면역조절 단백질은 각각의 Fc 소단위에 대해 2가, 각각의 소단위에 대해 1가, 또는 하나의 소단위에 대해 2가 및 다른 하나에 대해 4가이다.

[0324] 일부 실시형태에서, 이량체 다중-도메인 적층 면역조절 단백질은 동형이량체 다중-도메인 적층 Fc 단백질이다. 일부 실시형태에서, 이량체 다중-도메인 적층 면역조절 단백질은 제1 적층 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드 및 제2 적층 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드를 포함하며, 이때 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드는 동일하다.

[0325] 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 변이체 CTLA-4 및 제2 IgSF 도메인을 함유하는 제1 Fc 융합 폴리펩타이드 및 변이체 CTLA-4 및 제2 IgSF 도메인을 함유하는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드를 함유한다. 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 변이체 CTLA-4, 제2 IgSF 도메인 및 제3 IgSF 도메인을 함유하는 제1 Fc 융합 폴리펩타이드 및 변이체 CTLA-4, 제2 IgSF 도메인 및 제3 IgSF 도메인을 함유하는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드를 함유한다. 일부 실시형태에서, 제1 및/또는 제2 융합 폴리펩타이드의 Fc 부분은 상기 기재한 바와 같은 임의의 Fc일 수 있다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 융합 폴리펩타이드의 Fc 부분 또는 영역은 동일하다.

[0326] 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 두 상이한 Fc 융합 폴리펩타이드, 예를 들어, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 이형이량체이되, 적어도 하나는 적어도 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 Fc 융합 폴리펩타이드이고/이거나 적어도 하나는 제2 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)을 함유하는 Fc 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, 제1 또는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드는 제3 IgSF 도메인(예를 들어, 제3 변이체 IgSF 도메인)을 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 변이체 CTLA-4를 함유하는 제1 Fc 융합 폴리펩타이드 및 제2 IgSF 도메인을 함유하는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드를 함유하며, 이때, 일부 경우에, 제1 또는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드는 추가적으로 제3 IgSF 도메인을 함유한다. 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 변이체 CTLA-4, 제2 IgSF 도메인, 및 일부 경우에, 제3 IgSF 도메인을 함유하는 제1 Fc 융합 폴리펩타이드 및 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 추가적인 IgSF 도메인 중 하나에 연결되지 않는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드를 함유한다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 융합 폴리펩타이드의 Fc 부분 또는 영역은 동일하다. 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 융합 폴리펩타이드의 Fc 부분 또는 영역은 상이하다. 일부 실시형태에서, 다중-도메인 적층 분자는 1, 2, 3, 4개 이상의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 1, 2, 3, 4개 이상의 추가적인 IgSF 도메인을 함유하는 제1 융합 Fc 폴리펩타이드를 함유하되, 제1 적층 Fc 융합 폴리펩타이드 내 IgSF 도메인의 총 수는 2 초과, 3, 4, 5, 6 이상이다. 이러한 실시형태의 일례에서, 제2 적층 Fc 융합 폴리펩타이드는 1, 2, 3, 4개 이상의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 1, 2, 3, 4개 이상의 추가적인 IgSF 도메인을 함유하되, 제2 적층 Fc 융합 폴리펩타이드 내 IgSF 도메인의 총 수는 2 초과, 3, 4, 5, 6 이상이다. 이러한 실시형태의 다른 예에서, 제2 Fc 폴리펩타이드는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 추가적인 IgSF 도메인 중 하나에 연결되지 않는다.

[0327] 일부 실시형태에서, 이형이량체 적층 분자는 제1 적층 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드 및 제2 적층 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드를 함유하며, 이때 제1 및 제2 폴리펩타이드는 상이하다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 적층 분자는 Fc 영역 및 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및/또는 제2 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)을 함유하는 제1 Fc 폴리펩타이드 융합 및 Fc 영역 및 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 제2 IgSF 도메인 중 나머지를 함유하는 제2 Fc 폴리펩타이드 융합을 함유한다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 적층 분자는 Fc 영역 및 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및/또는 제2 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)을 함유하는 제1 Fc 폴리펩타이드 융합 및 Fc 영역 및 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드와 제2 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)을 둘 다 함유하지만, 제1 Fc 영역와 배향 또는 입체배치가 상이한 제2 Fc 폴리펩타이드 융합을 함유한다. 일부 실시형태에서, 제1 및/또는 제2 Fc 융합 폴리펩타이드는 또한 제3 IgSF 도메인(예를 들어, 제3 변이체 IgSF 도메인)을 함유한다.

[0328] 일부 실시형태에서, Fc 분자의 계면이 이형이량체화를 용이하게 하고/하거나 촉진시키기 위해 변형되도록 제1 및 제2 적층된 면역조절 Fc 융합 폴리펩타이드 중 하나 또는 둘 다의 Fc 도메인은 변형(예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 돌기가 제1 및 제2 Fc-함유 폴리펩타이드의 복합체화를 촉진시키기 위해 공동(cavity) 내에 위치 가능하도록, 변형은 제1 Fc 폴리펩타이드 내로 돌기(노브)의 도입 및 제2 Fc 폴리펩타이드 내로 공동(홀(hole))의 도입을 포함한다. 폴리펩타이드에서 돌기 또는 공동을 생성하기 위한 대체 및/또는 변형

을 위해 표적화된 아미노산은 전형적으로 제2 폴리펩타이드의 계면에서 하나 이사의 아미노산과 상호작용하거나 접촉하는 계면 아미노산이다.

[0329] 일부 실시형태에서, 아미노산의 서열은 Fc 서열이 서열의 N-말단 부분인 작제물에 대해 Fc 서열 앞에 첨가된다. 일부 경우에, 아미노산 서열 HMSSVSAQ(서열번호 539)은 Fc 서열이 서열의 N-말단 부분인 작제물에 대해 Fc 서열 바로 앞에 첨가된다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 적층 분자는 Fc 영역(노브) 및 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및/또는 제2 IgSF 도메인(예를 들어, 제2 변이체 IgSF 도메인)을 함유하는 제1 Fc 폴리펩타이드 융합, 및 제1과 제2 Fc 폴리펩타이드 융합의 Fc 영역 둘 다의 바로 앞에 첨가된 Fc 영역(홀) 및 스터퍼 서열 HMSSVSAQ(서열번호 539)을 함유하는 제2 Fc 폴리펩타이드 융합을 함유한다.

[0330] 일부 실시형태에서, 돌기(홀) 아미노산을 함유하도록 변형된 제1 폴리펩타이드는 제1 폴리펩타이드의 계면으로부터 돌출되고 따라서 제2 폴리펩타이드의 인접한 계면에서 보상적(compensatory) 공동(홀)에서 위치 가능한 적어도 하나의 측쇄를 갖는 아미노산으로의 천연 또는 본래의 아미노산의 대체를 포함한다. 가장 흔하게는, 대체 아미노산은 본래의 아미노산 잔기보다 더 큰 측쇄 용적을 갖는 것이다. 당업자는 돌기를 생성하는 아미노산의 이상적인 대체인 것을 확인하기 위해 아미노산 잔기의 특성을 결정하고/하거나 평가하는 방법을 안다. 일부 실시형태에서, 기의 형성을 위한 대체 잔기는 천연 유래 아미노산 잔기이며, 예를 들어, 알기닌 (R), 페닐알라닌 (F), 타이로신(Y), 또는 트립토판(W)을 포함한다. 일부 예에서, 대체에 대해 동정된 본래의 잔기는, 예를 들어, 알라닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 글리신, 세린, 트레오닌, 또는 발린과 같은 작은 측쇄를 갖는 아미노산 잔기이다.

[0331] 일부 실시형태에서, 공동(홀)을 함유하도록 변형된 제2 폴리펩타이드는 제2 폴리펩타이드의 계면으로부터 움푹 들어가고 따라서 제1 폴리펩타이드의 계면으로부터의 대응하는 돌기를 수용할 수 있는 적어도 하나 측쇄를 갖는 아미노산으로의 천연 또는 본래의 아미노산의 대체를 포함하는 것이다. 가장 흔하게는, 대체 아미노산은 본래의 아미노산 잔기보다 더 작은 측쇄 용적을 갖는 것이다. 당업자는 공동의 형성을 위한 이상적인 대체 잔기인 것을 확인하기 위해 아미노산 잔기의 특성을 결정하고/하거나 평가하는 방법을 안다. 일반적으로, 공동의 형성을 위한 대체 잔기는 천연 유래 아미노산이고, 예를 들어, 알라닌(A), 세린 (S), 트레오닌(T) 및 발린(V)을 포함한다. 일부 예에서, 대체에 대해 동정된 본래의 아미노산은, 예를 들어, 타이로신, 알기닌, 페닐알라닌, 또는 트립토판과 같은 거대 측쇄를 갖는 아미노산이다.

[0332] 인간 IgG1의 CH3 계면은, 예를 들어, 각각의 표면으로부터 1090 Å2 묻혀 있는 4개의 역평행 β-가닥 상에 위치된 각각의 도메인 상에 16개의 잔기를 수반한다(예를 들어, 문헌[Deisenhofer (1981), *Biochemistry*, 20(9):2361-2370; Miller (1990), *J Mol. Biol.*, 216(4):965-973; Ridgway et al. (1996), *Prot. Eng.*, 9(7):617-621]; 미국 특허 제5,731,168호 참조). 돌기 또는 홀을 생성하는 CH3 도메인의 변형은, 예를 들어, 미국 특허 제5,731,168호; 국제 특허 출원 WO98/50431 및 WO 2005/063816; 및 문헌[Ridgway et al. (1996), *Prot. Eng.*, 9(7):617-621]에 기재되어 있다. 일부 예에서, 돌기 또는 공동을 생성하는 CH3 도메인의 변형은 전형적으로 2개의 중심 역평행 β-가닥 상에 위치된 잔기에 표적화된다. 목적은 생성되는 돌기가 상대 CH3 도메인에서 보상적 공동에 의해 수용되는 것보다 주위 용매 내로 돌출됨으로써 수용될 수 있는 위험을 최소화하는 것이다.

[0333] 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 "노브 쇄"의 CH3 도메인 내 T366W 돌연변이 및 "홀 쇄"의 CH3 도메인에서 T366S, L368A, Y407V 돌연변이를 함유한다. 일부 경우에, 예를 들어, "노브" 또는 "홀" 쇄의 CH3 도메인 내로 Y349C 돌연변이 및 다른 쇄의 CH3 도메인 내로 E356C 돌연변이 또는 S354C 돌연변이를 도입함으로써 CH3 도메인 사이의 추가적인 쇄간 이황화 브리지가 또한 사용될 수 있다(Merchant et al. (1998), *Nature Biotech.*, 16(7):677-681). 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 2개의 CH3 도메인 중 하나에서 S354C, T366W 돌연변이 및 2개의 CH3 도메인 중 다른 하나에서 Y349C, T366S, L368A, Y407V 돌연변이를 함유한다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 2개의 CH3 도메인 중 하나에서 E356C, T366W 돌연변이 및 2개의 CH3 도메인 중 다른 하나에서 Y349C, T366S, L368A, Y407V 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 2개의 CH3 도메인 중 하나에서 Y349C, T366W 돌연변이 및 2개의 CH3 도메인 중 다른 하나에서 E356C, T366S, L368A, Y407V 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 2개의 CH3 도메인 중 하나에서 Y349C, T366W 돌연변이 및 2개의 CH3 도메인 중 다른 하나에서 S354C, T366S, L368A, Y407V 돌연변이를 포함한다. 다른 노브-인-홀 기술의 예는, 예를 들어, 유럽 특허 제1 870 459 A1호에 의해 기재된 바와 같이 당업계에 공지되어 있다.

[0334] 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자의 Fc 영역은 추가적으로 하나 이상의 다른 Fc 돌연변이, 예컨대 임의의 상기 기재한 것을 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이형이량체 분자는 효과기 기능을 감소시키는 돌연변이를

갖는 Fc 영역을 함유한다.

[0335] 일부 실시형태에서, CH3 돌기(노브) 또는 공동(홀) 변형을 함유하는 Fc 변이체는 적층된 면역조절 폴리펩타이드 어디에나, 그러나 전형적으로 이의 N- 또는 C-말단을 통해, 제1 및/또는 제2 적층된 면역조절 폴리펩타이드의 N- 또는 C-말단에 결합되어, 예컨대 융합 폴리펩타이드를 형성할 수 있다. 결합은 직접적이거나 또는 링커를 통해 간접적일 수 있다. 전형적으로, 노브 앤 홀 분자는 CH3 돌기 변형(들)을 함유하는 Fc 변이체에 연결된 제1 적층된 면역조절 폴리펩타이드와 CH3 공동 변형(들)을 함유하는 Fc 변이체에 연결된 제2 적층된 면역조절 폴리펩타이드의 공동 발현에 의해 생성된다.

[0336] **C. 변이체 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질의 접합체 및 융합**

[0337] 일부 실시형태에서, IgSF 패밀리(vIgD)의 Ig 도메인의 변이체를 포함하는 면역조절 단백질인 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드는 모이어티, 예컨대 효과기 모이어티, 예컨대 다른 단백질과 직접적으로 또는 간접적으로 접합되거나 융합되어 접합체("IgSF 접합체")를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 부착은, 예를 들어, 바이오틴-스트렙타비딘 비공유적 상호작용을 통해 공유적 또는 비공유적일 수 있다. 일부 실시형태에서, 앞서 언급한 모이어티 중 임의의 하나 또는 임의의 2개 이상의 조합은 Fc에 또는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드에 또는 둘 다에 부착될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 접합체, 예컨대 융합 폴리펩타이드는, 예컨대 자가면역 또는 염증 적응증을 치료하는 것과 관련된, 면역 반응을 저재하거나 약화시키기 위한 방법 및 용도에서 사용될 수 있다.

[0338] 일부 실시형태에서, 모이어티는 표적화 모이어티, 소분자 약물(500 달톤 미만의 몰 질량의 비-폴리펩타이드 약물), 독소, 세포정지제, 세포독성제, 면역억제제, 항-증식제, 진단 목적에 적합한 방사성활성제, 치료적 목적을 위한 방사성 금속 이온, 프로드러그-활성화 효소, 생물학적 반감기를 증가시키는 제제, 또는 진단제 또는 검출 가능한 제제일 수 있다.

[0339] 일부 실시형태에서, 효과기 모이어티는 일부 치료적 이점을 제공하는 치료제, 예컨대 치료적 면역억제제 또는 거부 방지 의약이다.

[0340] 일부 실시형태에서, 효과기 모이어티는 표적화 모이어티 또는 제제, 예컨대 세포 표면 항원, 예를 들어, 면역 세포 또는 활성화된 면역 세포 표면 상의 항원을 표적화하는 제제이다. 일부 실시형태에서, 효과기 모이어티는 직접적으로 또는 간접적으로 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지이다. 일부 실시형태에서, 효과기 모이어티는 단백질, 펩타이드, 핵산, 소분자 또는 나노입자이다.

[0341] 일부 실시형태에서, 동일하거나 상이할 수 있는 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 효과기 모이어티는 변이체 폴리펩타이드 또는 단백질에 접합되거나, 연결되거나 융합되어 IgSF 접합체를 형성한다. 일부 실시형태에서, 이러한 효과기 모이어티는 당업계에 공지되고 이하에 기재된 다양한 분자 생물학 또는 화학적 접합 및 결합 방법을 이용하여 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질에 부착될 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커, 예컨대 펩타이드 링커, 절단 가능한 링커, 비-절단성 링커 또는 접합 반응에 도움이 되는 링커는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질에 효과기 모이어티를 연결하거나 접합시키기 위해 사용될 수 있다.

[0342] 일부 실시형태에서, IgSF 접합체는 다음의 성분을 포함한다: (단백질 또는 폴리펩타이드), $(L)_q$ 및 (효과기 모이어티)$_m$, 여기서, 단백질 또는 폴리펩타이드는 기재된 바와 같은 하나 이상의 결합 상대에 결합할 수 있는 기재된 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질 중 어느 것이고; L은 모이어티에 단백질 또는 폴리펩타이드를 연결하기 위한 링커이며; m은 적어도 1이고; q는 0 이상이며; 얻어진 IgSF 접합체는 하나 이상의 상대 구조 리간드에 결합한다. 특정 실시형태에서, m은 1 내지 4이고, q는 0 내지 8이다.

[0343] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 특정 세포에 대한 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 표적화된 전달을 위해, 세포 표면 분자에 결합하는 표적화제에 접합된 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 포함하는 IgSF 접합체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 표적화제는 대상체에서 정상 세포/조직에 국소화하고 결합하는 능력을 갖는 분자(들), 예컨대 림프 조직, 면역 세포, 예컨대 활성화된 면역 세포 또는 비-활성화된 면역 세포, 및/또는 염증 환경의 조직 상에 존재하는 분자이다. 다시 말해서, 표적화제를 포함하는 IgSF 접합체는 세포, 예컨대 종양 세포 상에 존재하는 리간드에(직접적으로 또는 간접적으로) 결합할 수 있다. 사용을 위해 상정되는 본 발명의 표적화제는 표적 세포 또는 분자의 성분에 결합할 수 있는, 항체, 폴리펩타이드, 펩타이드, 앱타머, 다른 리간드 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0344] 일부 실시형태에서, IgSF 접합체는 표적화제를 통해 면역 세포, 염증 환경의 조직, 또는 림프 조직, 예컨대 비

장, 편도, 림프관, 림프절, 아데노이드, 및/또는 간 조직의 세포 성분에 국소화, 예컨대 결합하여, 면역 반응의 국소화된 세포를 조절할 것이다. 일부 실시형태에서, 표적화제는, 예컨대 결합 상대를 보유하고/하거나 결합 상대에 대한 공자극 수용체를 보유하는 근처의 면역 세포(예를 들어, NK 세포, 단핵구/대식세포, 수지상 세포, T 세포, B 세포) 신호전달을 변경시키도록 결합 상대와 상호작용하기 위해, 면역 세포에 대한 접합된 IgSF(예를 들어, vIgD)의 전달을 용이하게 한다. 일부 실시형태에서, 국소화된 전달은 CD28 및/또는 ICOS 공자극 수용체(들)의 간접적 길항 또는 차단 활성을 매개한다.

[0345] 일부 실시형태에서, 표적화제는 면역글로불린이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "면역글로불린"은 다클론성, 단클론성, 다중특이성, 인간, 인간화된 또는 키메라 항체, 단일 쇄 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 생성된 단편, 단일 쇄 Fv(scFv); 항-유전자형(항-Id) 항체(예를 들어, 본 발명의 항체에 대한 항-Id 항체를 포함), 및 상기 중 어느 것의 에피토프-결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 천연 또는 인공 1가 또는 다가 항체를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어, 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭한다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 하위부류일 수 있다. 예시적인 면역글로불린 분자는 CD20, CD25, 또는 CD3, 예컨대 항-CD20, 항-CD25 또는 항-CD3 단클론성 항체로 향하는 면역글로불린 분자를 포함한다. 다른 예시적인 면역글로불린 분자는 인테그린 분자, 예컨대 알파-4 인테그린으로 향하는 면역글로불린 분자를 포함한다.

[0346] 본 발명의 항체 표적화 모이어티는 Fab, Fab' 및 F(ab')2, Fd, 단일 쇄 Fv(scFv), 단일 쇄 항체, 이황화물-연결된 Fv(sdFv) 및 VL 또는 VH 도메인 중 하나를 포함하는 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 항체 단편을 포함한다. 단일 쇄 항체를 포함하는 항원-결합 항체 단편은 단독으로 또는 다음 중 전체 또는 일부와 조합하여 가변 영역(들)을 포함할 수 있다: 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인. 또한 힌지 영역, CH1, CH2 및 CH3 도메인과의 가변 영역(들)의 임의의 조합물을 포함하는 항원-결합 단편이 포함된다. 또한 본 발명에 Fc 단편, 항원-Fc 융합 단백질, 및 Fc-표적화 모이어티 접합체 또는 융합 생성물(Fc-펩타이드, Fc-앱타머)이 포함된다. 본 발명의 항체 표적화 모이어티는 조류 및 포유류를 포함하는 임의의 동물 기원으로부터 유래될 수 있다. 일양상에서, 항체 표적화 모이어티는 인간, 뮤린(예를 들어, 마우스 및 래트), 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니픽, 낙타, 말 또는 닭이다. 추가로, 이러한 항체는 동물 항체의 인간화된 형태일 수 있다. 본 발명의 항체 표적화 모이어티는 단일특이성, 이중특이성, 삼중특이성, 또는 더 다중특이성일 수 있다.

[0347] 다양한 실시형태에서, 항체/표적화 모이어티는, 예를 들어, TCR 복합체와 결합 또는 간섭하거나, 종양 괴사 인자(TNF)를 저해하거나, 인터류킨을 저해하거나, 또는 CD25(IL-2a)에 결합하고 저해함으로써 면역 세포(예를 들어, NK 세포, 단핵구/대식세포, 수지상 세포, T 세포)의 활성화 및/또는 증식을 방지하여, 활성화된 림프구의 클론 확장을 방지하고 림프구 생존을 단축시킨다. 다른 실시형태에서, 항체/표적화 모이어티는 인테그린, 예컨대 알파-4 인테그린 또는 인테그린 베타-3을 결합 또는 저해함으로써 염증 조직에 대한 염증 면역 세포의 접착을 방지한다.

[0348] IgSF 접합체 내로 혼입될 수 있는 항체의 예는 무로모납(Muromonab)-CD3, 바실리시맙(basiliximab)(씨뮬렉트(Simulect)(등록상표)) 및 다클리주맙(daclizumab)(제나팍스(Zenapax)(등록상표)), 나틀리주맙(티사브리(TYSABRI)(등록상표)), 압식시맙(abciximab)(레오프로(ReoPro)(등록상표)), 리툭시맙(rituximab)(리툭산(Rituxan)(등록상표); 맙테라(MabThera)(등록상표)), 알렘투주맙(alemtuzumab)(캄파트(Campath)(등록상표); 캄파트-1H(등록상표); 맙캠퍼스(Mabcampath)(등록상표)), 인플릭시맙(infliximab)(레미케이드(Remicade)(등록상표)), 구셀쿠맙(guselkumab)(트렘프야(Tremfya)(상표명)), 아달리무맙(adalimumab)(휴미라(Humira)(등록상표)), 세르톨리주맙(심지아(Cimzia)(등록상표)), 우스테키누맙(ustekinumab)(스텔라라(Stelara)(등록상표)), 세쿠키누맙(secukinumab)(코센틱스(Cosentyx)(등록상표)), 브로달루맙(Siliq(상표명)), 또는 토실리주맙(악템라(Actemra)(등록상표))와 같은 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 다른 특정 표적 에피토프에 대한 항체는 또한 통상적인 방법을 이용하여 생성될 수 있고, 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 중 어느 것과의 접합체로서 사용된다.

[0349] 일부 실시형태에서, IgSF 접합체는 세포 성분, 예컨대 종양 항원에 결합/표적화할 수 있는 표적화제를 포함한다. 일부 양상에서, 세포 성분, 항원 또는 분자는 각각 표적화제에 대한 목적하는 표적을 의미하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 다양한 실시형태에서, 표적화제는 표피 성장 인자 수용체 패밀리, 예를 들어, ErbB-2(HER2/neu); 강글리오사이드(예컨대 GD2, GD3, GM1 및 GM2); PDGF 수용체(PDGFR; 예컨대 PDGF-R α); 및 혈관 내피 성장인자 수용체(VEGFR) 패밀리, VEGF 패밀리를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 성분에 특이적이

거나 이들에 결합한다. IgSF 접합체에 혼입될 수 있는 항체의 예는 퍼투주맙(Pertuzumab)(퍼제타(Perjeta)(등록상표)), 올랄라투맙(Olaratumab)(라트루보(Lartruvo)(상표명)), 디누툭시맙(Dinutuximab)(유니툭신(Unituxin)(상표명)), 또는 라무시루맙(Ramucirumab)(사이람자(Cyramza)(등록상표)) 또는 이들의 항원-결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0350] 일부 실시형태에서, 항체 표적화 모이어티는 Fc 도메인을 함유하는 전장 항체, 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 변이 체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은, 예컨대 항체의 Fc 부분의 N-말단에 접합에 의해, 항체 표적화 모이어티의 Fc 부분에 접합된다.

[0351] 일부 실시형태에서, vIgD는 항체의 경쇄 및/또는 중쇄의 N- 또는 C-말단에 직접적으로 또는 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 결합은 펩타이드 링커, 예컨대 상기 기재한 어느 것을 통할 수 있다. 다양한 입체배치가 구성될 수 있다. 도 5A 내지 도 5c는 예시적인 입체배치를 도시한다. 일부 실시형태에서, 항체 접합체는 세포에서 항체의 중쇄 및 경쇄의 공동 발현에 의해 생성될 수 있다.

[0352] 본 발명의 일 양상에서, 표적화제는 앱타머 분자이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 앱타머는 표적화제로서 작용하는 핵산을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 IgSF 접합체는 종양 세포, 종양 혈관구조, 및/또는 종양 미세환경 상의 분자에 특이적인 앱타머를 포함한다. 일부 실시형태에서, 앱타머 그 자체는 표적화 분자(서열)에 추가로 생물학적으로 활성인 서열을 포함할 수 있되, 생물학적으로 활성인 서열은 표적 세포에 대해 면역반응을 유도할 수 있다. 다시 말해서, 이러한 앱타머 분자는 이중 사용 제제이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 IgSF 접합체는 항체에 대한 앱타머의 접합을 포함하되, 앱타머 및 항체는 종양 세포, 종양 혈관구조, 종양 미세환경, 및/또는 면역 세포 상에서 별개의 분자에 대한 결합에 특이적이다.

[0353] 용어 "앱타머"는 특정 분자에 대한 특이적 결합 특성에 기반하여 선택되는 DNA, RNA 또는 펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 앱타머(들)는 본 명세서에 개시된 바와 같은 면역 세포, 림프 조직, 종양 세포, 종양 혈관구조, 및/또는 종양 미세환경에서 특정 유전자 또는 유전자 산물에 결합을 위해 선택될 수 있으며, 선택은 당업계에 공지되고 당업자에게 익숙한 방법에 의해 이루어진다.

[0354] 본 발명의 일부 양상에서, 표적화제는 펩타이드이다. 예를 들어, 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 염증 환경, 면역 세포, 또는 림프 조직 성분과 결합할 수 있는 펩타이드에 접합될 수 있다. 따라서, 본 발명의 이러한 IgSF 접합체는 면역 세포의 세포 성분, 림프 조직, 및/또는 염증 미세환경의 성분에 결합하는 펩타이드 표적화제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 표적화제 펩타이드는 인테그린의 길항제 또는 작용제일 수 있다. 알파 및 베타 소단위를 포함하는 인테그린은 당업자에게 잘 공지된 다수의 유형을 포함한다.

[0355] 일 실시형태에서, 표적화제는 Vvβ3이다. 인테그린 Vvβ3은 다양한 세포 상에서 발현되고, 혈관벽에 대한 면역세포의 접착 및 염증 조직 내 축적 및 면역 세포의 혈관 밖으로의 이동을 포함하는 몇몇 생물학적으로 적절한 과정을 매개하는 것으로 나타났다. 인테그린에 대한 적합한 표적화 분자는 다른 인테그린, 예컨대 V4.βi(VLA-4), V4-P7에 대한 RGD 펩타이드 또는 펩타이드 모방체뿐만 아니라 비-RGD 펩타이드 또는 펩타이드 모방체(예를 들어, 미국 특허 제5,767,071호 및 제5,780,426호 참조)(예를 들어, 미국 특허 제6,365,619호; 문헌[Chang et al, *Bioorganic & Medicinal Chem Lett*, 12(2):159-163(2002); Lin et al., *Bioorganic & Medicinal Chem Lett*, 12(2):133-136(2002)]) 등을 포함한다.

[0356] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 치료제와 함께 포함하는 IgSF 접합체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 치료제는, 예를 들어, 글루코코르티코이드, 예컨대 프레드니손, 덱사메타손 및 하이드로코티손, 인터류킨 저해제, 예컨대 인터류킨 1(IL-1), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 저해제, TNF-알파 저해제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료제는 세포정지제 또는 세포 분화의 저해제, 예컨대, 퓨린 유사체, 알킬화제, 예컨대 질소 머스터드(사이클로포스파마이드), 나이트로소유레아(예를 들어, 아라비노피라노실-N-메틸-N-나이트로소유레아(아라노스(Aranose)), 카무스틴(BCNU, BiCNU), 클로로조토신, 에틸나이트로소유레아(ENU), 포테무스틴, 로무스틴(CCNU), 니무스틴, N-나이트로소-N-메틸유레아(NMU), 라니무스틴(MCNU), 세무스틴, 스트렙토조신(스트렙토조토신), 및 백금 화합물, 항대사물질, 예컨대 엽산 유사체(예를 들어, 메토트렉세이트), 퓨린 유사체(예를 들어, 아자티오프린 및 머캅토퓨린), 피리미딘 유사체(예를 들어, 플루오로유라실), 또는 단백질 합성 저해제, 세포독성 항생제, 예컨대 닥티노마이신, 안트라사이클린, 미토마이신 C, 블레오마이신, 또는 미트라마이신을 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료제는 이뮤노필린 상에서 작용하는 약물, 예컨대 사이클로스포린, 타클로리무스, 시롤리무스 또는 에베롤리무스를 포함한다. 일부 실시형태에서, 치료제는 다른 면역억제 약물, 예컨대, 인터페론, 오피오이드, TNF 결합 단백질(예를 들어, 세타너셉트(엔브렐(Enbrel)(등록상표))), 마이코페놀레이트 또는 작은 생물학적 제제, 예컨대 핀골리모드(fingolimod) 또는 마이

리오신(myriocin)을 포함한다.

[0357] 일부 실시형태에서, 검출 가능한 신호를 생성할 수 있는 표지와 간접적으로 또는 직접적으로 접합된 본 명세서에 제공된 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 포함하는 IgSF 접합체가 제공된다. 이들 IgSF 접합체는 연구 또는 진단 적용분야에 사용될 수 있다. 표지는 바람직하게는, 직접적으로 또는 간접적으로 검출 가능한 신호를 생성할 수 있다. 예를 들어, 표지는 방사선 비투과 또는 방사성 동위 원소, 예컨대 3H, 14C, 32P, 35S, 123I, 125I, 131I; 형광(형광단) 또는 화학 발광(발색단) 화합물, 예컨대 플루오레세인 아이소티오사이아네이트, 로다민 또는 루시페린; 효소, 예컨대 알칼리성 포스파타제, β-갈락토시다제 또는 겨자무과산화효소; 영상화제; 또는 금속 이온일 수 있다. 일부 실시형태에서, 표지는 신티그래프(scintigraphic) 연구를 위한 방사성 원자, 예를 들어 99Tc 또는 123I, 또는 핵 자기 공명(NMR) 영상화(또한 자기 공명 영상화, MRI)를 위한 스핀 표지, 예컨대 지르코늄-89, 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 플루오린-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철이다. 지르코늄-89는 다양한 금속 킬레이트제에 착물화될 수 있고, 예를 들어, PET 영상화를 위해 항체에 접합될 수 있다(WO 2011/056983). 일부 실시형태에서, IgSF 접합체는 간접적으로 검출 가능하다. 예를 들어, IgSF 접합체에 특이적이고 검출 가능한 표지를 함유하는 2차 항체는 IgSF 접합체를 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0358] IgSF 접합체는 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 WO 2009/067800, WO 2011/133886, 및 미국 특허 출원 공개 제2014322129호를 참조한다.

[0359] IgSF 접합체의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질이 효과기 모이어티와 결합되거나 연결될 수 있는 임의의 수단에 의해 효과기 모이어티에 "부착될 수 있다". 예를 들어, IgSF 접합체의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 화학적 또는 재조합 수단에 의해 효과기 모이어티에 부착될 수 있다. 융합 또는 접합체를 제조하기 위한 화학적 수단은 당업계에 공지되어 있고, IgSF 접합체를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질 및 효과기 모이어티에 접합하기 위해 사용되는 방법은 하나 이상의 상대 구조 리간드에 결합하는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 능력을 방해하는 일 없이 효과기 모이어티와 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 결합할 수 있어야 한다.

[0360] IgSF 접합체의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 효과기 모이어티에 간접적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, IgSF 접합체의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 별개 유형 중 하나의 효과기 모이어티를 함유하는 리포좀에 직접적으로 연결될 수 있다. 효과기 모이어티(들) 및/또는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 또한 고체 표면에 결합될 수 있다.

[0361] 일부 실시형태에서, IgSF 접합체 및 효과기 모이어티의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 둘 다 단백질이고, 당업계에 잘 공지된 기법을 이용하여 접합될 수 있다. 2개의 단백질을 접합시킬 수 있는 수백개의 이용 가능한 가교제가 있다. (예를 들어 문헌["Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking," 1991, Shans Wong, CRC Press, Ann Arbor] 참조). 가교제는 일반적으로 이용 가능한 반응성 작용기에 기반하여 선택되거나 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질 및/또는 효과기 모이어티 상에서 삽입된다. 추가로, 반응성기가 없다면, 광활성화 가능한 가교제가 사용될 수 있다. 특정 예에서, 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질과 효과기 모이어티 사이에 스페이서를 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 당업계에 공지된 가교제는 동종2작용성 제제(글루타르알데하이드, 다이메틸아디피미데이트 및 비스(다이아조벤지딘)) 및 이종2작용성 제제(m 말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드 및 설포-m 말레이미도벤조일-N-하이드록시석신이미드)를 포함한다.

[0362] 일부 실시형태에서, IgSF 접합체의 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 효과기 모이어티의 화학적 부착을 위한 특정 잔기로 조작될 수 있다. 당업계에 공지된 분자의 화학적 부착을 위해 사용되는 특정 잔기는 라이신 및 시스테인을 포함한다. 가교제는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질 상에 삽입되고, 효과기 모이어티 상에서 이용 가능한 반응성 작용기에 기반하여 선택된다.

[0363] IgSF 접합체는 또한 재조합 DNA 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 이러한 경우에, 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 암호화하는 DNA 서열은 효과기 모이어티를 암호화하는 DNA 서열에 융합되어, 키메라 DNA 분자를 생성한다. 키메라 DNA 서열은 융합 단백질을 발현시키는 숙주 세포에 형질감염된다. 융합 단백질은 세포 배양물로부터 회수되고, 당업계에 공지된 기법을 이용하여 정제될 수 있다.

[0364] 표지인 효과기 모이어티를 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질에 부착하는 것의 예는 문헌[Hunter and Greenwood, *Nature*, 194:495-6(1962); David and Resifeld, *Biochemistry*, 13(5):1014-1021(1974); Pain and

Surolia, *J. Immunol. Meth.*, 40(2):219-230 (1981); Nygren (1982), *J. Histochem. and Cytochem.*, 30:407; Wensel and Meares, Radioimmunoimaging And Radioimmunotherapy, Elsevier, N.Y. (1983); 및 Colcher et al., "Use Of Monoclonal Antibodies As Radiopharmaceuticals For The Localization Of Human Carcinoma Xenografts In Athymic Mice", *Meth. Enzymol.*, 121:802-16(1986)]에 기재된 방법을 포함한다.

[0365] 방사성- 또는 다른 표지는 공지된 방법으로 접합체에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 펩타이드는 생합성될 수 있거나 또는, 예를 들어 수소 대신에 플루오린-19를 수반하는 적합한 아미노산 전구체를 이용하는 화학적 아미노산 합성에 의해 합성될 수 있다. 표지, 예컨대 ^{99}Tc 또는 ^{123}I, ^{186}Re, ^{188}Re 및 ^{111}In은 펩타이드 내 시스테인 잔기를 통해 부착될 수 있다. 이트륨-90은 라이신 잔기를 통해 부착될 수 있다. IODOGEN 방법(Fraker et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 80(4):849-57 (1978))은 아이오딘-123을 혼입시키기 위해 사용될 수 있다. 문헌["Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989)]은 다른 방법을 상세하게 기재한다.

[0366] 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질 및 세포독성제의 접합체는 다양한 2작용성 단백질 결합제, 예컨대 N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티오) 프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스터의 2작용성 유도체(예컨대 다이메틸 아디피미데이트 HCl), 활성 에스터(예컨대 다이석신이미딜 수베레이트), 알데하이드(예컨대 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대 비스(p-아지도벤조일) 헥산다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소사이아네이트 (예컨대 톨루엔 2,6-다이아이소사이아네이트), 및 비스-활성 플루오린 화합물(예컨대 1,5-다이플루오로-2,4-다이나이트로벤젠)을 이용하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌[Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-p-아이소티오사이아네이토벤질-3-메틸다이에틸렌트라이아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 항체에 대한 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이트제이다. 예를 들어, WO94/11026 참조. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단 가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정 링커, 펩티다제-민감성 링커, 광 불안정 링커, 다이메틸 링커 또는 이황화물-함유 링커(Chari et al., *Cancer Res.*, 52(1):127-131(1992); 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0367] 본 발명의 IgSF 접합체는 상업적으로 입수 가능한 가교제 시약(BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설포-EMCS, 설포-GMBS, 설포-KMUS, 설포-MBS, 설포-SIAB, 설포-SMCC, 및 설포-SMPB, 및 SVSB(석신이미딜-(4-비닐설폰)벤조에이트))(예를 들어, 미국 락포드에 소재한 피어스 바이오테크놀로지 인코포레이티드(Pierce Biotechnology, Inc.))에 의해 제조된 약물 접합체를 명확하게 상정하지만, 이들로 제한되지 않는다. 문헌[페이지 467-498, 2003-2004 Applications Handbook and Catalog] 참조.

[0368] **D. 막관통 및 분비 가능한 면역조절 단백질 및 조작된 세포**

[0369] 본 명세서에서 면역조절 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드(대안적으로, "조작된 세포")를 발현시키는 조작된 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 발현된 면역조절 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 막관통 단백질이고, 표면 발현된다. 일부 실시형태에서, 발현된 면역조절 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포로부터 발현되고 분비된다.

[0370] **1. 막관통 면역조절 단백질**

[0371] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4를 포함하는 면역조절 폴리펩타이드는 막 결합 단백질일 수 있다. 이하에 더 상세하게 기재하는 바와 같이, 면역조절 폴리펩타이드는 하기를 함유하는 변이체 CTLA-4를 포함하는 막관통 면역조절 폴리펩타이드일 수 있다: 친화도 변형된 IgSF 도메인(IgV), 막관통 도메인 및, 선택적으로, 세포질 도메인을 함유하는 엑토도메인. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 림프구(예를 들어, T 세포 또는 NK 세포) 또는 항원 제시 세포 표면 상에서를 포함하여, 면역 세포, 예컨대 포유류 세포 표면 상에서 발현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 이러한 T-세포: T 헬퍼 세포, 세포독성 T-세포(대안적으로, 세포독성 T 림프구 또는 CTL), 자연 살해 T-세포, 조절 T-세포, 기억 T-세포, 또는 감마 델타 T-세포를 포함하는, 포유류 T-세포 표면 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 포유류 세포는 항원 제시 세포(APC)이다. 전형적으로, 배타적으로는 아니지만, 엑토도메인(대안적으로, "세포외 도메인")은 본 발명의 변이체 CTLA-4의 하나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 아미노산 치환)을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 일부 실시형태에서 막관통 단백질은 본 발명의 변이체 CTLA-4의 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 엑토도메인을 포함할 것이다.

[0372] 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 막 단백질, 예컨대 막관통 단백질일 수 있는 막관통 면역조절 폴리펩타이드(TIP)인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시킨다. 전형적인 실시형태에서, 막 단백질의 엑토도메인은 기재된

바와 같은 적어도 하나 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 함유하는 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 이의 IgSF 도메인을 포함한다. 본 명세서에 제공된 막관통 면역조절 단백질은 엑토도메인에 연결된 막관통 도메인을 추가로 함유한다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 세포 상의 세포 표면 발현을 위해 암호화된 단백질을 생성한다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 엑토도메인에 직접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 하나 이상의 링커 또는 스페이서를 통해 엑토도메인에 간접적으로 연결된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 대부분 소수성 아미노산 잔기, 예컨대 류신 및 발린을 함유한다.

[0373] 일부 실시형태에서, TIP가 조작된 세포, 예컨대 조작된 T 세포의 표면 상에서 발현된다는 것을 보장하기 위해 전장 막관통 앵커(anchor) 도메인이 사용될 수 있다. 편리하게는, 이는 친화도 변형된 특정 천연 단백질(예를 들어, CTLA-4 또는 다른 천연 IgSF 단백질)로부터 유래되고, 천연 IgSF 단백질(예를 들어, CTLA-4)과 유사한 방식으로 제1 막 근위 도메인의 서열에 단순히 융합될 수 있었다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 대응하는 야생형 또는 비변형 IgSF 구성원의 막관통 도메인, 예컨대 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 막관통 도메인을 포함한다(표 1). 일부 실시형태에서, 막 결합된 형태는 서열번호 1의 잔기 162 내지 182에 대응하는 대응하는 야생형 또는 비변형 폴리펩타이드의 막관통 도메인을 포함한다.

[0374] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 천연 CTLA-4의 막관통 도메인이 아닌 비천연 막관통 도메인이다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 막결합된 비-CTLA-4 패밀리 구성원 폴리펩타이드로부터의 막관통 도메인으로부터 유래되거나 막관통 단백질이다. 일부 실시형태에서, T 세포 상의 다른 단백질로부터의 막관통 앵커 도메인이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD8로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 스페이서 도메인으로서 작용하는 CD8의 세포외 부분을 추가로 함유할 수 있다. 예시적인 CD8 유래 막관통 도메인은 서열번호 540, 541, 또는 565, 또는 CD8 막관통 도메인을 함유하는 이의 일부에 제시되어 있다. 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 합성 막관통 도메인이다.

[0375] 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 막관통 도메인에 연결된 엔도도메인, 예컨대 세포질 신호전달 도메인을 추가로 함유한다.

[0376] 일부 실시형태에서, 엔도도메인, 예컨대 세포질 신호전달 도메인은 ITIM(면역수용체 타이로신-기반 저해 모티프)이거나 이를 포함하는 저해 신호전달 도메인이다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질의 엔도도메인은 대응하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포질 신호전달 도메인, 예컨대 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 세포질 신호전달 도메인을 포함한다(표 1 참조). 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4이거나 이를 포함하는 제공된 막관통 면역조절 단백질은 서열번호 478에 대해 적어도 85% 서열 동일성, 예컨대 서열번호 478에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 나타내고, 본 명세서에 기재된 바와 같은 적어도 하나 친화도-변형된 CTLA-4 IgSF 도메인을 포함하는 엑토도메인 및 막관통 도메인을 함유하는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 표 2에 제시된 어느 것을 포함하는, 기재된 바와 같은 IgSF 도메인(예를 들어, IgV 도메인)에서의 임의의 하나 이상의 아미노산 치환을 함유한다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질은 하나 이상의 결합 상대에 대한 친화도-변형된 CTLA-4 엑토도메인의 결합 시와 같이 저해 세포 신호를 유도할 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 막관통 면역조절 단백질은 항원-제시 세포로부터의 하나 이상의 결합 상대 (CD80, CD86 및/또는 ICOSL)의 트랜스엔도시토시스를 매개하여, T 세포 활성화를 위한 공자극 신호의 이용 가능성을 제한하고, 따라서 T 세포 활성화를 제한하거나 약화시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 막관통 면역조절 단백질은 면역 반응을 저해하거나 약화시키기 위한 방법 및 용도에서, 예컨대 자가면역 또는 염증 적응증의 치료와 관련하여 사용될 수 있다.

[0377] 또한 본 명세서에서 CTLA-4 폴리펩타이드가 저해 수용체로부터 활성화 수용체로 전환되는 스위치 수용체가 제공된다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 하나 이상의 결합 상대에 대한 친화도-변형된 CTLA-4 엑토도메인의 결합 시와 같이 활성화 세포 신호를 유도할 수 있는 엔도도메인, 예컨대 세포질 신호전달 도메인을 함유한다. 일부 실시형태에서, 엔도도메인 또는 세포질 신호전달 도메인은 ITAM(면역수용체 타이로신-기반 활성화 모티프)-함유 신호전달 도메인이거나 이를 포함하는 활성화 신호전달 도메인이다. ITAM은 T-세포 수용체 신호전달에 연루된 CD3-제타 쇄("CD3-z")에서를 비롯하여, 면역 세포의 신호 전달에 연루된 다수의 단백질 신호전달 도메인에서 발견되는 보존된 모티프이다. 일부 실시형태에서, 엔도도메인은 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3-제타 신호전달 도메인은 서열번호 542의 아미노산 서열, 또는 서열번호 542에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%를 나타내고 T 세포 신호전달의 활성을 보유하는 아미노산의 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 엔도도메인은 T-세포의 면역조절

반응을 추가로 조절하기 위해 공자극 신호전달 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD28, ICOS, 41BB 또는 OX40이다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD28 또는 4-1BB로부터 유래되고, 서열번호 543 내지 546 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 543 내지 546에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%를 나타내며 T 세포 공자극 신호전달의 활성을 보유하는 아미노산의 서열을 포함한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 제공된 CTLA-4 막관통 면역조절 폴리펩타이드는 결합 상대 또는 상대 구조에 대한 친화도 변형된 IgSF 도메인의 결합 시 T 세포 신호전달을 자극하도록 CAR의 특징을 갖는 CAR-관련 막관통 면역조절 단백질이다. 일부 실시형태에서, 상대 구조에 대한 친화도-변형된 IgSF 도메인에 의한 특이적 결합 시 세포독성, 증식 또는 사이토카인 생성의 변화에 의해 반영되는 T-세포 활성의 면역학적 활성 변화를 야기할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 스위치(활성화) 수용체는, 예컨대 암을 치료하기 위한 다양한 종양학적 방법과 관련하여 면역 반응을 유도하거나 촉진시키는 방법 및 용도에서 사용될 수 있다.

[0378] 또한 CTLA-4 폴리펩타이드가 결합 상대에 결합 시 세포 내 신호를 유도할 수 없는 데코이 수용체가 제공된다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 세포질 신호전달을 조절할 수 있는 엔도도메인을 함유하지 않으며, 예컨대 ITIM-함유 도메인을 함유하는 세포내 신호전달 도메인을 함유하지 않는다. 따라서, 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 신호 전달 메커니즘을 결여하고, 따라서 그 자체가 세포 신호전달을 유도하지 않는다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 대응하는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 세포내(세포질) 도메인 또는 세포내 도메인의 일부, 예컨대 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 세포질 신호전달 도메인을 결여한다(표 1 참조). 따라서, 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 엑토도메인 및 막관통 도메인, 예컨대 기재된 임의의 것만을 함유한다. 일부 실시형태에서, 이러한 데코이 수용체는 효과기 세포 활성을 저해하는 CTLA-4의 능력을 경쟁하고/하거나 제거함으로써, 면역 반응의 활성화를 촉진시킬 수 있다. 일부 경우에, 이러한 제공된 데코이 수용체는, 예컨대 암을 치료하기 위한 다양한 종양학과 관련하여, 면역 반응을 증가시키거나 강화시키기 위한 방법 및 용도에서 사용될 수 있다.

[0379] 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질은 신호 펩타이드를 추가로 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 서열번호 1에 제시된 아미노산의 서열에 함유된 것과 같은 야생형 IgSF 구성원의 천연 신호 펩타이드이다(예를 들어, 표 1).

[0380] 또한 이러한 막관통 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다. 일부 실시형태에서, 막관통 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 서열번호 478에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 서열 동일성을 나타내고, 기재된 바와 같은 적어도 하나 친화도-변형된 IgSF 도메인, 막관통 도메인 및, 선택적으로, 세포질 도메인을 포함하는 엑토도메인을 함유하는 아미노산의 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 신호 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드의 서열을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 대응하는 야생형 IgSF 구성원의 천연 신호 펩타이드이다(예를 들어, 표 1 참조).

[0381] **2. 분비된 면역조절 단백질 및 조작된 세포**

[0382] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 아미노산 돌연변이 중 임의의 하나 이상을 함유하는 CTLA-4 변이체 면역조절 폴리펩타이드는, 예컨대 세포로부터 발현될 때 분비 가능하다. 이러한 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질은 막관통 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질은 반감기 연장 모이어티(예컨대 Fc 도메인 또는 다량체화 도메인)에 접합되지 않는다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질은 세포 밖에서 도메일을 얻기 위해 신호 펩타이드, 예컨대 항체 신호 펩타이드 또는 다른 효율적인 신호 서열을 포함한다. 면역조절 단백질이 신호 펩타이드를 포함하고 조작된 세포에 의해 발현될 때, 신호 펩타이드는 면역조절 단백질이 조작된 세포에 의해 분비되도록 야기한다. 일반적으로, 신호 펩타이드, 또는 신호 펩타이드의 일부는 분비에 의해 면역조절 단백질로부터 절단된다. 면역조절 단백질은 (발현 벡터의 일부일 수 있는) 핵산에 의해 암호화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 세포(예컨대 면역 세포, 예를 들어 1차 면역 세포)에 의해 발현되고 분비된다.

[0383] 따라서, 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드를 추가로 포함하는 제공된 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질이 있다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에서 신호 펩타이드를 암호화하는 분비 서열에 작동 가능하게 연결된 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자가 제공된다.

[0384] 신호 펩타이드는 세포로부터 면역조절 단백질의 분비를 신호전달하는 면역조절 단백질의 N-말단 상의 서열이다.

일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 길이가 약 5 내지 약 40개의 아미노산(예컨대 길이가 약 5 내지 약 7, 약 7 내지 약 10, 약 10 내지 약 15, 약 15 내지 약 20, 약 20 내지 약 25, 또는 약 25 내지 약 30, 약 30 내지 약 35, 또는 약 35 내지 약 40개의 아미노산)이다.

[0385] 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 대응하는 야생형 CTLA-4로부터의 천연 신호 펩타이드이다(표 1 참조). 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 비천연 신호 펩타이드이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 비천연 신호 펩타이드는 대응하는 야생형 CTLA-4로부터의 돌연변이체 천연 신호 펩타이드이고, 하나 이상의(예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 이상) 치환, 삽입 또는 결실을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 비천연 신호 펩타이드는 야생형 IgSF 패밀리 구성원과 동일한 IgSF 패밀리의 패밀리 구성원의 신호 펩타이드 또는 이의 돌연변이체이다. 일부 실시형태에서, 비천연 신호 펩타이드는 야생형 IgSF 패밀리 구성원과 상이한 IgSF 패밀리로부터의 IgSF 패밀리 구성원으로부터의 신호 펩타이드 또는 이의 돌연변이체이다. 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드는 비-IgSF 단백질 패밀리로부터의 신호 펩타이드 또는 이의 돌연변이체, 예컨대 면역글로불린으로부터의 신호 펩타이드(예컨대 IgG 중쇄 또는 IgG-카파 경쇄), 사이토카인(예컨대 인터류킨-2(IL-2), 또는 CD33), 혈청 알부민 단백질(예를 들어, HSA 또는 알부민), 인간 아주로시딘 프레단백질 신호 서열, 루시퍼라제, 트립시노겐(예를 들어, 키모트립시노겐 또는 트립시노겐) 또는 세포로부터 단백질을 효율적으로 분비할 수 있는 다른 신호 펩타이드이다. 예시적인 신호 펩타이드는 표 3에 기재된 어느 것을 포함한다.

표 3

[0386]

예시적인 신호 펩타이드		
서열번호	신호 펩타이드	펩타이드 서열
서열번호 547	HSA 신호 펩타이드	MKWVTFISLLFLFSSAYS
서열번호 548	Ig 카파 경쇄	MDMRAPAGIFGFLLVLFPGYRS
서열번호 549	인간 아주로시딘 프레단백질 신호 서열	MTRLTVLALLAGLLASSRA
서열번호 550	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MELGLSWIFLLAILKGVQC
서열번호 551	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MELGLRWVFLVAILEGVQC
서열번호 552	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MKHLWFFLLLVAAPRWVLS
서열번호 553	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MDWTWRILFLVAAATGAHS
서열번호 554	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MDWTWRFLFVVAAATGVQS
서열번호 555	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MEFGLSWLFLVAILKGVQC
서열번호 556	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MEFGLSWVFLVALFRGVQC
서열번호 557	IgG 중쇄 신호 펩타이드	MDLLHKNMKHLWFFLLLVAAPRWVLS
서열번호 558	IgG 카파 경쇄 신호 서열	MDMRVPAQLLGLLLLWLSGARC
서열번호 559	IgG 카파 경쇄 신호 서열	MKYLLPTAAAGLLLLAAQPAMA
서열번호 560	가우시아(Gaussia) 루시퍼라제	MGVKVLFALICIAVAEA
서열번호 561	인간 알부민	MKWVTFISLLFLFSSAYS
서열번호 562	인간 키모트립시노겐	MAFLWLLSCWALLGTTFG
서열번호 563	인간 인터류킨-2	MQLLSCIALILALV
서열번호 564	인간 트립시노겐-2	MNLLLILTFVAAAVA

[0387] 분비 가능한 변이체 CTLA-4 면역조절 단백질의 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 발현될 때 신호 펩타이드를 포함하고, 신호 펩타이드(또는 이의 일부)는 분비 시 면역조절 단백질로부터 절단된다.

[0388] 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 세포로부터 분비된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시킨다. 일부 실시형태에서, 이러한 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 분비를 위해 신호 서열의 작동 가능한 제어 하에 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, 암호화된 면역조절 단백질은 세포로부터 발현될 때 분비된다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자에 의해 암호화된 면역조절 단백질은 막관통 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자에 의해 암호화된 면역조절 단백질은 반감기 연장 모이어티(예컨대 Fc 도메인 또는 다량체화 도메인)를 포함하지 않는다. 일부 실시형태에서, 핵산 분자에 의해 암호화된 면역조절 단백질은 신호 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 핵산은 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 분비 또는 신호 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하여, 면역조절 단백질의 분비를 가능하게 한다.

[0389] **3. 세포, 및 세포의 조작**

[0390] 본 명세서에서 제공된 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 발현시키는 조작된 세포가 제공된다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 이들의 표면 상에서 제공된 막관통 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 발현시킨다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 단백질의 분비에 적합한 조건 하에 세포로부터 면역조절 단백질을 발현시키거나, 발현시킬 수 있거나 분비할 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질은 림프구, 예컨대 종양 침윤성 림프구(TIL), T-세포 또는 NK 세포 상에서 또는 이들에서, 또는 골수성 세포 상에서 발현된다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 항원 제시 세포(APC)이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 조작된 포유류 T-세포 또는 조작된 포유류 항원 제시 세포(APC)이다. 일부 실시형태에서, 조작된 T-세포 또는 APC는 인간 또는 뮤린 세포이다.

[0391] 일부 실시형태에서, 조작된 T-세포는 조절 T 세포, T 헬퍼 세포, 세포독성 T-세포(대안적으로, 세포독성 T 림프구 또는 CTL), 자연 살해 T-세포, 기억 T-세포, 또는 감마 델타 T-세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 조작된 T 세포는 CD4+ 또는 CD8+이다. 일부 양상에서, 조작된 T 세포는 활성화된 T 세포일 수 있다. 일부 실시형태에서, 조작된 T 세포는 조절 T 세포(Treg)이다. 일부 실시형태에서, 조작된 T 세포는 반대 세포, 예컨대 APC로부터의 하나 이상의 결합 상대의 CTLA-4-매개 트랜스엔도시토시스가 가능할 수 있다. 일부 실시형태에서, 조작된 T 세포는 비변형 T 세포 또는 비변형 CTLA-4를 발현시키는 T 세포에 비해, 하나 이상의 결합 상대, CD80, CD86, 및/또는 ICOSL의 증가된 트랜스엔도시토시스를 나타낸다.

[0392] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질, 예컨대 막관통 면역조절 단백질 또는 분비 가능한 면역조절 단백질은 공동 발현되거나, 항원-결합 수용체, 예컨대 재조합 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 T 세포 수용체(TCR)를 발현시키는 세포 내로 조작된다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포, 예컨대 조작된 T 세포는 염증 및 자가면역 장애, 암 또는 바이러스 감염과 관련된 목적하는 항원을 인식한다. 구체적 실시형태에서, 항원-결합 수용체는 종양 특이적 항원 또는 종양 관련 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 모이어티를 함유한다. 일부 실시형태에서, TIP 단백질은 조작된 T-세포 수용체 세포 또는 조작된 키메라 항원 수용체 세포에서 발현된다. 이러한 실시형태에서, 조작된 세포는 TIP 및 CAR 또는 TCR을 공동발현시킨다. 일부 실시형태에서, SIP 단백질은 조작된 T-세포 수용체 세포 또는 조작된 키메라 항원 수용체 세포에서 발현된다. 이러한 실시형태에서, 조작된 세포는 SIP 및 CAR 또는 TCR을 공동발현시킨다.

[0393] 일부 실시형태에서, 조작된 T-세포는 항원, 예컨대 면역 세포-특이적 항원, 림프 조직-연관 항원 또는 염증 조직-연관 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인(예를 들어, scFv)을 함유하는 CAR을 발현시키는 CAR(키메라 항원 수용체) T-세포이다. 키메라 항원 수용체(CAR)는 항원-결합 도메인(엑토도메인), 막관통 도메인 및 항원이 결합된 후에 T 세포에 활성화 신호를 유도하거나 매개할 수 있는 세포내 신호전달 영역(엔도도메인)을 포함하는 재조합 수용체이다. 일부 예에서, CAR-발현 세포는 활성화 도메인 및, 일부 경우에, 공자극 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 부분에 연결된 특정 항원, 예를 들어 종양 항원에 대해 특이성을 갖는 세포외 단일쇄 가변 단편(scFv)을 발현시키도록 조작된다. 활성화 도메인은, 예를 들어, CD3, 예컨대 CD3 제타, 엡실론, 델타, 감마 등으로부터 유래될 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 ITAM 신호전달 도메인, 예컨대 CD3제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 공자극 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 공자극 도메인은, 예를 들어, CD28, OX-40, 4-1BB/CD137 또는 유도성 T 세포 공자극제(ICOS)로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, CAR은 2, 3, 4개 이상의 공자극 도메인을 갖도록 설계된다. CAR scFv는 모든 정상 B 세포, 및 NHL, CLL 및 비-T 세포 ALL을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 B 세포 악성종양을 포함하는 B세포 계통에서 세포에 의해 발현되는 막관통 단백질인 질환 또는 병태와 연관된 세포 상에서 발현된 항원, 예를 들어, 종양 항원, 예를 들어, CD19를 표적화하도록 설계될 수 있다. 예시적인 CAR+ T 세포 요법 및 작제물은 미국 특허 공개 제2013/0287748호, 제2014/0227237호, 제2014/0099309호 및 제2014/0050708호에 기재되어 있으며, 이들 참고문헌은 전문이 참고로 포함된다. 일부 실시형태에서, CAR은 항원-결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 스페이서를 추가로 함유한다.

[0394] 일부 실시형태에서, 스페이서 및 막관통 도메인은 힌지 및 CD8로부터 유래된 막관통 도메인, 예컨대 서열번호 540, 541 또는 565에 제시된 예시적인 서열 또는 서열번호 540, 541, 또는 565에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 갖는 것이다. 일부 실시형태에서, 엔도도메인은 CD3-제타 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CD3-제타 신호전달 도메인은 서열번호 542에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 542에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내고, T 세포 신호전달 활성을 보유하는 아미노산 서열을 포함한다.

[0395] 일부 실시형태에서, CAR의 엔도도메인은 공자극 신호전달 도메인 또는 영역을 추가로 포함하여 T-세포의 면역조절 반응을 추가로 조절할 수 있다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 공자극 영역이거나 이를 포함

하거나, 또는 CD28, ICOS, 41BB 또는 OX40의 공자극 영역으로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 공자극 신호전달 도메인은 CD28 또는 4-1BB로부터 유래되며, 서열번호 543 내지 546 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 543 내지 546에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내고 T 세포 공자극 신호전달의 활성을 보유하는 아미노산의 서열을 포함한다.

[0396] 일부 실시형태에서, CAR을 암호화하는 작제물은 자기-절단 펩타이드 서열에 의해 CAR로부터 분리된 제2 단백질, 예컨대 마커, 예를 들어, 검출 가능한 단백질을 추가로 암호화한다. 일부 실시형태에서, 자기-절단성 펩타이드 서열은 F2A, T2A, E2A 또는 P2A 자기-절단성 펩타이드이다. T2A 자기-절단성 펩타이드의 예시적인 서열은 서열번호 566 내지 568 중 어느 하나 또는 서열번호 566 내지 568 중 어느 하나에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 제시한다. 일부 실시형태에서, T2A는 서열번호 567에 제시된 뉴클레오타이드 서열 또는 서열번호 567 중 어느 것에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 서열에 의해 암호화된다. 일부 실시형태에서, 마커는 검출 가능한 단백질, 예컨대 형광 단백질, 예를 들어, 녹색 형광 단백질(GFP) 또는 청색 형광 단백질(BFP)이다. 형광 단백질 마커의 예시적인 서열은 서열번호 98, 105, 380 또는 387 또는 서열번호 98, 105, 380 또는 387에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열로 제시된다.

[0397] 다른 실시형태에서, 조작된 T-세포는 재조합 또는 조작된 TCR을 포함하는, TCR을 가진다. 일부 실시형태에서, TCR은 천연 TCR일 수 있다. 일부 실시형태에서, TCR은 사전 결정된 항원-MHC 복합체에 특이적이다. 당업자는 일반적으로 천연 포유류 T-세포 수용체는 항원 특이적 인식 및 결합에 연루된 알파 및 베타쇄(또는 감마 및 델타쇄)를 포함한다는 것을 인식할 것이다. 일부 실시형태에서, TCR은 변형된 조작된 TCR이다. 일부 실시형태에서, 조작된 T-세포의 TCR은 APC에 의해 제시된 종양 관련 또는 종양 특이적 항원에 특이적으로 결합한다.

[0398] 일부 실시형태에서, 면역조절 폴리펩타이드, 예컨대 막관통 면역조절 폴리펩타이드 또는 분비 가능한 면역조절 폴리펩타이드는 다양한 전략, 예컨대 재조합 숙주 세포에 대해 사용되는 것에 의해 조작된 세포, 예컨대 조작된 T 세포 또는 조작된 APC 내로 혼입될 수 있다. 1차 T 세포 내로 DNA 작제물을 도입하기 위한 다양한 방법은 당업계에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 바이러스 형질도입 또는 플라스미드 전기천공법이 사용된다. 전형적인 실시형태에서, 면역조절 단백질 또는 발현 벡터를 암호화하는 핵산분자는 세포막에 또는 분비를 위해 발현된 막관통 면역조절 단백질을 국소화하는 신호 펩타이드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 막관통 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산은 바이러스 벡터, 예컨대 숙주 포유류 세포에서 발현을 가능하게 하는 레트로바이러스 벡터 내로 서브클로닝된다. 발현 벡터는 포유류 숙주 세포에 도입될 수 있고, 숙주 세포 배양 조건 하에, 면역조절 단백질은 표면 상에서 발현되거나 분비된다.

[0399] 예시적인 예에서, 1차 T-세포는 생체외에서 정제될 수 있고(CD4 세포 또는 CD8 세포 또는 둘 다), 다양한 TCR/CD28 작용제, 예컨대 항-CD3/항-CD28 코팅 비드로 이루어진 활성화 프로토콜로 자극된다. 활성화 과정의 2 또는 3일 후에, 면역조절 폴리펩타이드를 함유하는 재조합 발현 벡터는 당업계의 표준 렌티바이러스 또는 레티로바이러스 형질도입 프로토콜 또는 플라스미드 전기천공법 전략을 통해 1차 T 세포에 안정하게 도입될 수 있다. 세포는, 예를 들어, 천연 모 분자, 및 변이체 CTLA-4를 포함하는 폴리펩타이드와 상호작용하는 항-에피토프 태그 또는 항체를 이용하는 유세포분석에 의해 면역조절 폴리펩타이드 발현에 대해 모니터링될 수 있다. 면역조절 폴리펩타이드를 발현시키는 T-세포는 항-에피토프 태그 항체에 의한 분류를 통해 풍부하게 되거나 적용에 따라서 고발현 또는 저발현을 위해 풍부하게 된다.

[0400] 면역조절 폴리펩타이드 발현 시, 조작된 T-세포는 다양한 수준에 의해 적절한 기능에 대해 분석될 수 있다. 표준 시험관내 세포독성, 증식, 또는 사이토카인 분석(예를 들어, IFN-감마 발현)은 조작된 T-세포의 기능을 평가하는 데 사용될 수 있다. 예시적인 표준 종말점은 배양물 상청액에서 항원-발현 표적 세포의 용해, 조작된 T-세포의 증식, IFN-감마 단백질 발현의 백분율이다. 이러한 유입의 통계적으로 유의한 조절, 예컨대 표적 세포의 증가 또는 감소된 용해, 조작된 T-세포의 증가 또는 감소된 증식, 또는 대조군 작제물에 대해 증가 또는 감소된 IFN-감마 발현을 초래하는 변이체 CTLA-4 TIP를 함유하는 조작된 T 세포가 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대조군 작제물에 비해 표적 세포의 감소된 용해, 감소된 증식 및/또는 감소된 IFN-감마 발현을 초래하는 조작된 세포가 선택되고/되거나 TIP의 발현이 면역 세포 활성을 약화시킨다는 것을 나타내다. 일부 실시형태에서, 대조군 작제물은 야생형 또는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드, 예컨대 T 세포 표면 상에서 발현되는 전장 야생형 또는 비변형 CTLA-4이다. 추가적으로, 비조작된, 예컨대 천연 1차 또는 내인성, T-세포는 또한, 일부 경우에, 방관자

(bystander), 천연 T-세포에서 효과기 기능을 감소시키는 것을 포함하여, 활성을 조절하기 위해 조작된 세포, 예컨대 조작된 T-세포 상에서 발현되는 면역조절 폴리펩타이드 작제물의 능력을 측정하는 동일한 시험관내 분석에 혼입될 수 있었다. 활성화 마커, 예컨대 CD69, CD44, 또는 CD62L의 발현은 내인성 T 세포 상에서 모니터링될 수 있었다. 일부 경우에, 변경된, 예컨대 감소된, 증식 및/또는 사이토카인 생성은 조작된 T 세포 상에서 발현된 면역조절 단백질의 목적하는 활성을 나타낼 수 있었다.

[0401] 일부 양상에서, CTLA-4 TIP로 조작된 세포가 APC 상에서 발현된 결합 상대의 향상된 또는 증가된 트랜스엔도시토시스, 예컨대 APC 상에서 CD80, CD86 및/또는 ICOSL의 향상된 또는 증가된 트랜스엔도시토시스를 나타내는지를 평가하기 위해 트랜스엔도시토시스/획득(acquisition) 분석이 수행될 수 있다. 트랜스엔도시토시스를 평가하기 위한 분석은 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Hou et al. (2015), *J. Immunol.*, 194(5):2148-59; Soskic et al. (2014), *Adv. Immunol.*, 124:95-136; Qureshi et al. (2011), *Science*, 332(6029):600-603)] 참조). 일부 양상에서, APC는 T 세포 활성화를 유도하거나 자극하는 조건 하에 CTLA-4 TIP를 발현시키는 T 세포와 공동배양될 수 있고, APC 상에서 CD80, CD86, 및/또는 ICOSL의 세포 표면 발현을 평가하기 위해 면역염색이 수행될 수 있다. 대조군 작제물 이상으로 APC 상에서 CD80, CD86, 및/또는 ICOSL의 통계적으로 유의한 감소된 표면 면역염색을 초래하는 조작된 작제물이 선택될 수 있다.

[0402] **E. 변이체 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질을 발현시키기 위한 감염제**

[0403] 또한 본 명세서에 기재된 분비 가능한 또는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 함유하는 감염제가 제공된다. 일부 실시형태에서, 이러한 감염제는 대상체에서의 표적 세포, 예를 들어, 대상체에서의 면역 세포 및/또는 항원-제시 세포(APC) 또는 종양 세포에 본 명세서에 기재된 변이체 면역조절 폴리펩타이드, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 전달할 수 있다. 또한 이러한 감염제에 함유된 핵산, 및/또는 이러한 감염제, 예컨대 벡터 및/또는 플라스미드의 생성 또는 변형을 위한 핵산, 및 이러한 감염제를 함유하는 조성물이 제공된다.

[0404] 일부 실시형태에서, 감염제는 미생물유기체 또는 미생물이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 바이러스 또는 박테리아이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 바이러스이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 박테리아이다. 일부 실시형태에서, 이러한 감염제는 본 명세서에 기재된 분비 가능한 또는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 전달할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 감염제에 의해 감염되거나 접촉된 대상체에서의 세포는 세포 표면 상에서 발현되거나 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 분비하기 위해 제공될 수 있다. 일부 실시형태에서, 감염제는 또한 세포에 및/또는 대상체 내의 환경에 1종 이상의 다른 치료제 또는 다른 치료제를 암호화하는 핵산을 전달할 수 있다. 일부 실시형태에서, 감염제에 의해 전달될 수 있는 다른 치료제는 사이토카인 또는 다른 면역조절 분자를 포함한다.

[0405] 일부 실시형태에서, 감염제, 예를 들어, 바이러스 또는 박테리아는 본 명세서에 기재된 분비 가능한 또는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하고, 대상체에서 세포의 접촉 및/또는 감염에 의해, 상기 세포는 감염제에 함유된 핵산 서열에 의해 암호화된 분비 가능한 또는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는, 변이체 폴리펩타이드, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 발현시킨다. 일부 실시형태에서, 감염제는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 감염제는 생체외에서 대상체로부터의 세포와 접촉될 수 있다.

[0406] 일부 실시형태에서, 감염제에 의해 감염되는 세포에 의해 발현되는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드는 막관통 단백질이고, 표면 발현된다. 일부 실시형태에서, 감염제에 의해 감염된 세포에 의해 발현되는 분비 가능한 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드가 발현되며, 세포로부터 분비된다. 막관통 면역조절 단백질 또는 분비된 면역조절 단백질은 본 명세서에 기재된 임의의 것일 수 있다.

[0407] 일부 실시형태에서, 감염제에 의해 표적화되는 대상체에서의 세포는 면역 세포 및/또는 항원-제시 세포(APC)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 감염제는 종양 미세환경(TME)에서 세포를 표적화한다. 일부 실시형태에서, 감염제는 면역 반응 및/또는 특이적 세포-매개 면역 반응을 조절하는 적절한 세포(예를 들어, Treg 세포와 같은 APC 상에서 펩타이드/MHC를 인식하는 T 세포) 또는 조직(예를 들어, 림프구 조직)에 분비 가능한 또는 막관통 면역조절 단백질을 포함하는 변이체 폴리펩타이드, 예컨대 CTLA-4 vIgD 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 전달한다. 일부 실시형태에서, 감염제는 T 세포, 예컨대 조절 T 세포(Treg)를 표적화한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 감염제에 의해 전달된 핵산 분자는 특정 표적 세포, 예를 들어 조절 요소, 예컨대 프로모터

에서 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 암호 서열에 작동 가능하게 연결된 발현에 필수적인 적절한 핵산 서열을 포함한다.

[0408] 일부 실시형태에서, 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 감염제는 또한 하나 이상의 추가적인 유전자 산물, 예를 들어, 사이토카인, 프로드러그 전환 효소, 사이토톡신 및/또는 검출 가능한 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열을 함유할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 감염제는 종양세포붕괴성 바이러스이고, 바이러스는 추가적인 치료적 유전자 산물을 암호화하는 핵산 서열을 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌 [Kirn and Thorne (2009), *Nat Rev Cancer*, 9(1):64-71; Garcia-Aragoncillo et al. (2010), *Curr Opin Mol Ther*, 12(4):403-411] 참조; 미국 특허 제7,588,767호, 7,588,771호, 7,662,398호 및 7,754,221호 및 미국 특허 공개 제2007/0202572호, 제2007/0212727호, 제2010/0062016호, 제2009/0098529호, 제2009/0053244, 제2009/0155287호, 제2009/0117034호, 제2010/0233078호, 제2009/0162288호, 제2010/0196325호, 제2009/0136917호 및 제2011/0064650호 참조). 일부 실시형태에서, 추가적인 유전자 산물은 표적 세포(예를 들어, 면역 세포)의 사멸을 초래할 수 있는 치료적 유전자 산물 또는 면역 반응을 저해하거나 억제하거나 조절할 수 있는 유전자 산물(예를 들어, 사이토카인)일 수 있다. 예시적인 유전자 산물은 또한 면역조절 분자, 면역 관문 활성제, 항체, 사이토카인, 성장 인자, 항원, 세포독성 유전자 산물, 프로-세포자멸사 유전자 산물, 항-세포자멸사 유전자 산물, 세포 기질 분해 유전자, 및 본 명세서에 기재되거나 당업자에게 공지된 다른 유전자 산물을 포함한다.

[0409] **1. 바이러스**

[0410] 일부 실시형태에서, 감염제는 바이러스이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 특정 세포, 예를 들어, 면역 세포를 표적화하는 바이러스이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 면역 세포 또는 T 세포를 표적화한다.

[0411] 일부 실시형태에서, 바이러스는 아데노바이러스(Ad); 아데노바이러스-연관 바이러스(AAV); 단순 포진 바이러스(HSV); 레트로바이러스 벡터, 예컨대 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스(MMLV); 혼성 레트로바이러스(예를 들어, 고역가 바이러스 저장액의 생성에 최적인 5' 말단 상에 다양한 레트로바이러스 LTR 및 3' 말단 상에 비장 병소 형성 바이러스(SFFV) LTR를 함유); 렌티바이러스 벡터, 예컨대 인간 면역결핍 바이러스(HIV-1), HIV-2, 소 렌티바이러스, 고양이 렌티바이러스, 또는 유인원 렌티바이러스; 자기-비활성화 벡터(SIV)이다.

[0412] 일부 실시형태에서, 감염제는 변형된 단순 포진 바이러스이다. 일부 실시형태에서, 감염제는 본 명세서에 기재된 변이체 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 함유하도록 변형된 탈리모진 라헤르파렙벡(Talimogene laherparepvec)(T-Vec, IMLYGIC(상표명) 또는 OncoVex GM-CSF로도 알려짐)의 변형된 형태이다. 일부 실시형태에서, 감염제는, 예를 들어, WO 2007/052029, WO 1999/038955, 미국 특허 제2004/0063094호, 미국 특허 제2014/0154216호에 기재된 변형된 단순 포진 바이러스, 또는 이의 변이체이다.

[0413] 일부 실시형태에서, 감염제는 바이러스이며, 특정 표면 마커를 발현시키는 세포만이 형질도입되도록 바이러스 입자의 굴성이 변형된다.

[0414] **2. 박테리아**

[0415] 일부 실시형태에서, 감염제는 박테리아이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 박테리아는 대상체에서의 표적 세포, 예컨대 종양 세포 또는 면역 세포에 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 암호화하는 핵산을 전달할 수 있다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 변이체 면역조절 폴리펩타이드의 발현 및/또는 분비를 위해 대상체 내의 특정 환경, 예컨대 염증 환경에 및/또는 변이체 면역조절 폴리펩타이드의 발현을 위한 환경에서 표적 적이적 세포에 우선적으로 표적화될 수 있다.

[0416] 일부 실시형태에서, 박테리아는 포유류 세포에 플라스미드 DNA의 박테리아-매개 전달("박토펙션(bactofection)"으로도 지칭됨)을 통해 세포에 핵산을 전달한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 유전자 물질의 전달은 표적 세포 내로 전체 박테리아의 유입을 통해 달성된다. 일부 실시형태에서, 자발적 또는 유도된 박테리아 용해는 후속적 진핵생물 세포 발현을 위한 플라스미드의 방출을 야기할 수 있다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 비-식세포 포유류 세포(예를 들어, 특정 면역 세포 또는 조직 유형)에 핵산을 전달할 수 있다. 일부 실시형태에서, 박테리아에 전달되는 핵산은 발현을 위해 대상체에서의 세포의 핵에 전달될 수 있다. 일부 실시형태에서, 핵산은 또한 특정 숙주 세포에서 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 작동 가능하게 연결된 서열, 예를 들어, 조절 요소, 예컨대 프로모터 또는 인핸서의 발현에 필수적인 적절한 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, 박테리아인 감염제는 RNA, 예컨대 표적 세포의 기작에 의한 번역을 위해 표적 세포의 세포질에 전달된 사전에 만들어진 번역-상보체 RNA의 형태로 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산을 전달할 수 있다.

[0417] 일부 실시형태에서, 박테리아는 표적 세포, 예를 들어, 면역 세포를 복제하고 용해시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 표적 세포의 세포질에서 핵산 서열 및/또는 유전자 산물을 함유하고/하거나 방출하여, 표적 세포, 예를 들어, 면역 세포를 사멸시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 감염제는 대상체에서의 특정 환경, 예를 들어, 염증 환경에서 특이적으로 복제될 수 있는 박테리아이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 박테리아는 혐기성 또는 저산소 미세환경에서 특이적으로 복제될 수 있다. 일부 실시형태에서, 특정 환경에 존재하는 조건 또는 인자, 예를 들어, 염증 환경에서의 세포에 의해 생성되는 아스파르테이트, 세린, 시트레이트, 리보스 또는 갈락토스는 환경에 박테리아를 유인하는 화학유인물질로서 작용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 환경, 예를 들어, 염증 환경에서 본 명세서에 기재된 면역조절 단백질을 발현시키고/시키거나 분비할 수 있다.

[0418] 일부 실시형태에서, 감염제는 리스테리아 종(Listeria sp.), 비피도박테리아 종(Bifidobacterium sp.), 에스케리키아 종(Escherichia sp.), 클로스트리듐 종(Clostridium sp.), 살모넬라 종(Salmonella sp.), 쉬겔라 종(Shigella sp.), 비브리오 종(Vibrio sp.) 또는 예르시니아 종(Yersinia sp)인 박테리아이다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), 살모넬라 티피뮤리움(*Salmonella typhimurium*), 살모넬라 콜레라수이스(*Salmonella choleraesuis*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 비브리오 콜레라(*Vibrio cholera*), 클로스트리듐 퍼프린겐스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 부티리쿰(*Clostridium butyricum*), 클로스트리듐 노비(*Clostridium novyi*), 클로스트리듐 아세토부틸리쿰(*Clostridium acetobutylicum*), 비피도박테리아 인펀티스(*Bifidobacterium infantis*), 비피도박테리아 롱검(*Bifidobacterium longum*) 및 비피도박테리아 아돌레센티스(*Bifidobacterium adolescentis*) 중 하나 이상에서 선택된다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 조작된 박테리아이다. 일부 실시형태에서, 박테리아는 조작된 박테리아, 예를 들어, 문헌[Seow and Wood (2009), *Mol Ther.*, 17(5):767-777; Baban et al. (2010), *Bioeng. Bugs*, 1(6):385-394; Patyar et al. (2010), *J Biomed Sci*, 17(1):21; Tangney et al. (2010), *Bioeng. Bugs*, 1(4):284-287; van Pijkeren et al. (2010), *Hum Gene Ther.*, 21(4):405-416]; WO 2012/149364; WO 2014/198002; 미국 특허 제9103831호; 미국 특허 제9453227; 미국 특허 제2014/0186401호; 미국 특허 제2004/0146488호; 미국 특허 제2011/0293705호; 미국 특허 제2015/0359909호 및 유럽 특허 제3020816호에 기재된 것이다. 박테리아는 대상체에서 본 명세서에 제공된 변이체 면역조절 폴리펩타이드, 접합체 및/또는 융합 중 어느 것을 암호화하는 핵산 서열을 전달하기 위해 그리고/또는 이러한 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 변형될 수 있다.

[0419] **F. 폴리펩타이드 또는 세포를 생성하기 위한 핵산, 벡터 및 방법**

[0420] 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드의 다양한 제공된 실시형태 중 어느 것을 암호화하는 "핵산"으로 총괄적으로 지칭되는 단리된 또는 재조합 핵산이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시형태에서, 이하에 기재하는 모두를 비롯하여 본 명세서에 제공된 핵산은 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드의 재조합 생성(예를 들어, 발현)에 유용하다. 일부 실시형태에서, 이하에 기재되는 모두를 포함하는 본 명세서에 제공된 핵산은 세포에서, 예컨대 조작된 세포, 예를 들어, 면역 세포, 또는 감염제 세포에서 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드의 발현에 유용하다. 본 명세서에 제공된 핵산은 RNA의 형태 또는 DNA의 형태일 수 있고, mRNA, cRNA, 재조합 또는 합성 RNA 및 DNA, 및 cDNA를 포함한다. 본 명세서에 제공된 핵산은 전형적으로 DNA 분자, 및 보통 이중가닥의 DNA 분자이다. 그러나, 본 발명의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 것을 포함하는 단일가닥 DNA, 단일가닥 RNA, 이중가닥 RNA, 및 혼성 DNA/RNA 핵산 또는 이들의 조합이 또한 제공된다.

[0421] 또한 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드를 생성하는 데 유용한 재조합 발현 벡터 및 재조합 숙주 세포가 본 명세서에서 제공된다.

[0422] 또한 제공된 핵산 또한 암호화된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 막관통 면역조절 폴리펩타이드 또는 분비 가능한 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 함유하는 조작된 세포, 예컨대 조작된 면역 세포가 본 명세서에서 제공된다.

[0423] 또한 제공된 핵산 또는 암호화된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것, 예컨대 막관통 면역조절 폴리펩타이드 또는 분비 가능한 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 함유하는 감염제, 예컨대 박테리아 또는 바이러스 세포가 본 명세서에서 제공된다.

[0424] 상기 제공된 실시형태 중 어느 것에서, 본 명세서에 제공된 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산은 재조합 DNA 및 클로닝 기법을 이용하여 세포 내로 도입될 수 있다. 이를 위하여, 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 재조합 DNA 분자가 제조된다. 이러한 DNA 분자의 제조 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 펩타이드에 대한 서열 암호는 적합한 제조 효소를 이용하여 DNA로부터 절단될 수 있었다. 대안적으로, DNA 분자는 화학

적 합성 기법, 예컨대 포스포르아미다이트 방법을 이용하여 합성될 수 있었다. 또한, 이들 기법의 조합이 사용될 수 있었다. 일부 예에서, 재조합 또는 합성 핵산은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 통해 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 제공된 설명에 따라 적어도 하나 친화도-변형된 IgSF 도메인 및, 일부 실시형태에서, 신호 펩타이드, 막관통 도메인 및/또는 엔도도메인을 함유하는 하나 이상의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 암호화하는 DNA 삽입이 생성될 수 있다. 이 DNA 삽입은 당업자에게 공지된 바와 같은 적절한 형질도입/형질감염 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 또한 핵산 분자를 함유하는 발현 벡터가 제공된다.

[0425] 일부 실시형태에서, 발현 벡터는 단백질의 발현에 적합한 조건 하에 적절한 세포에서 면역조절 단백질을 발현시킬 수 있다. 일부 양상에서, 핵산 분자 또는 발현 벡터는 적절한 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결된 면역조절 단백질을 암호화하는 DNA 분자를 포함한다. DNA 분자가 벡터 내로 삽입되기 전에 또는 후에 이런 작동성 연결에 영향을 미치는 방법은 잘 공지되어 있다. 발현 제어 서열은 프로모터, 활성제, 인핸서, 오퍼레이터, 리보솜 결합 부위, 개시 신호, 정지 신호, 캡 신호, 폴리아데닐화 신호 및 전사 또는 번역 제어에 연루된 다른 신호를 포함한다.

[0426] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질의 발현은 발현을 제어하거나 조절하기 위해 프로모터 또는 인핸서에 의해 제어된다. 프로모터는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자의 일부에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 구성적으로 활성인 프로모터(예컨대 조직-특이적 구성적으로 활성인 프로모터 또는 다른 구성적 프로모터)이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 특정 세포 유형(예를 들어, T 세포) 또는 조직에 대한 발현을 제한하기 위한 조직- 또는 세포-특이적 프로모터이다. 일부 실시형태에서 핵산 분자는 조직-특이적 프로모터 및 인핸서를 포함한다. 예시적인 조직-특이적 프로모터, 표적 조직 및 구체화된 표적 조직(들)과 관련된 자가면역 질환은 표 4에 제시된다.

표 4

[0427]

조직-특이적 프로모터		
프로모터	*표적 조직*	*질환*
침샘 아밀라제 프로모터	침샘; 상피세포 샘꽈리	쇼그렌 증후군
칼리크레인 프로모터	침샘; 도관상피세포	쇼그렌 증후군
인볼루크린 프로모터	각질형성세포	피부경화증
케라틴 14 프로모터	표피의 기저층	피부경화증
뮤린 알부민 유전자	간 (간세포)	당뇨병 및 기타 자가면역 질환
L-형 파이루베이트 키나제 프로모터	간 (간세포)	당뇨병 및 기타 자가면역 질환
래트 인슐린 프로모터	췌장 β-섬 세포	당뇨병
콜라겐 II 프로모터	관절(연골세포)	류마티스 관절염
인간 신경 아교 섬유 산성 단백질 프로모터	뇌 (성상세포)	다발성 경화증
뉴런-특이적 엔올라제 프로모터	뇌 (뉴런)	다발성 경화증
표적화 면역 세포		
인터류킨-2 프로모터	활성화된 T 세포	모든 자가면역 질환
MHC-II 특이적 HLA-DRα 프로모터	APC	모든 자가면역 질환
덱틴-2 프로모터	랑게르한스 세포; (수지상 세포)	모든 자가면역 질환
GATA-1 인핸서+렌티바이러스 LTR	적혈구계 세포	모든 자가면역 질환

[0428] 일부 실시형태에서, 프로모터는 표적화된 환경, 예컨대 저산소증의 유도제(예컨대 T 세포 활성화 신호) 또는 조건에 반응성일 수 있는 유도성 프로모터이다.

[0429] 일부 실시형태에서, 핵산 분자는 조건-의존적 프로모터를 포함한다. 이러한 실시형태에서, 프로모터는 질환-관련 방식으로 유전자 발현을 조절하도록 선택된다. 예시적인 조건-의존적 프로모터는 저산소증 조건 하에, 예컨대 염증 동안, 예를 들어, 염증 관절에서 조립되는 하나 이상의 저산소증 반응 요소(HRE) 및 전사 인자 HIF-1에 의해 매개되는 전사를 이용하는 저산소증 유전자 조절 시스템을 포함한다. 일부 실시형태에서, 글루코스 또는 인슐린-반응성 프로모터 또는 요소, 예컨대 글루코스 반응 요소(GRE) 및/또는 인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질-1 기저 프로모터는, 예를 들어, 글루코스-관련 장애, 예컨대 당뇨병을 갖는 환자에 대해 사용 또는 투여를 위한 제공된 핵산 분자로 포함될 수 있다.

[0430] 일부 실시형태에서, 구성적 프로모터는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 작동 가능하게 연결된다. 예시적인 구성적 프로모터는 유인원 액포형 바이러스 40(SV40) 프로모터, 거대세포 바이러스(CMV) 프로모터, 유비퀴틴 C(UbC) 프로모터 및 EF-1 알파(EF1a) 프로모터를 포함한다. 일부 실시형태에서, 구성적 프로모터는 조직 특이적이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 프로모터는 특정 조직, 예컨대 면역 세포, 림프구, 또는 T 세포에서 면역조절 단백질의 구성적 발현을 가능하게 한다. 예시적인 조직-특이적 프로모터는, 예를 들어, 태아단백질, DF3, 타이로시나제, CEA, 계면활성제 단백질 및 ErbB2 프로모터를 포함하는, 미국 특허 제5,998,205호에 기재되어 있다.

[0431] 일부 실시형태에서, 핵산의 발현이 전사의 적절한 유도자의 존재 또는 부재를 제어함으로써 제어될 수 있도록, 유도성 프로모터는 변이체 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 프로모터는 암호화된 폴리펩타이드의 조절된 발현을 가능하게 하는 조절된 프로모터 및 전사 인자 발현 시스템, 예컨대 공개된 테트라사이클린-조절 시스템 또는 다른 조절 가능한 시스템(예를 들어, 공개된 국제 특허 출원 WO 01/30843)일 수 있다. 예시적인 조절 가능한 프로모터 시스템은, 예를 들어, 클론테크(Clontech)(캘리포니아주 팔로 알토에 소재)로부터 이용 가능한 Tet-On(및 Tet-Off) 시스템이다. 이 프로모터 시스템은 테트라사이클린 또는 테트라사이클린 유도체, 예컨대 독시사이클린에 의해 제어되는 이식유전자의 조절된 발현을 가능하게 한다. 다른 조절 가능한 프로모터 시스템이 공지되어 있다(예를 들어, 리간드 결합 도메인 및 전사 조절 도메인을 함유하는 유전자 스위치, 예컨대 호르몬 수용체로부터의 유전자 스위치를 기재하는 미국 특허 공개 제2002-0168714호, 발명의 명칭: "Regulation of Gene Expression Using Single-Chain, Monomeric, Ligand Dependent Polypeptide Switches,"). 테트라사이클린 시스템의 다른 예시적인 유도성 프로모터는 리프레서(tetR), 라파마이신, 엑디손, 미페프리스톤 및 스트렙토그라민 시스템을 포함한다.

[0432] 일부 실시형태에서, 프로모터는 T-세포 활성화 신호전달에 반응성인 요소에 대해 반응성이다. 단지 예로서, 일부 실시형태에서, 조작된 T 세포는 면역조절 단백질의 발현을 제어하기 위해 작동 가능하게 연결된 면역조절 단백질 및 프로모터를 암호화하는 발현 벡터를 포함한다. 조작된 T 세포는, 예를 들어 조작된 T 세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 통한 신호전달에 의해 활성화될 수 있고, 이에 의해 반응성 프로모터를 통한 면역조절 단백질의 발현 및 분비를 촉발시킨다.

[0433] 일부 실시형태에서, 면역조절 단백질이 활성화 T-세포(NFAT) 또는 활성화 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄 인핸서(NF-κB)의 핵 인자에 반응하여 발현되도록 유도성 프로모터는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 작동 가능하게 연결된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 유도성 프로모터는 NFAT 또는 NF-κB에 대한 결합 부위를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 프로모터는 NFAT 또는 NF-κB 프로모터 또는 이의 기능성 변이체이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 핵산은 면역조절 단백질의 발현을 제어하는 한편, 면역조절 단백질의 독성을 감소시키거나 제거할 수 있게 한다. 특히, 본 발명의 핵산을 포함하는 조작된 면역 세포는 세포(예를 들어, 세포에 의해 발현되는 T-세포 수용체(TCR) 또는 키메라 항원 수용체(CAR))가 항원 및/또는 세포(예를 들어, 세포의 칼슘 신호전달 경로)에 의해 특이적으로 자극될 때에만 면역조절 단백질을 발현시키고 분비하며, 예를 들어, 포볼 미리스테이트 아세테이트(PMA)/이오노마이신에 의해 비특이적으로 자극된다. 따라서, 면역조절 단백질의 발현 및 일부 경우에, 분비는 이것이 필요한 때 및 필요한 곳(예를 들어 감염성 질환-유발제, 암의 존재 하에 또는 종양 부위에서)에서 생기도록 제어될 수 있는데, 이는 원치않는 면역조절 단백질 상호작용을 감소시키거나 피할 수 있다.

[0434] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산은 NFAT 프로모터, NF-κB 프로모터, 또는 이의 기능성 변이체를 암호화하는 적합한 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 "NFAT 프로모터"는 최소 프로모터에 연결된 하나 이상의 NFAT 반응성 요소를 의미한다. "NF-κB 프로모터"는 최소 프로모터에 연결된 하나 이상의 NF-κB 반응성 요소를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 유전자의 최소 프로모터는 최소 인간 IL-2 프로모터 또는 CMV 프로모터이다. NFAT 반응성 요소는, 예를 들어, NFAT1, NFAT2, NFAT3, 및/또는 NFAT4 반응성 요소를 포함할 수 있다. NFAT 프로모터, NF-κB 프로모터, 또는 이의 기능성 변이체는 다수의 결합 모티프, 예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 최대 12개의 결합 모티프를 포함할 수 있다.

[0435] DNA 분자를 갖는 얻어진 재조합 발현 벡터는 적절한 숙주를 형질전환시키는 데 사용된다. 이 형질전환은 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 얻어진 가용성 면역조절 폴리펩타이드가 배양 배지, 숙주 세포, 또는 숙주 세포 주변세포질로부터 회수되도록 본 명세서에 제공된 핵산은 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 작동 가능하게 연결된 분비 또는 신호 펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 적절한 발현 제어 신호는 면역조절 폴리펩타이드의 막 발현을 가능하

게 하도록 선택된다. 더 나아가, 본 명세서에 제공된 조작된 세포 또는 재조합 숙주 세포를 제조하기 위해 상업적으로 입수 가능한 키트뿐만 아니라 계약 생산 회사가 또한 이용될 수 있다.

[0436] 일부 실시형태에서, DNA 분자를 갖는 얻어진 발현 벡터는 적절한 세포를 형질전환, 예컨대 형질도입하기 위해 사용된다. 도입은 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 수행될 수 있다. 예시적인 방법은 바이러스, 예를 들어, 레트로바이러스 또는 렌티바이러스를 통하는 것, 형질도입, 트랜스포존 및 전기천공법을 포함하여, 수용체를 암호화하는 핵산의 전달을 위한 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 발현 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시형태에서, 핵산은 렌티바이러스 또는 레트로바이러스 형질도입 방법에 의해 세포에 전달된다.

[0437] 포유류 T-세포 또는 APC를 포함하는 매우 다수의 공공연하게 이용 가능하고 잘 공지된 포유류 숙주 세포가 폴리펩타이드 또는 조작된 세포를 제조하는 데 사용될 수 있다. 세포의 선택은 당업계에서 인식되는 다수의 인자에 의존한다. 이들은, 예를 들어, 선택된 발현 벡터과의 적합성, DNA 분자에 의해 암호화된 펩타이드의 독성, 형질전환율, 펩타이드 회수의 용이함, 발현 특징, 생체안전성 및 비용을 포함한다. 이들 인자의 균형은 모든 세포가 특정 DNA 서열의 발현에 동등하게 효과적이지 않을 수 있다는 이해와 충돌되어야 한다.

[0438] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 다양한 진핵생물 세포, 예컨대 효모 세포에 있거나, 또는 포유류 세포, 예컨대 중국 햄스터 난소(CHO) 또는 HEK293 세포가 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 현탁 세포이며, 폴리펩타이드는 배양 현탁액에서, 예컨대 배양된 현탁액 CHO 세포, 예를 들어, CHO-S 세포에서 조작되거나 생성된다. 일부 예에서, 세포주는 DHFR(DHFR-)가 결핍된 CHO 세포주, 예컨대 DG44 및 DUXB11이다. 일부 실시형태에서, 세포는 글루타민 신타제(GS), 예를 들어, CHO-S 세포, CHOK1 SV 세포 및 CHOZN((R)) GS-/- 세포가 결여된다. 일부 실시형태에서, CHO 세포, 예컨대 현탁액 CHO 세포는 CHO-S-2H2 세포, CHO-S-클론 14 세포, 또는 ExpiCHO-S 세포일 수 있다.

[0439] 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 원핵 세포, 예컨대 이콜라이에 의한 세포일 수 있다. 형질전환된 재조합 숙주는 폴리펩타이드 발현 조건 하에 배양되고, 이어서, 정제되어 가용성 단백질을 얻는다. 목적하는 폴리펩타이드가 발현되도록 재조합 숙주 세포는 통상적인 발효 조건 하에 배양될 수 있다. 이러한 발효 조건은 당업계에 잘 공지되어 있다. 최종적으로, 본 명세서에 제공된 폴리펩타이드는 황산암모늄 또는 에탄올 침전, 산 추출, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로스 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피 및 친화도 크로마토그래피를 포함하는 당업계에 잘 공지된 다수의 방법에 의해 재조합 세포 배양물로부터 회수되고 정제될 수 있다. 원한다면 성숙 단백질의 경쟁 입체배치에서 단백질 재접힘 단계가 사용될 수 있다. 최종적으로, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)는 최종 정제 단계에서 사용될 수 있다.

[0440] 일부 실시형태에서, 세포는 조작된 세포의 제조와 관련하여 임의의 상기 기재한 것과 같은 면역 세포이다. 일부 실시형태에서, 이러한 조작된 세포는 1차 세포이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 대상체에 대해 자가이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 대상체에 대해 동종이계이다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포는, 예컨대 백혈구 성분 채집술에 의해 대상체로부터 얻어지며, 면역조절 폴리펩타이드, 예를 들어, 막관통 면역조절 폴리펩타이드 또는 분비 가능한 면역조절 폴리펩타이드의 발현을 위해 생체외에서 형질전환된다.

[0441] 또한 본 명세서에 기재된 감염제에 함유된 변이체 면역조절 폴리펩타이드 중 어느 것을 암호화하는 핵산이 제공된다. 일부 실시형태에서, 감염제는 대상체에서 세포에 핵산을 전달하고/하거나 암호화된 변이체 폴리펩타이드의 세포에서의 발현을 허용한다. 또한 이러한 감염제를 생성하거나, 제조하거나, 변형시키기 위해 사용되는 핵산이 제공된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 감염제의 생성, 대상체에서 세포에 대한 전달 및/또는 대상체에서의 세포에서 변이체 면역조절 폴리펩타이드의 발현을 위해 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산을 함유하는 벡터 및/또는 플라스미드가 제공된다.

[0442] 일부 실시형태에서, 제공된 핵산은 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 재조합 바이러스 또는 박테리아 벡터이다. 일부 실시형태에서, 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 감염제를 생성하기 위해 그리고/또는 표적 세포에 의한 발현을 위해 대상체에서의 표적 세포에 전달되도록 재조합 벡터가 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는 감염제의 생성 및/또는 생산 및 표적세포에서의 발현에 필수적인 적절한 서열을 포함한다.

[0443] 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는 플라스미드 또는 코스미드이다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 변이체 면역조절 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 플라스미드 또는 코스미드는 당업계에 잘 공지된 표준 기법을 이용하여 용이하게 작제된다. 감염제의 생성을 위해, 벡터 또는 게놈은 패키징 또는 생산자 세포주 또는

숙주 박테리아 내로 이후에 형질감염될 수 있는 플라스미드 형태로 작제될 수 있다. 재조합 벡터는 당업계에 임의의 공지된 재조합을 이용하여 생성될 수 있다. 일부 실시형태에서, 벡터는 원핵생물 복제기점 및/또는 발현이 검출 가능한 또는 선택 가능한 마커, 예컨대 원핵생물 시스템에서 증식 및/또는 선택에 대한 약물 내성을 부여하는 유전자를 포함할 수 있다.

[0444] 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는 바이러스 벡터이다. 예시적인 재조합 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터 게놈, 폭스바이러스 벡터 게놈, 백시니아 바이러스 벡터 게놈, 아데노바이러스 벡터 게놈, 아데노바이러스-연관 바이러스 벡터 게놈, 포진 바이러스 벡터 게놈, 및 알파 바이러스 벡터 게놈을 포함한다. 바이러스 벡터는 생, 약독, 복제 상태 또는 복제 결핍, 비병원성(결함), 복제 적격 바이러스 벡터일 수 있고/있거나 이종성 유전자 산물, 예를 들어, 변이체 본 명세서에 제공된 면역조절 폴리펩타이드를 발현시키도록 변형된다. 바이러스의 생성을 위한 벡터는 또한 전사 또는 번역 부하를 증가시키거나 감소시키는 임의의 방법을 포함하는 바이러스의 약화를 변경시키도록 변형될 수 있다.

[0445] 사용될 수 있는 예시적인 바이러스 벡터는 변형된 백시니아 바이러스 벡터(예를 들어, 문헌[Guerra et al., *J. Virol.*, 80(2):985-98 (2006); Tartaglia et al., *AIDS Research and Human Retroviruses*, 8(8):1445-47 (1992); Gheradi et al., *J. Gen. Virol.*, 86(Pt 11):2925-36(2005); Mayr et al., *Infection*, 3(1):6-14(1975); Hu et al., *J. Virol.*, 75(21):10300-308 (2001)]; 미국 특허 제5,698,530호, 제6,998,252호, 제5,443,964호, 제7,247,615호 및 제7,368,116호); 아데노바이러스 벡터 또는 아데노바이러스-연과 바이러스 벡터(예를 들어, 문헌[Molin et al., *J. Virol.*, 72(10):8358-61(1998); Narumi et al., *Am J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 19(6):936-41(1998); Mercier et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(16):6188-93(2004)]; 미국 특허 제6,143,290호; 제6,596,535호; 제6,855,317호; 제6,936,257호; 제7,125,717호; 제7,378,087호; 제7,550,296호); 뮤린 백혈병 바이러스(MuLV)에 기반한 것을 포함하는 레트로바이러스 벡터, 긴본 유인원 백혈병 바이러스(GaLV), 제한숙주 레트로바이러스, 유인원 면역결핍 바이러스(SIV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 및 조합(예를 들어, 문헌[Buchscher et al., *J. Virol.*, 66(5):2731-39 (1992); Johann et al., *J. Virol.*, 66(3):1635-40 (1992); Sommerfelt and Weiss, *Virology*, 176(1):58-59 (1990); Wilson et al., *J. Virol.*, 63(5):2374-78 (1989); Miller et al., *J. Virol.*, 65(5):2220-24(1991); Miller et al., *Mol. Cell Biol.*, 10(8):4239-42(1990); Kolberg, *NIH Res.*, 4:43-44(1992); Cornetta et al., *Hum. Gene Ther.*, 2(3):215-219 (1991)] 참조); 인간 면역결핍 바이러스(HIV-1), HIV-2, 고양이 면역결핍 바이러스(FIV), 말 감염성 바이러스, 유인원 면역결핍 바이러스(SIV), 및 매디/비스나 바이러스에 기반한 것을 포함하는 렌티바이러스 벡터(예를 들어, 문헌[Pfeifer and Verma, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 2:177-211(2001); Zufferey et al., *J. Virol.*, 72(12):9873-80 (1998); Miyoshi et al., *J. Virol.*, 72(10):8150-7 (1998); Philpott and Thrasher, *Human Gene Therapy*, 18(6):483-9 (2007); Engelman et al., *J. Virol.*, 69(5):2729-36(1995); Nightingale et al., *Mol. Therapy*, 13(6):1121-32(2006); Brown et al., *J. Virol.*, 73(11):9011-20 (1999)]; WO 2009/076524; WO 2012/141984; WO 2016/011083; 문헌[McWilliams et al., *J. Virol.*, 77(20):11150-7 (2003); Powell and Levin, *J. Virol.*, 70(8):5288-96(1996)] 참조) 또는 이들의 임의의 변이체, 및/또는 상기 기재한 임의의 바이러스를 생성하기 위해 사용될 수 있는 벡터를 포함한다. 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는 패키징 세포주에서, RNA 바이러스의 경우에서와 같이 바이러스 게놈의 발현을 조절할 수 있는 조절 서열, 예컨대 프로모터 또는 인핸서 서열을 포함할 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,385,839호 및 제5,168,062호 참조).

[0446] 일부 실시형태에서, 재조합 벡터는, 예를 들어, 대상체에서의 세포, 예를 들어, 종양 세포, 면역 세포 및/또는 APC에 전달될 때 암호화된 유전자 산물의 발현을 허용하는 발현 벡터와 같은 발현 벡터이다. 일부 실시형태에서, 감염제에 함유된 재조합 발현 벡터는 단백질에 발현에 적합한 조건 하에 대상체에서 표적 세포에서 면역조절 단백질을 발현시킬 수 있다.

[0447] 일부 양상에서, 핵산 또는 발현 벡터는 적절한 발현 제어 서열에 작동 가능하게 연결된 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 서열을 포함한다. 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 서열이 벡터에 삽입되기 전에 또는 후에 이런 조작 연결에 영향을 미치는 방법은 잘 공지되어 있다. 발현 제어 서열은 프로모터, 활성제, 인핸서, 오퍼레이터, 리보솜 결합 부위, 개시 신호, 정지 신호, 캡 신호, 폴리아데닐화 신호 및 전사 또는 번역의 제어에 연루된 다른 신호를 포함한다. 프로모터는 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 서열의 일부에 작동 가능하게 연결될 수 있다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 표적 세포에서 구성적으로 활성인 프로모터(예컨대 조직-특이적 구성적으로 활성인 프로모터 또는 다른 구성적 프로모터)이다. 예를 들어, 재조합 발현 벡터는 또한 림프구 조직-특이적 전사 조절 요소(TRE), 예컨대 B 림프구, T 림프구, 또는 수지상 세포 특이적 TRE를 포함할 수 있다. 림프구 조직 특이적 TRE는 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Thompson et al., *Mol. Cell. Biol.*,

12(3):1043-53(1992); Todd et al., *J. Exp. Med.*, 177(6):1663-74(1993); Penix et al., *J. Exp. Med.*, 178(5):1483-96(1993)] 참조). 일부 실시형태에서, 프로모터는 유도제(예컨대 T 세포 활성화 신호)에 반응성일 수 있는 유도성 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 표적 세포, 예를 들어, 면역 세포, 염증 환경에 국소화된 세포, 및/또는 APC에 전달된 핵산은 상기 기재한 조절 요소 중 어느 것에 작동 가능하게 연결될 수 있다.

[0448] 일부 실시형태에서, 벡터는 박테리아 벡터, 예를 들어, 박테리아 플라스미드 또는 코스미드이다. 일부 실시형태에서, 박테리아 벡터는 포유류 세포에 대한 플라스미드 DNA의 박테리아-매개 전달("박토펙션"으로도 지칭됨)을 통해 표적 세포, 예를 들어, 면역 세포, 염증 환경에 국소화된 세포, 및/또는 APC에 전달된다. 일부 실시형태에서, 전달된 박테리아 벡터는 또한 표적 세포에서의 발현을 위한 적절한 발현 제어 서열, 예컨대 프로모터 서열 및/또는 인핸서 서열, 또는 상기 기재한 임의의 조절 또는 제어 서열을 함유한다. 일부 실시형태에서, 박테리아 벡터는 감염제, 예를 들어, 박테리아에서 암호화된 변이체 폴리펩타이드의 발현 및/또는 분비를 위해 적절한 발현 제어 서열을 함유한다.

[0449] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 폴리펩타이드는 합성 방법에 의해 만들어질 수 있다. 고체상 합성은 개개 펩타이드의 바람직한 제조 기법인데, 이것이 작은 펩타이드를 만드는 가장 비용 효과적인 방법이기 때문이다. 예를 들어, 잘 공지된 고체상 합성 기법은 보호기, 링커 및 고체상 지지체뿐만 아니라 특정 보호 및 탈보호 반응 조건, 링커 절단 조건의 사용, 스캐빈저의 사용, 및 고체상 펩타이드 합성의 다른 양상을 포함한다. 이어서, 펩타이드는 본 명세서에 제공된 바와 같은 폴리펩타이드 내로 조립될 수 있다.

[0450] **IV. 변이체 CTLA4 폴리펩타이드 및 면역조절 단백질의 활성 면역 조절의 평가 방법**

[0451] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드(예를 들어, 전장 및/또는 특이적 결합 단편 또는 접합체, 적층 작제물 또는 이의 융합 또는 조작된 세포)은 T 세포 활성화를 조절하기 위해 면역조절 활성을 나타낸다. 일부 실시형태에서, CTLA-4 폴리펩타이드는 야생형 또는 비변형 CTLA-4 대조군에 비해 T 세포 분석에서 IFN-감마 발현을 조절한다. 일부 경우에, IFN-감마 발현의 조절은 대조군에 비해 IFN-감마 발현을 증가 또는 감소시킬 수 있다. 특이적 결합 및 IFN-감마 발현을 결정하기 위한 분석은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 배양물 상청액 중의 인터페론-감마 사이토카인 수준을 측정하는 MLR(혼합 림프구 반응) 분석(Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep: 2(9):846-56), SEB(스타필로코커스 엔테로톡신 B) T 세포 자극 분석(Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep: 2(9):846-56), 및 항-CD3 T 세포 자극 분석(Li and Kurlander, J Transl Med. 2010: 8: 104)을 포함한다.

[0452] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 일부 실시형태에서 야생형 CTLA-4 대조군에 비해 1차 T-세포 분석에서 IFN-감마(인터페론-감마) 발현을 증가시키거나, 대안의 실시형태에서 감소시킬 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 활성은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드가 길항제 활성을 위한 형태로 또는 작용제 활성을 위한 형태로 제공되는지의 여부에 의존할 수 있다. 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 공자극 수용체의 길항제이며, 예컨대 ICOS 및/또는 CD28로부터의 공자극 신호를 차단한다. 당업자는 IFN-감마 발현에서의 증가 또는 감소를 결정하기 위해 사용되는 1차 T-세포 분석의 상이한 형식이 존재한다는 것을 인식할 것이다.

[0453] 1차 T-세포 분석에서 IFN-감마 발현을 증가 또는 감소시키는 변이체 CTLA-4의 능력을 분석함에 있어서, 혼합 림프구 반응(MLR) 분석이 사용될 수 있다. 일부 경우에, ICOSL, CD80 및/또는 CD86에 우선적으로 또는 특이적으로 결합하는 변이체 CTLA-4의 가용성 형태는 T 세포를 길항하고, 이에 의해 MLR에서의 IFN-감마 발현을 감소시키는 변이체 CTLA-4의 능력을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0454] 일부 실시형태에서, 길항제 형태, 예컨대 가용성 형태로 제공되는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질, 예를 들어, 변이체 CTLA-4-Fc 또는 분비 가능한 면역조절 단백질은 CD28 및/또는 ICOS 공자극 수용체(들)의 활성을 차단하며, 이에 의해 분석에서 MLR 활성을 감소시키며, 예컨대 분석에서 IFN-감마의 감소된 생성에 의해 관찰된다. 따라서, 일부 실시형태에서, ICOS에 우선적으로 결합하는 변이체 CTLA-4의 가용성 형태는 T 세포에서 공자극 신호를 차단하고, 이에 의해 MLR에서의 IFN-감마 발현을 감소시키는 변이체 CTLA-4의 능력을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0455] 일부 실시형태에서, IFN-감마 발현의 증가 또는 감소를 조절하는 변이체 CTLA-4 능력을 분석함에 있어서, T 세포 리포터 분석이 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, T 세포는 Jurkat T 세포주이거나, Jurkat T 세포주로부터 유래된다. 리포터 분석에서, 리포터 세포주(예를 들어, Jurkat 리포터 세포)는 또한 변이체 IgSF 도메인 폴

리펩타이드 표적의 결합 상대인 공자극 수용체를 과발현시키기 위해 생성된다. 예를 들어, 변이체 CTLA-4의 경우에, 리포터 세포주(예를 들어, Jurkat 리포터 세포)는 CD28 및/또는 ICOS를 과발현시키기 위해 생성된다. 일부 실시형태에서, 리포터 T 세포는 또한 리포터에 작동 가능하게 연결된 T 세포 활성화에 반응성인 유도성 프로모터를 함유하는 리포터 작제물을 함유한다. 일부 실시형태에서, 리포터는 형광 또는 발광 리포터이다. 일부 실시형태에서, 리포터는 루시퍼라제이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 CD3 신호전달에 반응성이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 NFAT 프로모터이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 공자극 신호전달, 예를 들어, CD28 공자극 신호전달에 반응성이다. 일부 실시형태에서, 프로모터는 IL-2 프로모터이다.

[0456] 리포터 분석의 양상에서, 리포터 세포주는, 예컨대 공자극 수용체의 야생형 리간드, 예를 들어, ICOSL, CD80 및/또는 CD86을 발현시키는 항원 제시 세포(APC)와의 공동인큐베이션에 의해 자극된다. 일부 실시형태에서, APC는 인공 APC이다. 인공 APC는 당업자에게 잘 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 인공 APC는 하나 이상의 포유류 세포주, 예컨대 K562, CHO 또는 293 세포로부터 유래된다.

[0457] 일부 실시형태에서, Jurkat 리포터 세포는 변이체 IgSF 도메인 분자 또는 면역조절 단백질, 예를 들어, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 존재 하에 공자극 리간드를 과발현시키는 인공 APC와 함께 인큐베이션된다. 일부 실시형태에서, 리포터 발현은, 예컨대 세포의 발광 또는 형광을 결정함으로써 모니터링된다. 일부 실시형태에서, 이의 공자극 수용체와 리간드 사이의 정상 상호작용은, 예컨대 대조군에 비해, 리포터 신호, 예를 들어, 공자극 수용체 및 리간드 상호작용이 존재하는 APC, 예를 들어, ICOSL, CD80, 및/또는 CD86를 과발현시키지 않는 APC와 대조군 T 세포의 공동 인큐베이션에 의한 리포터 발현의 향상 또는 증가를 초래한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은, 예를 들어, 변이체 CTLA-4-Fc로서 가용성 형태로 제공될 때 또는 분비 가능한 면역조절 단백질로서 APC로부터 발현될 때 상호작용을 길항하여, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 부재 하에서에 비해 리포터 신호의 감소를 초래한다.

[0458] 적절한 대조군의 사용은 당업자에게 공지되어 있지만, 그러나, 앞서 언급한 실시형태에서, 대조군은 전형적으로 비변형 CTLA-4, 예컨대 변이체 CTLA-4가 유래되거나 발생된 동일한 포유류 종으로부터의 야생형 또는 천연 CTLA-4 동형의 사용을 수반한다. 일부 실시형태에서, 야생형 또는 천연 CTLA-4는 변이체와 동일한 형태 또는 대응하는 형태를 가진다. 예를 들어, 변이체 CTLA-4가 단백질에 융합된 변이체 ECD를 함유하는 가용성 형태라면, 대조군은 Fc 단백질에 융합된 야생형 또는 CTLA-4의 천연 ECD를 함유하는 가용성 형태이다. ICOSL에 대한 결합 친화도 및/또는 선택성이 증가 또는 감소되는지의 여부와 상관없이, 변이체 CTLA-4는 일부 실시형태에서 IFN-감마 발현을 감소시키고, 대안의 실시형태, 야생형 CTLA-4 대조군에 비해 T-세포 분석에서의 IFN-감마 발현을 증가시킬 것이다.

[0459] 일부 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질은 IFN-감마 발현(즉, 단백질 발현)을 야생형 또는 비변형 CTLA-4 대조군에 비해 적어도: 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상만큼 감소시킨다. 다른 실시형태에서, 변이체 CTLA-4 또는 면역조절 단백질은 IFN-감마 발현(즉, 단백질 발현)을 야생형 또는 비변형 CTLA-4 대조군에 비해 적어도: 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 이상만큼 증가시킨다. 일부 실시형태에서, 야생형 CTLA-4 대조군은 뮤린 CTLA-4이며, 예컨대 전형적으로 야생형 뮤린 CTLA-4 서열로부터의 서열에서 변경된 변이체 CTLA-4에 대해 사용될 것이다. 일부 실시형태에서, 야생형 CTLA-4 대조군은 인간 CTLA-4이며, 예컨대 전형적으로 야생형 인간 CTLA-4 서열, 예컨대 서열번호 2 또는 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CTLA-4 서열로부터의 서열에서 변경된 변이체 CTLA-4에 대해 사용될 것이다.

[0460] 일부 경우에, 제공된 바와 같은 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유하는 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 활성은 적절한 동물 모델을 이용하여 평가될 수 있다. 일부 실시형태에서, 동물 모델은 자가면역 질환의 모델이다. 자가면역 활성의 동물 모델은 유전적 감수성 유전자 또는 좌위를 갖는 동물(예를 들어, 마우스) 균주의 교배 다음에 질환 표현형의 발생에 대한 동물의 주의깊은 모니터링을 통해 생성되는, 자발적 동물 모델, 예컨대 자가면역 질환에 대한 자발적 마우스 모델을 포함한다. 예시적인 자발적 동물 모델은 1형 진성 당뇨병(T1D)-유사 표현형이 자발적으로 발생하는 비만이 아닌 당뇨병(nonobese diabetic: NOD) 마우스 모델, 및 전신 홍반성 낭창(SLE)-유사 표현형이 자발적으로 발생하는 NZB/W F1 마우스 모델을 포함한다. 자가면역질환의 다른 예시적인 동물 모델은 다발성 경화증(MS) 연구를 위한 자가항원 주사에 의해 생성되는 실험적 자가면역 뇌척수염(EAE) 마우스 모델을 포함한다. 예시적인 류마티스 관절염(RA) 모델은 인간 T-세포 백혈병 바이러스 I형(HTLV-I) 유전자이식 마우스 모델 및 IL-1 수용체 길항제(IL-1Ra) 결핍(KO) 마우스 모델을 포함한다. 마우스에서 콘카나발린 A(Con A)-유도 간염은 자가면역 간염에 대한 예시적인 모델이다(Tiegs et al., 1992, JCI, Mizuhara H., JEM, 1994, Toyabe S, JI, 1997). 다른 예시적인 동물 모델은 이식편대숙주질환(GVHD) 마우스 모

델, 공통유전자 이식 마우스 모델 및 골수 이식 모델을 포함한다. 동물 모델은 자가면역질환의 병리 및 치료를 연구하기 위해 널리 사용되며, 본 명세서에 제공된 변이체 CTLA4 폴리펩타이드의 용도, 투약량 및 효능을 평가하기 위해 사용될 수 있다.

[0461] **V. 약제학적 제형**

[0462] 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 접합체, 조작된 세포 또는 감염제 중 어느 것을 함유하는 조성물이 제공된다. 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 약제학적 조성물은, 예를 들어, 조성물의 pH, 삼투압 농도, 점성도, 선명도, 색, 등장성, 냄새, 멸균성, 안정도, 해리 또는 방출 속도, 흡착 또는 침투를 변형시키거나, 유지하거나, 보존하기 위해 1종 이상의 부형제를 함유할 수 있다. 일부 양상에서, 당업자는 세포를 함유하는 약제학적 조성물이 단백질을 함유하는 약제학적 조성물과 상이할 수 있다는 것을 이해한다.

[0463] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 고체, 예컨대 분말, 캡슐 또는 정제이다. 예를 들어, 약제학적 조성물의 성분은 동결건조될 수 있다. 일부 실시형태에서, 고체 약제학적 조성물은 투여 전에 액체에서 재구성되거나 용해된다.

[0464] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 액체, 예를 들어 수용액(예컨대 생리 식염수 또는 링거 용액)에 용해된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는 약 4.0 내지 약 8.5(예컨대 약 4.0 내지 약 5.0, 약 4.5 내지 약 5.5, 약 5.0 내지 약 6.0, 약 5.5 내지 약 6.5, 약 6.0 내지 약 7.0, 약 6.5 내지 약 7.5, 약 7.0 내지 약 8.0 또는 약 7.5 내지 약 8.5)이다.

[0465] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로-허용 가능한 부형제, 예를 들어 충전제, 결합제, 코팅제, 보존제, 윤활제, 향미제, 감미제, 착색제, 용매, 완충제, 킬레이트제 또는 안정제를 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 충전제의 예는 셀룰로스, 2염기성 인산칼슘, 탄산칼슘, 미정질 셀룰로스, 수크로스, 락토스, 글루코스, 만니톨, 솔비톨, 말톨, 전호화 전분, 옥수수 전분, 또는 감자 전분을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 결합제의 예는 폴리비닐피롤리돈, 전분, 락토스, 자일리톨, 솔비톨, 말티톨, 젤라틴, 수크로스, 폴리에틸렌 글리콜, 메틸 셀룰로스, 또는 셀룰로스를 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 코팅제의 예는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC), 셀락, 옥수수 단백질 제인 또는 젤라틴을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 붕괴제의 예는 폴리비닐피롤리돈, 카복시메틸 셀룰로스, 또는 전분글리콜산나트륨을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 윤활제의 예는 폴리에틸렌 글리콜, 스테아르산마그네슘, 또는 스테아르산을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 보존제의 예는 메틸 파라벤, 에틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤조산, 또는 솔브산을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 감미제의 예는 수크로스, 사카린, 아스파탐 또는 솔비톨을 포함한다. 약제학적으로-허용 가능한 완충제의 예는 탄산염, 시트르산염, 글루콘산염, 아세트산염, 인산염 또는 타르타르산염을 포함한다.

[0466] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 생성물의 제어 또는 지속 방출을 위한 제제, 예컨대 주사 가능한 미소구체, 생분해성 입자, 중합체 화합물(폴리락트산, 폴리글리콜산), 비드 또는 리포좀을 추가로 포함한다.

[0467] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 멸균이다. 멸균은 멸균 여과막을 통한 여과 또는 방사선에 의해 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조되는 경우에, 이 방법을 이용하는 멸균은 동결건조 및 재구성 전에 또는 후에 수행될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조 형태로 또는 용액 중에 저장될 수 있다. 추가로, 비경구 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어, 정맥내 용액 백(bag) 또는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알에 넣어진다.

[0468] 일부 실시형태에서, 이러한 막관통 면역조절 단백질을 발현시키는 조작된 세포를 포함하는 막관통 면역조절 단백질을 함유하는 약제학적 조성물이 제공된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물 및 제형은 1종 이상의 선택적인 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함한다. 이러한 조성물은 완충제, 예컨대 중성 완충 식염수, 인산염 완충 식염수 등; 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 덱스트란, 만니톨; 단백질; 폴리펩타이드 또는 아미노산, 예컨대 글리신; 항산화제; 킬레이트제, 예컨대 EDTA 또는 글루타티온; 보조제(예를 들어, 수산화알루미늄); 및 보존제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 바람직하게는 정맥내 투여를 위해 제형화된다.

[0469] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 면역조절 변이체 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산 서열을 함유하는 감염제를 함유한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 치료에 적합한 대상체에 대한 투여에 적합한 감염제의 용량을 함유한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 사이 또는 약 1×10^{5} 내지 약 1×10^{12} 플라크-형성

단위(pfu), 1×10^{6} 내지 1×10^{10} pfu, 또는 1×10^{7} 내지 1×10^{10} pfu(각각을 포함), 예컨대 적어도 또는 적어도 약 또는 약 1×10^{6}, 1×10^{7}, 1×10^{8}, 1×10^{9}, 2×10^{9}, 3×10^{9}, 4×10^{9}, 5×10^{9} pfu 또는 약 1×10^{10} pfu의 단일 또는 다회 투약량으로 바이러스인 감염제를 함유한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 10^{5} 내지 약 10^{10} pfu/㎖, 예를 들어, 5×10^{6} 내지 5×10^{9} 또는 1×10^{7} 내지 1×10^{9} pfu/㎖, 예컨대 적어도 또는 적어도 약 또는 약 10^{6} pfu/㎖, 10^{7} pfu/㎖, 10^{8} pfu/㎖ 또는 10^{9} pfu/㎖의 바이러스 농도를 함유할 수 있다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 내지 또는 약 1×10^{3} 내지 약 1×10^{9} 집락 형성 단위(cfu), 1×10^{4} 및 1×10^{9} cfu, 또는 1×10^{5} 및 1×10^{7} cfu(각각을 포함), 예컨대 적어도 또는 적어도 약 또는 약 1×10^{4}, 1×10^{5}, 1×10^{6}, 1×10^{7}, 1×10^{8} 또는 1×10^{9} cfu의 단일 또는 다회 투약량으로 박테리아인 감염제를 함유한다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약 10^{3} 내지 약 10^{8} cfu/㎖, 예를 들어, 5×10^{5} 내지 5×10^{7} 또는 1×10^{6} 내지 1×10^{7} cfu/㎖, 예컨대 적어도 또는 적어도 약 또는 약 10^{5} cfu/㎖, 10^{6} cfu/㎖, 10^{7} cfu/㎖ 또는 10^{8} cfu/㎖의 박테리아 농도를 함유할 수 있다.

[0470] 이러한 제형은, 예를 들어, 정맥내 주입에 적합한 형태일 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 하나의 조직, 기관 또는 신체의 일부로부터 다른 조직, 기관 또는 신체의 일부까지 관심 대상의 세포를 운반 또는 수송하는 데 연루된 약제학적으로 허용 가능한 물질, 조성물 또는 비히클일 수 있다. 예를 들어, 담체는 약체 또는 고체 충전제, 희석제, 부형제, 용매 또는 캡슐화 물질, 또는 이의 일부 조합물일 수 있다. 담체의 각각의 성분은 제형의 다른 성분과 양립 가능하여야 한다는 점에서 "약제학적으로 허용 가능"하여야 한다. 또한 접할 수 있는 임의의 조직, 기관 또는 신체의 일부과의 접촉에 적합하여야 하는데, 이는 독성, 자극, 알레르기 반응, 면역원성 또는 이의 치료적 이점보다 과도하게 더 큰 임의의 다른 합병증을 수반하지 않아야 한다는 것을 의미한다.

[0471] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 대상체에게 투여된다. 일반적으로, 약제학적 조성물의 투약량 및 투여 경로는 표준 약제학적 실행에 따라 대상체의 크기 및 병태에 따라, 결정된다. 예를 들어, 치료적 유효 용량은 세포 배양물 분석에서 또는 동물 모델, 예컨대 마우스, 래트, 토끼, 개, 돼지 또는 원숭이에서 처음에 추정될 수 있다. 동물 모델은 또한 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 이어서, 이러한 정보는 인간에서 투여를 위한 유용한 용량 및 경로를 결정하는 데 사용될 수 있다. 정확한 투약량은 치료를 필요로 하는 대상체와 관련된 인자에 비추어 결정될 것이다. 투약량 및 투여는 활성 화합물의 충분한 수준을 제공하기 위해 또는 목적하는 효과를 유제하기 위해 조절된다. 고려될 수 있는 인자는 질환 상태의 중증도, 대상체의 일반적 건강상태, 대상체의 연령, 체중 및 성별, 투여 시간 및 빈도, 약물 조합(들), 반응 민감성 및 요법에 대한 반응을 포함한다.

[0472] 장기 작용성 약제학적 조성물은 특정 제형의 반감기 및 클리어런스율에 따라서 3 내지 4일마다, 1주마다, 또는 2주마다 투여될 수 있다. 투약 빈도는 사용되는 제형 내 분자의 약물동태학적 매개변수에 따를 것이다. 전형적으로, 목적하는 효과를 달성하는 투약량에 도달될 때까지 조성물이 투여된다. 따라서 조성물은 시간에 걸쳐 단일 용량으로서 또는 다회 용량으로서(동일한 또는 상이한 농도/투약량으로) 또는 지속적 주입으로서 투여될 수 있다. 적절한 투약량의 추가적인 개선은 일상적으로 만들어진다. 적절한 투약량은 적절한 용량-반응 데이터의 사용을 통해 확인될 수 있다. T 세포 활성화 또는 증식, 사이토카인 합성 또는 생성(예를 들어, TNF-α, IFN-ɣ, IL-2의 생성), 다양한 활성화 마커(예를 들어, CD25, IL-2 수용체)의 유도, 염증, 관절 종창 또는 압통, C-반응성 단백질의 혈청 수준, 항-콜라겐 항체 생성, 및/또는 T 세포-의존적 항체 반응(들)을 포함하는 치료 효과에 대한 다수의 바이오마커 또는 생리학적 마커가 모니터링될 수 있다.

[0473] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 경구, 경피, 흡입, 정맥내, 동맥주사, 근육내, 상처 부위에 직접 도포, 수술 부위에 도포, 복강내, 좌약, 피하, 진피내, 경피, 분무화, 흉강내, 심실내, 관절내, 안내 또는 척수내를 포함하는 임의의 경로를 통해 대상체에게 투여된다.

[0474] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 투약량은 단일 용량 또는 반복 용량이다. 일부 실시형태에서, 용량은 대상체에게 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회 또는 1일 4회 이상 주어진다. 일부 실시형태에서, 약 1회 이상(예컨대 약 2회 이상, 약 3회 이상, 약 4회 이상, 약 5회 이상, 약 6회 이상 또는 약 7회 이상)의 용량이 1주에 주어진다. 일부 실시형태에서, 다회 용량은 며칠, 몇 주, 몇 개월 또는 몇 년의 과정에 걸쳐 주어진다. 일부 실시형태에서, 치료 과정은 약 1회 이상의 용량(예컨대 약 2회 이상의 용량, 약 3회 이상의 용량, 약 4회 이상의 용량, 약 5회 이상의 용량, 약 7회 이상의 용량, 약 10회 이상의 용량, 약 15회 이상의 용량, 약 25회 이상

의 용량, 약 40회 이상의 용량, 약 50회 이상의 용량 또는 약 100회 이상의 용량)이다.

[0475] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물의 투여되는 용량은 약 1㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중(예컨대 약 2㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 5㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 10㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 25㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 50㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 100㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 250㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 500㎍ 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 1mg 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 약 2mg 이상의 단백질/kg 대상체 체중, 또는 약 5mg 이상의 단백질/kg 대상체 체중)이다.

[0476] 일부 실시형태에서, 치료적 양의 세포 조성물이 투여된다. 전형적으로, 투여될 본 발명의 조성물의 정확한 양은 환자(대상체)의 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이 정도의 개개 차이를 고려하여 의사에 의해 결정될 수 있다. 이는 일반적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 조작된 세포, 예를 들어, T 세포를 포함하는 약제학적 조성물이 10^4 내지 10^9개의 세포/kg 체중, 예컨대 10^5 내지 10^6개의 세포/kg 체중(범위 내의 모든 정수를 포함)의 투약량으로 투여될 수 있다는 것이 언급될 수 있다. 조작된 세포 조성물, 예컨대 T 세포 조성물은 또한 이들 투약량에서 다회로 투여될 수 있다. 세포는 면역요법에서 통상적으로 공지된 주입 기법을 이용함으로써 투여될 수 있다(예를 들어, 문헌[Rosenberg et al, New Eng. J. of Med. 319: 1676, 1988] 참조). 특정 환자를 위한 최적의 투약량 및 치료 요법은 질환 징후에 대해 환자를 모니터링하고 그에 따라 치료를 조절함으로써 의학 분야의 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0477] 본 발명의 치료 조성물의 투여가 원치않는 면역 반응을 매개하거나 매개할 수 있는 면역 세포를 제거하거나, 격리시키거나 비활성화시킴으로써; 보호 면역 반응을 매개하거나 매개할 수 있는 면역 세포를 유도하거나, 생성하거나 조절함으로써; 면역 세포의 물리적 또는 기능적 특성을 변화시킴으로써; 또는 이들 효과의 조합에 의해 면역학적 활성을 충분히 조절하는지를 결정하기 위한 다양한 방법이 공지되어 있다. 면역학적 활성의 조절 측정의 예는 면역 세포 집단의 존재 또는 부재의 시험(유세포분석, 면역조직화학, 조직학, 전자 현미경, 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용); 신호에 반응하여 증식하거나 분화되는 능력 또는 내성을 포함하는 면역 세포의 기능적 능력 측정(예컨대 T-세포 증식 분석 및 펩타이드 또는 단백질 항원과 함께 부하된 항-CD3 항체, 항-T-세포 수용체 항체, 항-CD28 항체, 칼슘운반체, PMA(포볼 12-미리스테이트 13-아세테이트) 항원 제시 세포에 의한 자극 후 3H-티미딘 혼입에 기반한 펩스칸 분석; B 세포 증식 분석을 이용); 다른 세포를 사멸시키거나 용해시키는 능력의 측정(예컨대 세포독성 T 세포 분석); 사이토카인, 케모카인, 세포 표면 분자, 항체 및 세포의 다른 생성물의 측정(예를 들어, 유세포분석, 효소결합 면역흡착 분석, 웨스턴 블롯 분석, 단백질 마이크로어레이 분석, 면역침전 분석에 의함); 면역 세포 내에서 면역 세포 또는 신호 전달 경로 활성화의 생화학적 마커의 측정(예를 들어, 타이로신, 세린 또는 트레오닌 인산화, 폴리펩타이드 절단 및 단백질 복합체의 형성 또는 해리의 웨스턴 블롯 및 면역침전 분석; 단백질 어레이 분석; DNA 어레이 또는 차감 혼성화를 이용하는 DNA 전사 프로파일링); 세포자멸사, 괴사, 또는 다른 메커니즘에 의한 세포사의 측정(예를 들어, 아넥신 V 염색, TUNEL 분석, DNA 래더링(laddering)을 측정하는 겔 전기영동법, 조직학; 형광 카스파제 분석, 카스파제 기질의 웨스턴 블롯 분석); 유전자, 단백질 및 면역 세포에 의해 생성된 다른 분자의 측정(예를 들어, 노던 블롯 분석, 중합효소 연쇄 반응, DNA 마이크로어레이, 단백질 마이크로어레이, 2-차원 겔 전기영동, 웨스턴 블롯 분석, 효소 결합 면역흡착 분석, 유세포측정); 및, 예를 들어, 다발성 경화증의 경우에 재발률 또는 질환 중증도를 측정하고(당업자에게 공지된 임상 스코어를 이용) I형 당뇨병의 경우에 혈당 및 류마티스 관절염의 경우에 관절 염증을 측정함으로써, 자가면역, 신경퇴행 및 자기-단백질 또는 자기-폴리펩타이드를 수반하는 다른 질환의 개선과 같은 임상 증상 또는 결과(임상 스코어, 영상화 연구의 사용에 대한 필요, 추가적인 요법, 기능적 상태)의 측정을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0478] **VI. 제조 물품 및 키트**

[0479] 또한 적합한 패키징으로 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 포함하는, 제조 물품이 본 명세서에 기재된다. 본 명세서에 기재된 조성물에 대한 적합한 패키징은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 바이알(예컨대 밀봉 바이알), 베셀(vessel), 앰플, 보틀, 단지(jar), 가요성 패키징(예를 들어, 밀봉된 마일러(Mylar) 또는 플라스틱 백) 등을 포함한다. 이들 제조 물품은 추가로 멸균 및/또는 밀봉될 수 있다.

[0480] 추가로 본 명세서에 기재된 조성물을 이용하는 방법, 예컨대 용도에 대해 설명서(들)를 추가로 포함할 수 있는 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 포함하는 키트가 제공된다. 본 명세서에 기재된 키트는 또한 다른 완충제, 희석제, 충전제, 바늘, 주사기 및 본 명세서에 기재된 임의의 방법을 수행하기 위한 설명서와 함께 포장 삽입물을 포함하는, 상업적 및 사용자 견지로부터 바람직한 다른 물질을 포함할 수 있다.

[0481] **VII. 치료 적용**

[0482] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물(본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 접합체 및 조작된 세포를 포함하는 약제학적 조성물을 포함)은 다양한 치료적 적용, 예컨대 질환의 치료에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서 약제학적 조성물은 포유류에서 염증 또는 자가면역 장애, 기관 이식, 암, 바이러스 감염 및/또는 박테리아 감염을 치료하기 위해 사용된다. 약제학적 조성물은 질환을 치료하기 위해 면역 반응을 조절할 수 있다.

[0483] 이러한 방법 및 용도는 종양 또는 암과 같은 질환, 병태 또는 장애를 갖는 대상체에게 분자 또는 조작된 세포, 또는 이를 함유하는 조성물의 투여를 수반하는 치료적 방법 및 용도를 포함한다. 일부 실시형태에서, 분자 또는 조작된 세포는 질환 또는 장애의 치료를 달성하기 위한 유효량으로 투여된다. 용도는 이러한 방법 및 치료에서, 그리고 이러한 치료 방법을 수행하기 위한 의약의 제조에서 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 접합체, 조작된 세포 및 감염제를 함유하는 분자의 사용을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 질환 또는 병태를 갖거나 갖는 것으로 의심되는 대상체에게 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 접합체, 조작된 세포, 및 감염제, 또는 이들을 포함하는 조성물을 투여함으로써 수행된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 이에 의해 대상체에서의 질환 또는 병태 또는 장애를 치료한다.

[0484] 일부 실시형태에서, 제공된 방법은 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 접합체, 조작된 세포 및 감염제의 치료적 투여에 적용 가능하다. 면역 반응의 조절 유형, 예를 들어 목적하는 감소 또는 증가에 따라 적응증에 대한 형식을 선택하는 것은 제공된 개시내용을 고려하여 당업자의 수준 내에 있다.

[0485] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 자가면역질환, 염증, 이식 거부 또는 기관 이식 거부의 치료, 예방 또는 약화에서 유용할 수 있는, 면역 반응을 저해하거나 또는 약화시키는 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물이 투여된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 공자극 리간드, ICOSL, CD80 및/또는 CD86와의 상호작용을 차단하고/하거나 CD28 및/또는 ICOS를 통해 신호전달을 저해함으로써, 공자극 수용체의 길항 활성을 나타내는 형식으로 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유한다. 이러한 치료적 적용과 관련하여 사용하기 위한 CTLA-4 폴리펩타이드의 예시적인 형식은, 예를 들어, 가용성인 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드(예를 들어, 변이체 CTLA-4 -Fc 융합 단백질), 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 다른 IgSF 도메인(Fc 융합인 이의 가용성 성태를 포함)의 면역조절 단백질 또는 "적층", 이의 특정 접합체, 트랜스엔도시토시스를 매개할 수 있는 변이체 CTLA-4를 발현시키는 조작된 세포, 분비 가능한 면역조절 단백질을 발현시키는 조작된 세포, 또는 예컨대, 감염된 세포에서 분비 가능한 면역조절 단백질(예를 들어, T 세포)의 발현 및 분비를 위해, 분비 가능한 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 감염제를 포함한다.

[0486] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 면역 반응을 억제하고, 예를 들어, 염증, 이식편 거부, 기관 이식 거부를 저해하거나, 또는 자가면역 질환 또는 장애를 약화시키거나 치료하기 위해 사용될 수 있다. 염증 또는 자가면역 질환 또는 장애를 치료하는 방법은 염증 또는 자가면역 질환을 갖는 대상체에게 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 중 어느 것을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 유효량의 약제학적 조성물은 예컨대 제공된 변이체 또는 면역조절 단백질에 의해 면역학적 활성의 조절에 민감한 자가면역 질환 또는 장애를 포함하는 자가면역 질환 또는 장애를 저해하거나, 중단시키거나 반전시키기 위해 투여될 수 있다. 인간 면역 세포는 생체내 또는 생체외에서 치료될 수 있다. 인간 환자의 생체외 치료에서, 면역 세포를 함유하는 조직 또는 유체는 신체 밖에서 치료되고, 이어서, 조직 또는 유체는 환자에게 다시 재도입된다. 일부 실시형태에서, 염증 또는 자가면역 질환 또는 장애는 환자 내로 치료적 조성물의 투여에 의해 인간 환자 생체내에서 치료된다. 따라서, 본 발명은 염증 또는 자가면역 질환 또는 장애의 진행을 저해하거나, 중단시키거나, 반전시키는 생체외 및 생체내 방법을 제공하거나 또 다르게는 대조군에 의한 치료에 비해 면역활성의 통계학적으로 유의한 감소를 초래한다.

[0487] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 치료에 의해 치료될 수 있는 염증 및 자가면역 장애는 애디슨병, 알레르기, 원형 탈모증, 알츠하이머, 항호중구 세포질 항체(ANCA)-연관 혈관염, 강직성 척추염, 항인지질항체 증후군(휴즈 증후군), 천식, 죽상동맥경화증, 류마티스 관절염, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이질환, 자가면역 림프세포증식 증후군, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 무정자증, 베체트병, 버거스병, 수포성 유사천포창, 심장근육병증, 심혈관계 질환, 셀리악 스프루/실릭악병, 만성 피로 면역기능장애 증후군(CFIDS), 만성 특발성 다발성 신경염, 만성 염증성 탈수초성, 다발성 신경병증(CIDP), 만성 재발성 다발성신경병증(길랑-바레 증후군), 척-스트라우스 증후군(CSS), 흉터유사천포창, 한랭응집소증(CAD), COPD(만성 폐쇄성 폐질환), CREST 증후군, 크론병, 피부염, 포진성 농가진, 피부근육염, 당뇨병, 원판상 루푸스, 습진, 후천성 표피 수포증, 진성 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 안구돌출, 섬유근육통, 굿파스처

증후군, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐 섬유증, 특발성 혈소판감소증 자반병(ITP), IgA 신장병증, 면역증식성 질환 또는 장애, 염증성 장질환(IBD), 간질성 폐 질환, 청소년 관절염, 청소년특발성 관절염(JIA), 카와사키병, 람베르트-이튼 근무력 증후군, 편평태선, 낭창성 신염, 림프구성 뇌하수체염, 메니에르병, 밀러피셔 증후군/급성 파종성 뇌척수신경근병, 혼합 결합 조직병, 다발성 경화증(MS), 근육류머티즘, 근육통성 뇌척수염 (ME), 중증근무력증, 안구 염증, 낙엽상 천포창, 심상성 천포창, 악성빈혈, 결절성 다발동맥염, 다발연골염, 단선성 증후군(휘터커 증후군), 류마티스성 다발근통, 다발근염, 원발성 무감마글로불린혈증, 원발성 담즙성 경변증/자가면역 담관병증, 건선, 건선성 관절염, 레이노 증후군, 라이터 증후군/반응성 관절염, 재협착증, 류마티스열, 류마티스성질환, 사르코이드증, 슈미츠 증후군, 피부경화증, 쇼그렌 증후군, 강직인간 증후군, 전신성 홍반성 낭창(SLE), 전신성 피부경화증, 타카야수 혈관염, 측두동맥염/거대세포성 동맥염, 갑상선염, 1형 당뇨병, 궤양성 대장염, 포도막염, 혈관염, 백반증, 간질성 장 질환 또는 베게너 육아종증을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 염증 또는 자가면역 장애는 간질성 장 질환, 이식, 크론병, 궤양성 대장염, 다발성 경화증, 천식, 류마티스 관절염 및 건선으로부터 선택된다.

[0488] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 자가면역질환을 조절하기 위해 투여된다. 예를 들어, 면역 반응을 억제하는 것은 공여자로부터의 조직, 세포 또는 기관 이식의 수용자에 의한 거부를 저해하는 방법에서 유익할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 이식편-관련 또는 이식 관련 질환 또는 장애, 예컨대 이식편대숙주 질환(GVHD)을 제한하거나 방지하기 위해 사용된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 이식된 또는 이식편의 골수, 기관, 피부, 근육, 뉴런, 섬 또는 조직실질 세포의 자가면역 거부를 억제하는 데 사용된다.

[0489] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 단일요법으로서(즉, 단일제제로서) 또는 병용요법으로서(즉, 1종 이상의 추가적인 면역억제제와 병용하여) 투여된다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 글루코코티코이드(예를 들어, 프레드니손, 덱사메타손 및 하이드로코티손), 세포정지제, 예컨대 T 세포 및/또는 B 세포의 증식에 영향을 미치는 세포정지제(예를 들어, 퓨린 유사체, 알킬화제, 또는 항대사물질), 항체(예를 들어, 항-CD20, 항-CD25 또는 항-CD3 단클론성 항체), 사이클로스포린, 타클로리무스, 시롤리무스, 에베롤리무스, 인터페론, 오피오이드, TNF 결합 단백질, 마이코페놀레이트, 작은 생물학적 제제, 예컨대 핀골리모드 또는 미리오신, 사이토카인, 예컨대 인터페론 베타-1a, 인테그린 작용제 또는 인테그린 길항제이다.

[0490] 일부 실시형태에서, 예를 들어, 암, 바이러스 감염 또는 박테리아 감염의 치료에서 유용할 수 있는 면역 반응을 자극하는 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물이 투여된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 T 세포에서 활성화 신호를 촉진시키고/시키거나 강화시키는 활성을 나타내는 형식으로 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 함유한다. 이러한 치료적 적용과 관련하여 사용하기 위한 예시적인 형식은, 예를 들어, a.CTLA-4 스위치 수용체를 발현시키는 조작된 세포를 포함하며, 이때 변이체 CTLA4는 ITAM-함유 세포질 도메인을 갖는 조작된 T 세포 상에서 발현되며, 이는 저해 수용체를 활성화 수용체로 바꾼다. 이러한 치료적 적용과 관련하여 사용하기 위한 다른 형식은, 예를 들어, 세포질 신호전달 도메인을 결여하고/하거나 T 세포에서 신호전달, 예컨대 ITIM-매개 신호전달을 매개할 수 없는, 데코이 수용체로서 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시키는 조작된 세포를 포함한다.

[0491] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물, 예컨대 면역 반응을 자극하는 것은 포유류 암 세포(예컨대 인간 암 세포)의 성장을 저해하기 위해 사용될 수 있다. 암을 치료하는 방법은 암을 갖는 대상체에게 유효량의 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 중 어느 것을 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 유효량의 약제학적 조성물은, 예컨대 제공된 변이체 또는 면역조절 단백질에 의해 암의 진행을 저해하거나, 중단시키거나, 반전시키기 위해 투여될 수 있다. 인간 암 세포는 생체내 또는 생체외에서 치료될 수 있다. 인간 환자의 생체외 치료에서, 암 세포를 함유하는 조직 또는 유체는 신체 밖에서 치료되고, 이어서, 조직 또는 유체는 환자에게 다시 재도입된다. 일부 실시형태에서, 암은 환자 내로 치료적 조성물의 투여에 의해 인간 환자 생체내에서 치료된다. 따라서, 본 발명은 종양의 진행을 저해하거나, 중단시키거나, 반전시키는 생체외 및 생체내 방법을 제공하거나 또 다르게는 무진행 생존, 또는 대조군에 의한 치료에 비해 전반적인 생존("생존율"로도 불림; 즉, 이들이 암으로 진단되거나 치료된 후에 특정 시간 기간 동안 살아있는 연구 또는 처리군 내 사람의 백분율)의 통계적으로 유의한 증가를 초래한다.

[0492] 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 치료 방법에 의해 치료될 수 있는 암은 흑색종, 방광암, 혈액학적 악성종양(백혈병, 림프종, 골수종), 간암, 뇌암, 신세포암, 유방암, 췌장암(선암종), 결장직장암, 폐암(소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 비장암, 흉선 또는 혈액세포의 암(즉, 백혈병), 전립선암, 고환암, 난소암, 자궁암, 위암종, 근골격암, 두경부암, 위장암, 생식세포암, 또는 내분비 및 신경내분비암을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 유잉 육종이다. 일부 실시형태에서, 암은 흑색종, 폐암, 방광암 및 혈액학

적 악성종양으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암은 림프종, 림프 모양 백혈병, 골수성 백혈병, 자궁경부암, 신경모세포종, 또는 다발성 골수종이다.

[0493] 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 단일요법으로서(즉, 단일제제로서) 또는 병용요법으로서(즉, 1종 이상의 추가적인 항암제, 예컨대 화학치료적 약물, 암 백신 또는 면역관문 저해제와 병용하여) 투여된다. 일부 실시형태에서, 약제학적 조성물은 또한 방사선 요법과 함께 투여될 수 있다. 본 개시내용의 일부 양상에서, 면역관문 저해제는 니볼루맙, 트레멜리무맙, 펨브롤리주맙, 이필리무맙 등과 함께 투여될 수 있다.

[0494] 본 명세서에 기재된 조작된 세포를 포함하는 약제학적 조성물 및 방법은 입양 세포 전달 적용에서 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 조작된 세포를 포함하는 세포 조성물은, 예를 들어, 포유류 암의 치료 또는, 다른 실시형태에서 자가면역 장애의 치료에 대한 면역요법 접근에서, 예를 들어, 면역학적 활성을 조절하기 위한 연관된 방법에서 사용될 수 있다. 사용되는 방법은 일반적으로 친화도 변형된 IgSF 도메인의 특이적 결합 및 포유류 세포의 면역학적 활성의 조절을 허용하는 조건 하에서 포유류 세포와 본 발명의 TIP를 접촉시키는 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역 세포(예컨대 T-세포(CD8+ 또는 CD4+ T-세포를 포함) 또는 APC)는 본 명세서에 기재된 막 단백질 및/또는 가용성 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 또는 접합체로서 발현하도록 조작된다. 이어서, 조작된 세포는 포유류 세포, 예컨대 APC, 제2 림프구 또는 종양 세포와 접촉될 수 있으며, 이때 면역학적 활성의 조절은 면역학적 활성이 포유류 세포에서 조절될 수 있도록 포유류 세포 상의 반대-구조에 대한 친화도 변형된 IgSF 도메인의 특이적 결합을 허용하는 조건 하에 요망된다. 세포는 생체내 또는 생체외에서 접촉될 수 있다.

[0495] 일부 실시형태에서, 조작된 세포는 자가 세포이다. 다른 실시형태에서, 세포는 동종이계. 일부 실시형태에서, 세포는 단리된 포유류 내로 재주입되는 자가 조작된 세포이다. 일부 실시형태에서, 세포는 포유류 내로 주입된 동종 조작된 세포이다. 일부 실시형태에서, 세포는 환자의 혈액 또는 종양으로부터 채취되고, 폴리펩타이드(예컨대 본 명세서에 기재된 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 면역조절 단백질, 또는 접합체)를 발현시키기 위해 조작되며, 시험관내 배양 시스템에서 (예를 들어, 세포를 자극함으로써) 확장되고, 종양 파괴를 매개하기 위해 환자에게 재주입된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 입양 세포 전달에 의해 수행되되, TIP(예를 들어, T-세포)를 발현시키는 세포는 환자에게 다시 주입된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 치료 조성물 및 방법은 포유류 환자의 암, 예컨대 림프종, 림프 모양 백혈병, 골수성 백혈병, 자궁경부 암, 신경모세포종, 또는 다발성 골수종의 치료에서 사용된다.

[0496] **VIII. 예시적인 실시형태**

[0497] 하기의 실시형태가 제공된다:

[0498] 1. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드로서,

[0499] IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하되,

[0500] 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하고, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 상기 비변형 CTLA-4에 비해 증가된 친화도로 ICOSL의 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0501] 2. 실시형태 1에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, I18, 119, 120, 121 및 122 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0502] 3. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드로서,

[0503] IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하되,

[0504] 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 6, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 64, 65, 67 69, 71, 72, 73, 75, 76, 82, 85, 86, 87, 89, 91, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 115, 116, 117, I18, 119, 120, 121 및 122 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편에서 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4

폴리펩타이드.

[0505] 4. 실시형태 1 내지 실시형태 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 또는 삽입을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0506] 5. 실시형태 1 내지 실시형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 포유류 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0507] 6. 실시형태 5에 있어서, 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 인간 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 이의 특이적 결합 단편인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0508] 7. 실시형태 1 내지 실시형태 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 인간 CTLA-4의 세포외 도메인을 포함하되, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 상기 세포외 도메인의 하나 이상의 잔기에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0509] 8. 실시형태 1 내지 실시형태 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드는 (i) 서열번호 2에 제시된 아미노산의 서열, (ii) 서열번호 2에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산의 서열; 또는 (iii) IgV 도메인 또는 상기 IgV 도메인의 특이적 결합 단편을 포함하는 상기 아미노산 서열들의 일부를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0510] 9. 실시형태 1 내지 실시형태 8 중 어느 하나에 있어서, 상기 비변형 CTLA-4는 서열번호 2에 제시된 아미노산의 서열을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0511] 10. 실시형태 1 내지 실시형태 8 중 어느 하나에 있어서,

[0512] 상기 IgV 도메인의 상기 특이적 결합 단편은 적어도 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110개 이상의 아미노산의 길이를 갖거나; 또는

[0513] 상기 IgV 도메인의 상기 특이적 결합 단편은 서열번호 1의 잔기 39 내지 140으로서 제시된 상기 IgV 도메인 길이의 적어도 80%인 길이를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0514] 11. 실시형태 1 내지 실시형태 10 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4는 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개의 아미노산 변형, 선택적으로 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0515] 12. 실시형태 1 내지 실시형태 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2 또는 이의 특이적 결합 단편에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0516] 13. 실시형태 3 내지 실시형태 12 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80 및/또는 CD86의 엑토도메인(들)에 대한 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0517] 14. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드로서,

[0518] 서열번호 2에 제시된 인간 CTLA-4의 세포외 도메인에서 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하되,

[0519] 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 서열번호 2에 제시된 상기 세포외 도메인을 포함하는 CTLA-4에 비해 증가된 친화도로 인간 ICOSL, CD80 및/또는 CD86의 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0520] 15. 실시형태 1 내지 실시형태 14 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 A6T, V10A, L12F, L12H, L12I, L12P, S14N, S15P, R16C, R16G, R16H, I18A, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, S20N, V22A, V22I, E24Q, A26D, A26S, A26T, S27P, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, R35K, T37S, V38I, Q41L, A42S, A42T, A42V, D43N, Q45H, V46E, T47A, E48R, T53S, Y54F, M55R, M55T, M55V, M56K, M56L, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59D, E59G, T61A, T61I, T61N, T61R, T61S, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, T69S, T71A, T71I, S72G, S72T, S73R, N75D, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, A86T, M87A, M87K, M87T, M87V, T89A, T89M, T89S, L91R, I93L, I93V, K95R, V96I, E97Q, L98Q, L98R, M99I, M99L, P102L, Y105F, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, N110K, N110S, N110Y, Q113H, Y115H, Y115N, V116A, I117E, I117L, I117M, I117T 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0521] 16. 실시형태 1 내지 실시형태 15 중 어느 하나에 있어서, A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, L12H/E33M/L98Q/Y105L, L12H/M55T/E59D/L63P/M99L, L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L, L12P/A26T, L12P/A26T/L63P, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I, L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L, S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L, S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L, R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L, I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S, I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K, I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L, I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H, V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M, E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L, A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/M87V/N110K/I117E, A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M, P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, E33M/A42T/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, T37S/M56V/L98Q/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F, T53S/M56V/L98Q/Y105L, M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, M55T/E97Q/M99L/Y105F, M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I, M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, M56T/L91R/L98Q/Y105L, M56V, M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L, L63P/S72G/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, L63P/K95R, L63P/L98Q,

L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M, L63P/L98Q/Y105L, L63P/L98Q/V116A, L63P/L98R/N110K, L63P/M99L/Y105L/I108F, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, L98Q/M99L/Y105L, L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T, L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N, L98Q/Y105L, L98R/N110K, T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P, N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T, R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T, L12H/E33M/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L/Y105L, E33V/L98Q/M99L, E33V/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L, M56T/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L 및 I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L 중에서 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0522] 17. 실시형태 1 내지 실시형태 16 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155 또는 570 내지 637 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 이의 특이적 결합 단편, 또는 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155 또는 570 내지 637 중 어느 것에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열 또는 이들의 특이적 결합 단편을 포함하고, 상기 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0523] 18. 실시형태 3 내지 실시형태 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0524] 19. 실시형태 1 내지 실시형태 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 19, 26, 28, 29, 33, 35, 38, 42, 45, 47, 53, 55, 56, 58, 61, 63, 64, 65, 67, 69, 72, 76, 82, 85, 87, 89, 93, 97, 98, 99, 105, 106, 108, 110, 113, 116, 117 또는 121 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0525] 20. 실시형태 1 내지 실시형태 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, L12I, L12P, R16H, I18F, I18N, I18T, I18V, A19V, A26T, P28L, G29W, E33M, E33V, R35K, V38I, A42V, Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56T, M56V, N58D, N58S, T61A, T61R, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93L, I93V, E97Q, L98Q, M99I, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, Q113H, V116A, I117L 및 P121S 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0526] 21. 실시형태 1 내지 실시형태 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, L12I, R16H, I18N, I18T, I18V, A19V, A26T, G29W, E33M, E33V, R35K, V38I, A42V, Q45H, T47A, T53S, M55T, M56K, M56V, N58D, N58S, T61A, T61R, L63H, L63P, D64E, D64N, D64V, D65G, I67N, I67T, I67V, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87T, M87V, T89A, T89S, I93L, I93V, E97Q, L98Q, M99I, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, N110K, Q113H, I117L, 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0527] 22. 실시형태 1 내지 실시형태 21 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, G29W/L98Q/M99L/Y105L, M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L, L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F, I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L, I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M87K/M99L/L106R,

L63P/M99L/Y105L/I108F, G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L, V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L이다. 일부 실시형태에서, 상기 아미노산 치환은 G29W/L98Q/M99L/Y105L, L63P/M99L/Y105L/I108F, I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L, T53S/L63P/L98Q, T53S/L63P/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L 또는 L12F/L98Q/Y105L인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0528] 23. 실시형태 1 내지 실시형태 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 12, 26, 63, 98 또는 105번 위치(들)에 대응하는 위치에서 하나 이상의 변형을 포함하고/하거나 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12P, L12F, A26T, L63P, L98Q 또는 Y105L로부터 선택되는 하나 이상의 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0529] 24. 실시형태 1 내지 실시형태 23 중 어느 하나에 있어서, L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L; A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L; I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L; L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F; I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L; I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L; L63P/M87K/M99L/L106R; L63P/M99L/Y105L/I108F; G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L; A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L; V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L; I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K; A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L; L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A; G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L; L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L; G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H; G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L; I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I; A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L; I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S; L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V; A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S;

G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L; 및 G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V 중에서 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0530] 25. 실시형태 3 내지 실시형태 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD80의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0531] 26. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 25 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 26, 29, 42, 45, 53, 56, 58, 63, 67, 72, 82, 87, 97, 98, 99, 105, 108 또는 121 중에서 선택되는 위치(들)에 대응하는 위치에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0532] 27. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 25 및 실시형태 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, M56T, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0533] 28. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 25 및 실시형태 26 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 V10A, L12F, R16H, I18T, A26D, A26T, G29W, A42V, Q45H, T53S, M56K, M56T, N58S, L63P, I67N, S72G, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V, 또는 P121S 중에서 선택된 위치(들)에 대응하는 위치에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0534] 29. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 25 내지 실시형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L; G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L; A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L; G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V 및 V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0535] 30. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 25 및 실시형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, E33V/M99L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L, T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, E33V/L98Q/M99L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L, L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L, L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L, G29W/M56T/L98Q/Y105L, L12F/G29W/L98Q/Y105L, L12F/L98Q/Y105L, R16H/L98Q/Y105L, G29W/L98Q/Y105L 또는 M56T/L98Q/Y105L 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0536] 31. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 25 및 실시형태 28 및 실시형태 30 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L, G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V, L98Q/M99L/Y105L, E33V/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L 및 E33V/L98Q/M99L 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0537] 32. 실시형태 1 내지 실시형태 29 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL 및 CD80의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0538] 33. 실시형태 1 내지 실시형태 32 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 V10A, L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, Q45H, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0539] 34. 실시형태 1 내지 실시형태 33 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T, A26T, G29W, E33V, Q45H, T53S, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, E97Q, L98Q, M99L, Y105L, I108V로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0540] 35. 실시형태 3 내지 실시형태 17 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD86의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0541] 36. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 35 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 10, 12, 16, 18, 20, 26, 28, 29, 30, 33, 42, 47, 53, 55, 56, 58, 59, 61, 63, 65, 67, 69,72, 76, 82, 85, 87, 89, 93, 96, 98, 99, 102, 105, 106, 108, 113, 115, 116, 117 또는 121 중에서 선택되는 위치(들)에 대응하는 위치에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0542] 37. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 35 및 실시형태 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 서열번호 2에 제시된 위치에 대해 V10A, L12F, L12H, L12P, R16H, I18T, I18V, S20N, A26S, A26T, P28L, G29R, G29W, K30R, E33M, E33V, A42S, A42T, T47A, T53S, M55T, M56K, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, E59G, T61I, T61N, T61R, T61S, L63P, D65G, I67N, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89M, T89S, I93V, V96I, L98Q, L98R, M99L, P102L, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, Q113H, Y115H, V116A, I117E, I117L, I117K, I117T, 및 P121S 중에서 선택되는 위치(들)에 대응하는 위치에 있는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0543] 38. 실시형태 3 내지 실시형태 17, 실시형태 35 및 실시형태 36 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, L12H, L12P, R16H, I18T, I18V, S20N, A26T, G29R, G29W, E33M, E33V, A42S, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, M56R, M56T, M56V, N58D, N58S, T61I, T61N, T61R, T61S, L63P, D65G, I67N, I67V, T69A, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89M, T89S, V96I, L98Q, L98R, M99L, P102L, Y105L, L106I, L106N, L106R, L106V, I108F, I108V, Q113H, Y115H, V116A, I117L, I117T 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0544] 39. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 35 내지 실시형태 38 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L; L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L; I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T; M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L; L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I; A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L; A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R; S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N; L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A; G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L; T53S/M56V/L98Q/Y105L; L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L; I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I; G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L; L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L; L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L; L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L; G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L; G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H; G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V; A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L; G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L; I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L; S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I; L63P/L98Q/M99L/Y105L; A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S; I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L; L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L; G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L; P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L; M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E; G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L; L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H; G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L; I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K; I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L; E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F; L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L

[0545] G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S; G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S; 및

V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0546] 40. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 35 내지 실시형태 38 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L, L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L, I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T, M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L, L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I, A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L, A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R, S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L, G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N, L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L, T53S/M56V/L98Q/Y105L, L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L, G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L, G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H, G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V, G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L, I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L, S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I, L63P/L98Q/M99L/Y105L, A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L, A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L, G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L, L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H, G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L, I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L, E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F, L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L, L98Q/M99L/Y105L, T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L, L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q, L12F/G29W/L98Q/Y105L 또는 L12F/L98Q/Y105L 중에서 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0547] 41. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 25 내지 실시형태 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 CD80 및 CD86의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0548] 42. 실시형태 3 내지 실시형태 17 및 실시형태 25 내지 실시형태 41 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, T53S, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, L98Q, M99L, Y105L, I108V로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0549] 43. 실시형태 1 내지 실시형태 24 및 실시형태 35 내지 실시형태 40 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL 및 CD86의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0550] 44. 실시형태 1 내지 실시형태 24 및 실시형태 35 내지 실시형태 40 및 실시형태 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, I18V, A26T, G29W, E33M, E33V, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, M56V, N58D, N58S, T61R, L63P, D65G, I67N, I67V, T69I, S72G, Q76R, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89S, L98Q, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V, Q113H, I117L 및 P121S, 또는 이들의 보존적 아미노산 치환으로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0551] 45. 실시형태 1 내지 실시형태 24 및 실시형태 35 내지 실시형태 40, 실시형태 43 및 실시형태 44 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, I18V, A26T, G29W, E33V, A42V, T47A, T53S, M55T, M56K, N58D, N58S, L63P, I67N, I67V, S72G, Q82H, Q82R, R85G, M87K, M87V, T89A, T89S, L98Q, M99L, Y105L, L106I, L106R, I108F, I108V 및 I117L로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0552] 46. 실시형태 1 내지 실시형태 43 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL, CD80 및 CD86의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0553] 47. 실시형태 1 내지 실시형태 46 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 L12F, R16H, I18T, A26T, G29W, E33V, A42V, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, I67N, Q82R, M87K, M87V, L98Q, M99L, Y105L 또는 I108V로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0554] 48. 실시형태 1 내지 실시형태 47 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 A26T, G29W, T53S, M56K, N58S, L63P, L98Q, M99L 또는 Y105L로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0555] 49. 실시형태 1 내지 실시형태 48 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 G29W, L63P, L98Q, M99L 또는 Y105L로부터 선택되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0556] 50. 실시형태 1 내지 실시형태 49 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 아미노산 변형은 G29W/L63P, G29W/L98Q, G29W/M99L, G29W/Y105L, L63P/L98Q, L63P/M99L, L63P/Y105L, L98Q/M99L, L98Q/Y105L 또는 M99L/Y105L로부터 선택되는 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0557] 51. 실시형태 1 내지 실시형태 50 중 어느 하나에 있어서, 상기 아미노산 변형은 G29W/L98Q/Y105L인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0558] 52. 실시형태 1 내지 실시형태 51 중 어느 하나에 있어서, 상기 아미노산 변형은 G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0559] 53. 실시형태 1 내지 실시형태 51 중 어느 하나에 있어서, 상기 아미노산 변형은 L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0560] 54. 실시형태 3 내지 실시형태 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 ICOSL의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 증가된 친화도로 동일한 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하고, CD80 또는 CD86의 엑토도메인에 대한 상기 비변형 CTLA-4의 결합에 비해 감소된 친화도로 CD80 또는 CD86의 나머지 중 하나 이상의 상기 엑토도메인에 특이적으로 결합하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0561] 55. 실시형태 1 및 실시형태 13 내지 실시형태 54 중 어느 하나에 있어서, 상기 하나 이상의 엑토도메인에 대한 결합 친화도의 증가는 독립적으로 1.2배 초과, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 100배 이상인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0562] 56. 실시형태 54에 있어서, 상기 하나 이상의 엑토도메인에 대한 결합 친화도의 감소는 독립적으로 1.2배 초과, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 100배 이상인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0563] 57. 실시형태 1 내지 실시형태 56 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 상기 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0564] 58. 실시형태 57에 있어서, 상기 IgV 도메인 또는 이의 특이적 결합 단편은 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 CTLA-4 일부만인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0565] 59. 실시형태 1 내지 실시형태 58 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 이들의 특이적 결합 단편, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 것에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열 또는 이들의 특이적 결합 단편을 포함하고, 서열번호 156 내지 285, 603 내지 635 또는 637 중 어느 것에 제시된 각각의 서열번호의 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0566] 60. 실시형태 1 내지 실시형태 57 또는 실시형태 59 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 636 중 어느 것에 제시된 세포외 도메인의 아미노산의 서열 또는 이들의 특이적 결합 단편, 또는 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 63 중 어느 것에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하고, 서열번호 4 내지 97, 99 내지 104, 106 내지 155, 569 내지 602 또는 636 중 어느 것에 제시된 각각의 서열번호의 아미노산 변형 중 하나 이상을 함유하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0567] 61. 실시형태 1 및 실시형태 13 내지 실시형태 59 중 어느 하나에 있어서, 상기 ICOSL은 인간 ICOSL인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0568] 62. 실시형태 13 내지 실시형태 59 중 어느 하나에 있어서, 상기 CD80은 인간 CD80, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0569] 63. 실시형태 13 내지 실시형태 59 중 어느 하나에 있어서, 상기 CD86은 인간 CD86인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0570] 64. 실시형태 1 내지 실시형태 63 중 어느 하나에 있어서, 가용성 단백질인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0571] 65. 실시형태 1 내지 실시형태 64 중 어느 하나에 있어서,

[0572] 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 상기 CTLA-4 막관통 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 결여하고; 그리고/또는

[0573] 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포 표면 상에서 발현될 수 없는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0574] 66. 실시형태 1 내지 실시형태 65 중 어느 하나에 있어서, 다량체화 도메인에 연결되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0575] 67. 실시형태 66에 있어서, 상기 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체인, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0576] 68. 실시형태 1 내지 실시형태 67 중 어느 하나에 있어서, 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체에 연결된, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0577] 69. 실시형태 67 또는 실시형태 68에 있어서,

[0578] 상기 Fc 도메인은 포유류, 선택적으로 인간이거나; 또는

[0579] 상기 변이체 Fc 도메인은 포유류, 선택적으로 인간인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0580] 70. 실시형태 67 내지 실시형태 69 중 어느 하나에 있어서, 상기 Fc 도메인 또는 이의 변이체는 서열번호 438 내지 442 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 438 내지 442 중 어느 것에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0581] 71. 실시형태 67 내지 실시형태 70 중 어느 하나에 있어서, 상기 Fc 도메인은 각각 EU 넘버링에 의한 E233P, L234A, L234V, L235A, L235E, G236del, G237A, S267K, N297G, V302C 및 K447del 중에서 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0582] 72. 실시형태 67 내지 실시형태 71 중 어느 하나에 있어서, 상기 Fc 도메인은 아미노산 변형 L234A/L235E/G237A를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0583] 73. 실시형태 67 내지 실시형태 72 중 어느 하나에 있어서, 상기 Fc 도메인은 EU 넘버링에 의한 아미노산 변형 C220S를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0584] 74. 실시형태 67 내지 실시형태 73 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 상기 다량체화 도메인 또는 Fc에 링커, 선택적으로 G4S 링커를 통해 간접적으로 연결되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0585] 75. 실시형태 67 내지 실시형태 74 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386 또는 388 내지 437 중 어느 것에 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386 또는 388 내지 437 중 어느 것에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산의 서열을 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0586] 76. 실시형태 1 내지 실시형태 63 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 막관통 도메인을 더 포함하는 막관통 면역조절 단백질을 더 포함하되, 선택적으로 상기 막관통 도메인은 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드의 상기 세포외 도메인(extracellular domain: ECD) 또는 이의 특이적 결합 단편에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0587] 77. 실시형태 76에 있어서, 상기 막관통 도메인은 서열번호 1의 잔기 162 내지 182로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 162 내지 182에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 상기 아미노산 서열의 기능성 변이체를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0588] 78. 실시형태 76 또는 실시형태 77에 있어서, 세포질 도메인을 더 포함하되, 선택적으로 상기 세포질 도메인은 상기 막관통 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0589] 79. 실시형태 78에 있어서, 상기 세포질 도메인은 천연 CTLA-4 세포질 도메인, 세포내 신호전달 도메인이거나 이들을 포함하고/하거나 ITIM 신호전달 모티프를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0590] 80. 실시형태 78 또는 제79항에 있어서, 상기 세포질 도메인은 서열번호 1의 잔기 183 내지 223으로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 183 내지 223에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 이들의 기능성 변이체를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0591] 81. 실시형태 78에 있어서, 상기 세포질 도메인은 ITAM 신호전달 모티프를 포함하고/하거나 CD3 제타의 세포내

신호전달 도메인이거나 이를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0592] 82. 실시형태 76 또는 실시형태 77에 있어서, 상기 폴리펩타이드는 세포질 신호전달 도메인을 포함하지 않고/않거나 세포 상에서 발현될 때 세포내 신호를 매개하거나 조절할 수 없는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0593] 83. 실시형태 1 내지 실시형태 82 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 시험관내 1차 T-세포 분석에서의 상기 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 비해 IFN-감마(인터페론-감마) 발현을 감소시키는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0594] 84. 실시형태 1 내지 실시형태 83 중 어느 하나에 있어서, 탈글리코실화된, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드.

[0595] 85. 면역조절 폴리펩타이드로서,

[0596] IgSF 구성원의 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인을 포함하는 제2 폴리펩타이드에 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 연결된 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4를 포함하는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0597] 86. 실시형태 85에 있어서, 상기 IgSF 도메인은 친화도-변형된 IgSF 도메인이고, 상기 친화도-변형된 IgSF 도메인은 상기 IgSF 패밀리 구성원의 상기 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 면역조절 단백질.

[0598] 87. 실시형태 86에 있어서, 상기 친화도-변형된 IgSF 도메인은 하나 이상의 동족 결합 상대(들)에 대한 상기 IgSF 패밀리 구성원의 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인의 결합에 비해 동일한 동족 결합 상대(들) 중 하나 이상에 대해 변경된 결합을 나타내는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0599] 88. 실시형태 87에 있어서, 상기 IgSF 도메인은 하나 이상의 동족 결합 상대(들)에 대한 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인의 결합에 비해 동일한 동족 결합 상대(들) 중 하나 이상에 대해 증가된 결합을 나타내는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0600] 89. 실시형태 85 내지 실시형태 88 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4는 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드이고, 상기 제2 폴리펩타이드의 상기 IgSF 도메인은 실시형태 1 내지 실시형태 75 중 어느 항의 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드로부터의 IgSF 도메인이되, 상기 제1 변이체 CTLA-4와 제2 변이체 CTLA-4는 동일하거나 상이한, 면역조절 폴리펩타이드.

[0601] 90. 실시형태 85 내지 실시형태 89 중 어느 하나에 있어서, 상기 IgSF 패밀리 구성원의 IgSF 도메인 또는 이의 친화도-변형된 IgSF 도메인을 포함하는 제3 폴리펩타이드를 더 포함하되, 상기 친화도-변형된 IgSF 도메인은 상기 IgSF 패밀리 구성원의 비변형 또는 야생형 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0602] 91. 실시형태 90에 있어서,

[0603] 상기 제3 폴리펩타이드는 상기 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드와 동일하거나; 또는

[0604] 상기 제3 폴리펩타이드는 상기 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드와 상이한, 면역조절 단백질.

[0605] 92. 실시형태 85 내지 실시형태 91 중 어느 하나에 있어서, 선택적으로 상기 제2 폴리펩타이드 또는 제3 폴리펩타이드의 상기 IgSF 도메인 또는 이의 친화도-변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인이거나 이를 포함하는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0606] 93. 실시형태 85 내지 실시형태 92 중 어느 하나에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드는 IgV 도메인이거나 이를 포함하는, 면역조절 폴리펩타이드.

[0607] 94. 실시형태 85 내지 실시형태 93 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역조절 단백질은 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 또는 상기 제2 폴리펩타이드 중 적어도 하나에 연결된 다량체화 도메인을 더 포함하는, 면역조절 단백질.

[0608] 95. 실시형태 90 내지 실시형태 93 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역조절 단백질은 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 상기 제2 폴리펩타이드 및/또는 상기 제3 폴리펩타이드 중 적어도 하나에 연결된 다량체화 도메인을 더 포함하는, 면역조절 단백질.

[0609] 96. 실시형태 94 또는 실시형태 95에 있어서, 상기 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또

는 이의 변이체인, 면역조절 단백질.

[0610] 97. 실시형태 94 내지 실시형태 96 중 어느 하나에 있어서, 상기 다량체화 도메인은 이형이량체 형성을 촉진시키는, 면역조절 단백질.

[0611] 98. 실시형태 94 내지 실시형태 97 중 어느 하나에 있어서, 상기 다량체화 도메인은 제1 다량체화 도메인이고 제2 다량체화 도메인과 상호작용하여 상기 면역조절 단백질을 포함하는 다량체를 형성하는, 면역조절 단백질.

[0612] 99. 실시형태 98에 있어서, 상기 면역조절 단백질은 제1 면역조절 단백질이고, 제2 면역조절 단백질은 상기 제2 다량체화 도메인에 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 연결되되, 상기 다량체는 상기 제1 면역조절 단백질 및 제2 면역조절 단백질을 포함하는, 면역조절 단백질.

[0613] 100. 실시형태 99에 있어서, 상기 제2 면역조절 단백질은 실시형태 94 내지 실시형태 97 중 어느 하나의 면역조절 단백질이고, 상기 다량체화 도메인은 상기 제2 다량체화 도메인인, 면역조절 단백질.

[0614] 101. 면역조절 단백질로서,

[0615] 다량체화 도메인이 제1 다량체화 도메인인 실시형태 66 내지 실시형태 75 중 어느 하나의 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 다량체화 도메인이 제2 다량체화 도메인인 실시형태 66 내지 실시형태 75 중 어느 하나의 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함하되, 상기 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 상호작용하여 상기 제1 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 및 제2 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 포함하는 다량체를 형성하는, 면역조절 단백질.

[0616] 102. 실시형태 98 내지 실시형태 101 중 어느 하나에 있어서, 상기 다량체는 이량체인, 면역조절 단백질.

[0617] 103. 실시형태 98 내지 실시형태 102 중 어느 하나에 있어서, 동형이량체인, 면역조절 단백질.

[0618] 104. 실시형태 98 내지 실시형태 103 중 어느 하나에 있어서, 이형이량체인, 면역조절 단백질.

[0619] 105. 실시형태 98 내지 실시형태 104 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인 및/또는 제2 다량체화 도메인은 감소된 효과기 기능을 갖는 Fc 도메인 또는 이의 변이체인, 면역조절 단백질.

[0620] 106. 실시형태 98 내지 실시형태 105 중 어느 하나에 있어서, 상기 제1 다량체화 도메인과 제2 다량체화 도메인은 동일하거나 상이한, 면역조절 단백질.

[0621] 107. 모이어티에 연결된 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 또는 실시형태 6085 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 포함하는, 접합체.

[0622] 108. 실시형태 107에 있어서, 상기 모이어티는 세포 표면 상에서 분자에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티인, 접합체.

[0623] 109. 실시형태 108에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 면역 세포의 표면 상에서 분자에 특이적으로 결합하는, 접합체.

[0624] 110. 실시형태 109에 있어서, 상기 면역 세포는 항원 제시 세포 또는 림프구인, 접합체.

[0625] 111. 실시형태 108 내지 실시형태 110 중 어느 하나에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 염증 환경 내 세포 또는 조직에 대해 국소화하는, 접합체.

[0626] 112. 실시형태 107 내지 실시형태 111 중 어느 하나에 있어서, 상기 모이어티는 단백질, 펩타이드, 핵산, 소분자 또는 나노입자인, 접합체.

[0627] 113. 실시형태 107 내지 실시형태 112 중 어느 하나에 있어서, 상기 모이어티는 항체 또는 항원-결합 단편인, 접합체.

[0628] 114. 실시형태 107 내지 실시형태 113 중 어느 하나에 있어서, 상기 접합체는 2가, 4가, 6가 또는 8가인, 접합체.

[0629] 115. 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 암호화하는, 핵산 분자(들).

[0630] 116. 실시형태 115에 있어서, 합성 핵산인, 핵산 분자.

[0631] 117. 실시형태 115 또는 실시형태 116에 있어서, cDNA인, 핵산 분자.

[0632] 118. 실시형태 115 내지 실시형태 117 중 어느 하나의 핵산 분자를 포함하는, 벡터.

[0633] 119. 실시형태 118에 있어서, 발현 벡터인, 벡터.

[0634] 120. 실시형태 118 또는 실시형태 119에 있어서, 상기 벡터는 포유류 발현 벡터 또는 바이러스 벡터인, 벡터.

[0635] 121. 실시형태 118 내지 실시형태 120 중 어느 하나의 벡터를 포함하는, 세포.

[0636] 122. 실시형태 121에 있어서, 포유류 세포인, 세포.

[0637] 123. 실시형태 121 또는 실시형태 122에 있어서, 인간 세포인, 세포.

[0638] 124. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 생성 방법으로서,

[0639] 세포에서 상기 단백질을 발현시키기 위한 조건 하에 실시형태 115 내지 실시형태 117 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 실시형태 118 내지 실시형태 120 중 어느 하나의 벡터를 숙주 세포 내로 도입하는 단계를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 생성 방법.

[0640] 125. 실시형태 124에 있어서, 상기 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질을 상기 세포로부터 단리 또는 정제시키는 단계를 더 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 면역조절 단백질의 생성 방법.

[0641] 126. 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시키는 세포의 조작 방법으로서,

[0642] 상기 폴리펩타이드가 상기 세포에서 발현되는 조건 하에 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 숙주 세포에 도입하는 단계를 포함하는, 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드를 발현시키는 세포의 조작 방법.

[0643] 127. 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질, 실시형태 115 내지 실시형태 117 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 실시형태 118 내지 실시형태 120 중 어느 하나의 벡터를 발현시키는, 조작된 세포.

[0644] 128. 실시형태 127에 있어서, 상기 세포는 면역 세포인, 조작된 세포.

[0645] 129. 실시형태 128에 있어서, 상기 면역 세포는 림프구인, 조작된 세포.

[0646] 130. 실시형태 129에 있어서, 상기 림프구는 T 세포인, 조작된 세포.

[0647] 131. 실시형태 130에 있어서, 상기 T 세포는 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포인, 조작된 세포.

[0648] 132. 실시형태 130 또는 실시형태 131에 있어서, 상기 T 세포는 조절 T 세포(Treg)인, 조작된 세포.

[0649] 133. 실시형태 127 내지 실시형태 132 중 어느 하나에 있어서, 1차 세포인, 조작된 세포.

[0650] 134. 실시형태 127 내지 실시형태 133 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포는 포유류 세포인, 조작된 세포.

[0651] 135. 실시형태 127 내지 실시형태 134 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포는 인간 세포인, 조작된 세포.

[0652] 136. 실시형태 127 내지 실시형태 135 중 어느 하나에 있어서, 상기 CTLA-4 폴리펩타이드는 막관통 도메인을 통해 상기 세포의 상기 표면 상에서 발현되는, 조작된 세포.

[0653] 137. 실시형태 136에 있어서, 상기 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 도메인을 포함하되, 선택적으로 상기 세포질 도메인은 상기 막관통 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 연결되는, 조작된 세포.

[0654] 138. 실시형태 137에 있어서, 상기 세포질 도메인은 천연 CTLA-4 세포질 도메인, 세포내 신호전달 도메인이거나 이들을 포함하고/하거나 ITIM 신호전달 모티프를 포함하는, 조작된 세포.

[0655] 139. 실시형태 136 내지 실시형태 138 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포질 도메인은 서열번호 1의 잔기 183 내지 223로서 제시된 아미노산의 서열 또는 서열번호 1의 잔기 183 내지 223에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 상기 아미노산 서열의 기능성 변이체를 포함하는, 조작된 세포.

[0656] 140. 실시형태 136 또는 실시형태 137 중 어느 하나에 있어서, 상기 세포질 도메인은 ITAM 신호전달 모티프을 포함하고/하거나 CD3 제타의 세포내 신호전달 도메인이거나 이를 포함하는, 조작된 세포.

[0657] 141. 실시형태 136에 있어서, 상기 CTLA-4 폴리펩타이드는 세포질 신호전달 도메인을 포함하지 않고/않거나 세

포 상에서 발현될 때 세포내 신호를 매개하거나 조절할 수 없는, 조작된 세포.

[0658] 142. 실시형태 127 내지 실시형태 141 중 어느 하나에 있어서, 키메라 항원 수용체(chimeric antigen receptor: CAR)를 더 포함하는, 조작된 세포.

[0659] 143. 실시형태 127 내지 실시형태 141 중 어느 하나에 있어서, 조작된 T-세포 수용체(T-cell receptor: TCR)를 더 포함하는, 조작된 세포.

[0660] 144. 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드 또는 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 암호화하는 핵산 분자를 포함하는, 감염제.

[0661] 145. 실시형태 128에 있어서, 상기 감염제는 박테리아 또는 바이러스인, 감염제.

[0662] 146. 실시형태 1 내지 실시형태 84 중 어느 하나의 변이체 CTLA-4 폴리펩타이드, 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질, 실시형태 107 내지 실시형태 114 중 어느 하나의 접합체, 실시형태 127 내지 실시형태 143 중 어느 하나의 조작된 세포 또는 실시형태 144 또는 실시형태 145의 감염제를 포함하는, 약제학적 조성물.

[0663] 147. 실시형태 146에 있어서, 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는, 약제학적 조성물.

[0664] 148. 실시형태 146 또는 실시형태 147에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 멸균인, 약제학적 조성물.

[0665] 149. 바이알 또는 용기에 실시형태 146 내지 실시형태 148 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 포함하는, 제조 물품.

[0666] 150. 실시형태 149에 있어서, 상기 바이알 또는 용기는 밀봉된, 제조 물품.

[0667] 151. 실시형태 146 내지 실시형태 148 중 어느 하나의 약제학적 조성물 및 사용을 위한 설명서를 포함하는, 키트.

[0668] 152. 실시형태 149 또는 실시형태 150의 제조 물품, 및 사용을 위한 설명서를 포함하는, 키트.

[0669] 153. 대상체에서의 면역 반응의 조절 방법으로서,

[0670] 실시형태 146 내지 실시형태 148 중 어느 하나의 약제학적 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 면역 반응의 조절 방법.

[0671] 154. 대상체에서의 면역 반응의 조절 방법으로서,

[0672] 실시형태 127 내지 실시형태 143 중 어느 하나의 조작된 세포를 투여하는 단계를 포함하는, 면역 반응의 조절 방법.

[0673] 155. 실시형태 154에 있어서, 상기 조작된 세포는 상기 대상체에 대해 자가인, 면역 반응의 조절 방법.

[0674] 156. 실시형태 154에 있어서, 상기 조작된 세포는 상기 대상체에 대해 동종인, 면역 반응의 조절 방법.

[0675] 157. 실시형태 153 내지 실시형태 156 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 반응을 조절하는 것은 상기 대상체에서의 질환 또는 병태를 치료하는, 면역 반응의 조절 방법.

[0676] 158. 실시형태 153 내지 실시형태 157 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 반응은 감소되는, 면역 반응의 조절 방법.

[0677] 159. 실시형태 153 내지 실시형태 158 중 어느 하나에 있어서, 실시형태 1 내지 실시형태 81 중 어느 하나의 변이체 폴리펩타이드, 실시형태 85 내지 실시형태 106 중 어느 하나의 면역조절 단백질 또는 실시형태 127 내지 실시형태 139, 실시형태 142 및 실시형태 143 중 어느 하나의 조작된 세포가 상기 대상체에게 투여되는, 면역 반응의 조절 방법.

[0678] 160. 실시형태 153 내지 실시형태 159 중 어느 하나에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 염증 또는 자가면역 질환 또는 병태이거나, 또는 과민성 면역 반응과 연관된 질환 또는 병태인, 면역 반응의 조절 방법.

[0679] 161. 실시형태 153 내지 실시형태 160 중 어느 하나에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 항호중구 세포질 항체(ANCA)-연관 혈관염, 혈관염, 자가면역 피부질환, 이식, 류마티스 질환, 갑상선염, 염증성 위장 질환, 염증성 안질환, 염증성 신경학적 질환, 염증성 폐질환, 염증성 내분비 질환, 자가면역 혈액 질환, 자가면역 탈수초 질

환, 또는 전신 자가면역 장애를 수반하는 자가면역 질환인, 면역 반응의 조절 방법.

[0680] 162. 실시형태 153 내지 실시형태 161 중 어느 하나에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 염증성 장질환, 이식, 크론병, 궤양성 대장염, 천식, 자가면역 천식, 류마티스 관절염, 건선, 홍반성 낭창, 셀리악병, I형 진성당뇨병, 길랑-바레 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발성 신경병증, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 디큐베인(DeQuervains) 갑상선염, 중증근무력증, 혈관염, 자가면역 용혈성 빈혈, 악성빈혈의 자가면역 위축성 위염, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 고환염, 굿페스처병, 자가면역 혈소판감소증, 교감성안염, 원발성 담즙성 경변증, 만성 공격성 간염, 막 사구체병증, 원발성 특발성 점액수종, 피부경화증, 만성간염, 애디슨병, 성선기능저하증, 악성빈혈, 백반증, 원형 탈모증, 자가면역 소장병증, 특발성 혈소판 자반병, 후천성 비장 위축증, 특발성 요붕증, 항정자 항체에 기인하는 불임, 감음 신경성 청력 손실, 쇼그렌 증후군, 다발근염, 다발성 경화증, 횡단성 척수염, 운동실조 경화증, 천포창, 진행성 전신성 강피증, 피부근육염, 결절성 다발동맥염, 용혈성 빈혈, 사구체신염, 및 특발성 안면신경마비 중에서 선택되는, 면역 반응의 조절 방법.

[0681] 163. 실시형태 153 내지 실시형태 157 중 어느 하나에 있어서, 상기 면역 반응은 증가된, 면역 반응의 조절 방법.

[0682] 164. 실시형태 137 내지 실시형태 141 및 실시형태 147 중 어느 하나에 있어서, 실시형태 124 또는 실시형태 125의 조작된 세포가 상기 대상체에게 투여되는, 면역 반응의 조절 방법.

[0683] 165. 실시형태 137 내지 실시형태 141, 실시형태 147 및 실시형태 148 중 어느 하나에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 종양 또는 암인, 면역 반응의 조절 방법.

[0684] 166. 실시형태 137 내지 실시형태 141 및 실시형태 147 내지 실시형태 149 중 어느 하나에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 흑색종, 폐암, 방광암, 혈액학적 악성종양, 간암, 뇌암, 신세포암, 유방암, 췌장암, 결장직장암, 비장암, 전립선암, 고환암, 난소암, 자궁암, 위암종, 근골격암, 두경부암, 위장암, 생식세포암 또는 내분비 및 신경내분비암으로부터 선택되는, 면역 반응의 조절 방법.

[0685] **I. 실시예**

[0686] 다음의 실시예는 단지 예시적 목적을 위해 포함하며, 본 발명의 범주를 제한하기 위한 의도가 아니다.

[0687] **실시예 1**

[0688] IgSF 도메인의 돌연변이체 DNA 작제물의 생성

[0689] 효모 디스플레이 라이브러리의 효모 표면 상의 번역 및 발현에 대해 인간 CTLA-4 IgSF 도메인의 돌연변이체 DNA 작제물을 생성하였다.

[0690] 다음과 같은 서열번호 2에 제시된 야생형 인간 CTLA-4 서열에 기반한 CTLA-4의 ECD의 변이체를 확인하기 위해 아미노산의 무작위 치환을 함유하는 라이브러리를 작제하였다:.

[0691] KAMHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSQVTEVCAATYMMGNELT
FLDDSICTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYYLGIGNGTQIYVIDPEPCPDS
D (서열번호 2)

[0692] 변형된 효모 디스플레이 벡터 pBYDS03(미국에 소재한 라이프 테크놀로지즈(Life Technologies))의 BamHI와 KpnI 부위 사이에서 야생형 CTLA-4 ECD를 암호화하는 DNA를 클로닝시켰다. $MnCl_2$를 보충한 진모프 II 키트(Genemorph II Kit)(미국에 소재한 애질런트(Agilent))를 이용하는 실수 유발 PCR을 통해, pBYDS03 클로닝 벡터를 지나서 40bp만큼 중복되는 ECD-특이적 올리고뉴클레오타이드를 이용하며 BamHI 및 KpnI 클로닝 부위를 포함하는 돌연변이를 도입하였다. 아가로스 겔 전기영동을 통해 돌연변이유발된 DNA PCR 산물을 정제하고, 이어서, 원태그(OneTaq) 2× PCR 마스터 믹스(미국에 소재한 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs))로 돌연변이유발된 100ng의 PCR 산물을 이용하여 추가로 증폭시켰다. 제2 PCR로부어의 산물을 아가로스 겔 전기영동 및 PCR-겔 정제(독일에 소재한 퀴아젠(Qiagen))를 통해 정제시키고, 멸균 탈이온수에서 재현탁시켰다. 각각의 후속적 효모 전기천공법에 대해 총 12㎍의 PCR 산물을 생성하였다.

[0693] 라이브러리 삽입물을 제조하기 위해, pBYDS03 벡터를 BamHI 및 KpnI 제조 효소(미국에 소재한 뉴 잉글랜드 바이오랩스)로 분해시키고, 거대 벡터 단편을 겔 정제시키고 나서, 멸균 탈이온수에 용해시켰다. 50㎕의 탈이온 및 멸균수의 총 용적으로 12㎍의 라이브러리 DNA 삽입물을 4㎍의 선형화 벡터와 혼합함으로써, 다음 단계를 위해

전기천공법의 준비가 된 DNA를 생성하였다.

[0694] **실시예 2**

[0695] **효모 내로 DNA 라이브러리의 도입**

[0696] 전기천공법을 이용하여 실시예 1에서 생성한 CTLA-4 DNA 라이브러리를 효모 내에 도입하였다. 간략하게, 효모 균주 BJ5464(ATCC.org; ATCC 번호 208288)의 전기천공법-적격 세포를 제조하고, 본질적으로 상기 기재한 바와 같은 단계로부터의 전기천공법-준비가 된 DNA로 진 펄서 II(Gene Pulser II)(미국에 소재한 바이오래드(Biorad)) 상에서 전기천공시켰다(Colby, D.W. et al. 2004 Methods Enzymology 388, 348-358). 형질전환시킨 세포만을 제외하고 변형된 플라스미드 pBYDS03에 의해 운반되는 LEU2 선택 가능 마커를 수용하기 위한 비유도성 최소 선택적 SCD-Leu 배지에서 성장시켰다. 1리터의 SCD-Leu 배지는 14.7 그램의 시트르산나트륨, 4.29 그램의 시트르산 일수화물, 20 그램의 덱스트로스, 6.7 그램의 효모 질소 염기, 및 류신이 없는 1.6 그램의 효모 합성 드롭 아웃 배지 보충물로 이루어진다. 배지를 멸균여과시킨 후에 0.22㎛ 진공 필터 장치를 이용하여 사용하였다.

[0697] SCD-Leu 한천 플레이트 상에서 새로 회수한 세포의 연속 희석물을 플레이팅시키고, 이어서, 플레이트 당 적어도 50개의 집락을 생성한 플레이팅으로부터의 단일 집락 수로부터 라이브러리 크기를 추론함으로써 라이브러리 크기를 결정하였다. 일반적으로, 라이브러리 크기는 이 희석물 분석에 기반하여 10E8 내지 10E9 형질전환체의 범위에 있었다. 전기천공된 배양물의 나머지를 SCD-Leu에서 포화까지 성장시키고, 비형질전환 세포의 분획을 최소화하기 위해 새로운 SCD-Leu 내로 이 배양물로부터의 세포를 1회 이상 부분배양(예를 들어, 1/100)시키고 나서, 밤새 성장시켰다. 라이브러리 다양성을 유지하기 위해, 계산한 라이브러리 크기보다 적어도 10배 이상의 세포를 함유하는 접종물을 이용하여 이 부분배양 단계를 수행하였다. 제2 포화 배양물로부터의 세포를 멸균 25%(중량/용적) 글리세롤을 함유하는 새로운 배지에서 10E10/㎖의 밀도로 재현탁시키고 나서, 냉동시키고, -80℃에 저장하였다(냉동 라이브러리 저장액).

[0698] **실시예 3**

[0699] **효모 선택**

[0700] CTLA-4의 친화도 변형된 변이체를 발현시키는 효모를 ICOSL 및/또는 CD86에 대해 선택하였다.

[0701] 추정 라이브러리 크기의 적어도 10배와 동일한 다수의 세포를 개개 라이브러리 저장액으로부터 해동시키고, 비유도성 SCD-Leu 배지에서 1.0×10E6개의 세포/㎖로 현탁시키고 나서, 밤새 성장시켰다. 다음 날, 라이브러리 크기의 적어도 10배와 동일한 다수의 세포를 2000 RPM에서 2분 동안 원심분리시키고, 유도성 SCDG-Leu 배지에서 5.0×10E6개의 세포/㎖로 재현탁시켰다. 1리터의 SCDG-Leu 유도 배지는 5.4 그램의 Na_2HPO_4, 8.56 그램의 $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 20 그램의 갈락토스, 2.0 그램의 덱스트로스, 6.7 그램의 효모 질소 염기, 및 수 중에 용해시킨 류신이 없는 1.6 그램의 효모 합성 드롭 아웃 배지 보충물로 이루어지며, 0.22㎛ 막 여과 장치를 통해 멸균시켰다. 배양물을 1일 동안 실온에서 유도 배지에서 성장시켜 효모 세포 표면 상에서 라이브러리 단백질의 발현을 유도하였다.

[0702] 비결합제를 감소시키기 위해 그리고 ICOSL 또는 CD86에 결합하는 능력을 갖는 변이체 CTLA-4 분자를 농축시키기 위해 유도된 효모 라이브러리는 ICOSL 또는 CD86가 교대로 부하된 자기 비드를 이용하여 4회 주기로 비드 분류되었다. 각각의 선택 주기 후에, 자기 비드에 대한 결합을 통해 남아있는 효모를 SCD 배지에서의 성장을 통해 증폭시킨 후에 밤새 SCDG 배지에서 유도하였다. 예비 선택 다음에 라운드 1에서 ICOSL-Fc를 이용하고 라운드 2에서 CD86-Fc를 이용하는 2회 라운드의 형광 활성화 세포 분류(FACS)가 이어져서, 개선된 결합제를 나타내는 효모 세포 분획을 농축시켰다. 유세포분석에 의한 자기 비드 농축 및 선택을 본질적으로 문헌[Miller et al., Current Protocols in Cytometry 4.7.1-4.7.30, July 2008]에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0703] 이 선택 과정은 다음의 시약 및 기기를 이용하였다: 인간 rICOSL.Fc(즉, 재조합 ICOSL-Fc 융합 단백질) 및 인간 rCD86.Fc 표적 리간드 단백질을 미국에 소재한 알앤디시스템즈(R & D Systems)로부터 구입하였다. 자기 단백질 A 비드를 미국 뉴 잉글랜드 바이오랩스로부터 얻었다. 2색, 유세포 분석 분류를 위해, 바이오래드 S3e 분류기를 사용하였다. CTLA-4 디스플레이 수준을 알렉사플루오르(Alexafluor) 488(미국에 소재한 라이프 테크놀로지즈(Life Technologies))로 표지한 항-혈구응집소 항체로 모니터링하였다. PE-접합된 인간 Ig 특이적 염소 Fab(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch))로 Fc 융합 단백질인 rICOSL.Fc 또는 rCD86.Fc의 리간드 결합을 검출하였다. 전방 산란(forward scatter: FSC)/측방 산란(side scatter: SSC) 파라미터를 이용하

여 이중선 효모를 게이트 아웃하고, 분류 게이트는 FL2에서 검출된 더 큰 리간드 결합에 기반하였는데, 이는 FL1에서 더 제한된 태그 발현 결합을 가진다.

[0704] 유세포 분석 분류로부터의 효모 생산물을 더 높은 결합 친화도에 대해 분석하였다. 분류 생산물 효모를 확장시키고, 재유도하여 그들이 암호화하는 특정 IgSF 친화도 변형된 도메인 변이체를 발현시켰다. 이어서, 이 집단을 모, 야생형 효모 균주, 또는 다른 선택된 생산물, 예컨대 비드 생산물 효모 집단과 유세포 분석에 의해 비교하였다.

[0705] FACS의 제2 라운드 후에, 단일 클론이 단리될 수 있도록 생산물을 연속희석시키고, SCD-한천 상에 플레이팅시켰다. 카나마이신, 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충한 150㎕의 SCD 배지를 함유하는 둥근 바닥 미량정량판에 288개의 집락을 선별하였다. 플레이트를 진탕시키면서 30℃에서 인큐베이션시켰다. 4시간의 성장 후에, 80㎕를 새로운 플레이트의 웰에 옮기고 나서, 세포를 원심분리시키고, SCD를 제거하고 나서, 항생제로 보충한 200㎕의 SCDG 유도 배지를 각각의 웰에 첨가한 후에 밤새실온에서 진탕시키면서 인큐베이션시켰다. 발현에 대한 대조군으로서 rICOSL-Fc, rCD86-Fc 및 항-HA Mab에 대한 각각의 클론의 결합을 독립적으로 평가하기 위해 FACS 분석을 사용하였다. 야생형 CTLA-4를 보유하는 효모의 대조군 웰을 각각의 플레이트 상에서 실행시켰다. 16개의 클론을 선택하여 Fc 융합작제물에 재형식화시키고, 이하에 기재하는 바와 같이 서열분석하였다.

[0706] 16개 효모 클론의 서열 분석은 돌연변이의 단일의 우세한 조합을 나타내었다(L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L; 서열번호 4). 추가적인 클론 다양성을 생성하고 향상된 결합에 필요한 최소 돌연변이를 결정하기 위해, 이 클론 내 돌연변이를 야생형 서열로 부분적으로 셔플링시켰다. 간략하게, ECD 암호화 영역을 1/3로 나누는 PCR 프라이머의 3개 쌍을 설계하였다. PCR 프라이머는 후속적 깁슨 어셈블리 클로닝을 용이하게 하기 위해 인접한 PCR 산물과의 20bp 중복 서열을 유지하였다. 야생형(A_1, B_1, C_1)과 돌연변이체 주형(A_2, B_2, C_2) 둘 다로부터 3개의 PCR 산물을 생성하였다. 3가지 PCR 산물의 조합, 예를 들어, A_2,B_1,C_1; A_2,B_2,C_1 등을 변형된 Fc 융합 벡터와 혼합하여 깁슨 어셈블리 마스터믹스(Gibson Assembly Mastermix)(미국에 소재한 뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하는 시험관내 재조합을 수행하였고, 이를 후속적으로 이콜라이 균주 NEB(등록상표) 5-알파 내로의 열충격 형질전환을 위해 사용하였다. 야생형 서열에 의한 이런 셔플링은 서열번호 5 내지 11을 수득하였다.

[0707] 주형으로서 Gen1 선택으로부터 클론을 이용하는 실수 유발 PCR을 통해 무작위 돌연변이의 제2 라이브러리를 생성하였다. 주형 DNA가 야생형 CTLA-4 ECD DNA 대신에 Gen1 클론의 풀로 구성된다는 것을 제외하고 앞서 기재한 것과 동일한 과정을 이용하여 Gen2로서 기재하는 이런 라이브러리를 작제하였다. rICOSL-Fc와 rCD86-Fc가 교대로 나오는 FACS 정렬의 반복 라운드를 통해 효모 라이브러리를 선별하여, 클론의 다중 풀을 생성하였다. 앞에서와 같이, FACS를 통한 결합을 위해 효모 풀을 분석하였다. FACS에 의해 rICOSL-Fc, rCD86-Fc, rCD80-Fc에 대한 결합에 기반하여, Fc 벡터 내로 PCR 클로닝을 위해 몇몇 풀을 선택하였다. 후속적 서열 분석 및 단백질 생성을 Gen1에 기재한 바와 같이 수행하였다.

[0708] 선택에 의해 확인한 선택 변이체에서의 아미노산 치환을 표 2에 제시한다. 선택한 변이체 CTLA-4 ECD를 융합 단백질로서 추가로 형식화시켰고, 이하에 기재하는 바와 같이 결합 및 기능적 활성에 대해 시험하였다.

[0709] **실시예 4**

[0710] **Fc-융합으로서 그리고 다양한 면역조절 단백질 유형에서 선택 생산물의 재형식화**

[0711] Fc 분자(변이체 ECD-Fc 융합 분자)에 융합된 CTLA-4의 친화도-변형된(변이체) ECD를 함유하는 면역조절 단백질로서 선택 생산물을 재형식화시켰다.

[0712] 최종 유세포 분석 CTLA-4 분류로부터의 생산물 세포를 SCD-Leu 배지에서의 최종 밀도로 성장시켰다. 효모 플라스미드 DNA 단리 키트(미국에 소재한 자이모리서치(Zymoresearch))를 이용하여 각각의 생산물로부터의 플라스미드 DNA를 단리시켰다. Fc 융합을 위해, 플라스미드 DNA 분취로부터 돌연변이체 표적 ECD에 대한 암호화 DNA를 배취 증폭시키기 위해 선택의 Fc 융합 벡터 내로 클로닝시키기에 적합한 제한 부위가 첨가된 PCR 프라이머를 사용하였다. 제한 분해 후에, PCR 산물을 적절한 Fc 융합 벡터에 결찰시키고 나서, 공급업자에 의해 지시되는 바와 같은 균주 XL1-블루 이콜라이(미국에 소재한 애질런트) 또는 NEB(등록상표) 5-알파(뉴 잉글랜드 바이오랩스)에 열 충격 형질전환시켰다. 대안적으로, 깁슨 어셈블리 마스터믹스(미국에 소재한 뉴 잉글랜드 바이오랩스)를 이용하는 시험관내 재조합을 수행하기 위해 변형된 Fc 융합 벡터를 갖는 말단 중 하나에 대해 40 bp의 중복 영역을 함유하는 프라이머로 생산물을 PCR 증폭시키고, 후속적으로 이콜라이 균주 NEB(등록상표) 5-알파에 열 충격 형질전환을 위해 사용하였다. 예시적인 Fc 융합 벡터는 pFUSE-hIgG1-Fc2(미국에 소재한 인비보겐

(InvivoGen))이다.

[0713] 100㎍/㎖ 카베니실린(미국에 소재한 테크노바(Teknova))을 함유하는 LB-한천 상에서 형질전환 반응물의 희석물을 플레이팅시켜 선택을 위한 단일 집락을 단리시켰다. 이어서, 각각의 형질전환으로부터 최대 96개의 집락을 96-웰 플레이트에서 포화까지 37℃에서 밤새 LB-브로스(카탈로그 번호 L8112, 미국에 소재한 테크노바)에서 성장시키고, 모든 클론 내 돌연변이(들)를 확인하기 위한 ECD 삽입물의 DNA 서열 분석을 위해 각각의 웰로부터의 작은 분취액을 제출하였다. 서비스 공급자(진위즈(Genewiz); 뉴저지주 사우스 플레인필드에 소재)에 의해 제공된 프로토콜을 이용하여 DNA 서열분석을 위한 샘플 제조를 수행하였다. DNA 서열분석을 위한 샘플의 제거 후에, 25%의 최종 글리세롤 함량에 대해 남아있는 배양물에 글리세롤을 첨가하였고, 마스터 플레이트로서 장래에 사용하기 위해 플레이트를 -20℃에서 저장하였다(이하 참조). 대안적으로, 일회용 96-웰 복제기(미국에 소재한 VWR)를 이용하여 성장 액체 배양물로부터 고체 한천 플레이트에 복제물 플레이팅시킴으로써 DNA 서열분석을 위한 샘플을 생성하였다. 이들 플레이트를 밤새 인큐베이션시켜 성장 패치를 생성하고, 플레이트를 DNA 서열분석을 위해 설명서에 따라 진위즈에 제출하였다.

[0714] 진위즈-생성 DNA 서열분석 데이터의 분석 후에, 관심 대상의 클론을 마스터 플레이트로부터 회수하였고, 100㎍/㎖ 카베니실린(미국에 소재한 테크노바)를 함유하는 5㎖ 액체 LB-브로스에서 포화까지 개개로 성장시키고 나서, 이어서, 표준 키트, 예컨대 퓨어일드 플라스미드 미니프렙(PureYield Plasmid Miniprep System)(미국에 소재한 프로메가)을 이용하여 각각의 클론의 대략 10㎍의 미니프렙 플라스미드 DNA의 제조를 위해 2㎖의 각각의 배양물을 사용하였다. 관심 대상의 클론의 확인은 다음의 단계들을 수반하였다. 처음에, DNA 서열 데이터 파일을 진위즈 웹사이트로부터 다운로드하였다. 이어서, 모든 서열을, ECD 암호화 영역의 시작 시 이들이 개시되도록 수동으로 관리하였다. 유겐(Ugene) 소프트웨어를 이용하여 정렬을 생성하기 위해 진위즈 서열을 가공하였다(http://ugene.net).

[0715] 이어서, 다음의 기준을 이용하여 관심대상의 클론을 확인하였다: 1) 정렬에서 적어도 2회 동일한 클론이 생김, 및 2) 정렬에서, 바람직하게는 상이한 클론에서 적어도 2회 돌연변이가 일어남. 이들 기준 중 적어도 하나를 충족시키는 클론은 개선된 결합에 기인할 가능성이 있는 분류 과정에 의해 풍부하게 되었다.

[0716] 적어도 하나 친화도-변형된 도메인을 갖는 CTLA-4의 ECD(예를 들어, 변이체 CTLA-4 ECD-Fc)를 함유하는 Fc 융합 단백질인 재조합 면역조절 단백질을 생성하기 위해, 암호화 DNA를 생성하여 다음과 같은 단백질을 암호화하였다: 변이체(돌연변이체) ECD 다음에 7개 아미노산(GSGGGGS)의 링커, 다음에 EU 넘버링에 의한 돌연변이 L234A, L235E 및 G237A를 함유하는 인간 IgG1 Fc. 작제물은 시스테인과 공유 결합을 형성할 수 있는 임의의 항체 경쇄를 포함하지 않기 때문에, 인간 IgG1 Fc는 또한 EU 넘버링에 의해 220번 위치 시스테인 잔기의 세린 잔기로의 대체(C220S)를 함유하였다(서열번호 533에 제시된 야생형 또는 비변형 Fc에 대해 5번 위치(C5S)에 대응). 표 2에 제시된 변이체를 함유하는 예시적인 변이체 CTLA-4-ECD-Fc 융합 단백질은 서열번호 286 내지 379, 381 내지 386, 및 388 내지 437에 제시된다.

[0717] **실시예 5**

[0718] **Fc-융합의 발현 및 정제**

[0719] CTLA-4의 변이체 ECD를 함유하는 Fc-융합 단백질을 고속대량(high throughput) 발현 및 정제에 의해 생성하였다. Expi293 발현 시스템(미국에 소재한 인비트로젠(Invitrogen))을 이용하여 현탁액-적합 인간 배아 신장(HEK) 293 세포로부터 재조합 변이체 Fc 융합 단백질을 생성하였다. 10.8㎕ 엑스피펙타민(ExpiFectamine)을 다른 200㎕ Opti-MEM에 별개로 첨가한 것과 동시에 실시예 3에서 생성한 4㎍의 각각의 플라스미드 DNA를 200㎕ Opti-MEM(미국에 소재한 인비트로젠)에 첨가하였다. 5분 후에, 200㎕의 플라스미드 DNA를 200㎕의 엑스피펙타민과 혼합하고 나서, 추가 20분 동안 추가로 인큐베이션시킨 후에 세포에 이 혼합물을 첨가하였다. 4㎖ Expi293 배지(미국에 소재한 인비트로젠)의 용적으로 멸균 10㎖, 원추형 바닥, 딥(deep) 24-웰 성장 플레이트(Thomson Instrument Company, USA)의 별개 웰에 1천만개의 Expi293 세포를 나누어 담았다. 95% 습도 및 8% CO_2로 설정한 포유류 세포 배양물 인큐베이터에서 플레이트를 5일 동안 120 RPM으로 진탕시켰다. 5일 인큐베이션 후에, 세포를 펠릿화시키고 나서, 배양물 상청액을 제거하였다.

[0720] 제조업자의 프로토콜을 이용하는 고속대량 96-웰 단백질 A 정제 키트(카탈로그 번호 45202, 미국에 소재한 라이프 테크놀로지즈)를 이용하여 상청액으로부터 단백질을 정제하였다. 제바(Zeba) 96-웰 스핀 탈염 플레이트(카탈로그 번호 89807, 미국 라이프 테크놀로지즈)를 이용하여 얻어진 용리 분획을 PBS에 완충제 교환시켰다. 나노드롭(Nanodrop) 기기(미국에 소재한 써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific))에 의해 측정한 280㎚ 흡

광도를 이용하여 정제된 단백질을 정량화하였고, 변성 및 환원 조건 및 후속적 겔 전기영동 하에 NUPAGE 프리-캐스트(pre-cast), 폴리아크릴아마이드 겔(미국에 소재한 라이프테크놀로지즈) 상에 5㎍의 단백질을 부하함으로써 단백질 순도를 평가하였다. 표준 쿠마씨 염색을 이용하여 겔에서 단백질을 시각화하였다.

[0721] **실시예 6**

[0722] **친화도-성숙 IgSF 도메인-함유 분자의 결합 및 활성 평가**

[0723] 결합 상대 CD80, CD86 및 ICOSL에 대한 CTLA-4 ECD 변이체 면역조절 단백질의 특이성 및 친화도를 평가하기 위해 Fc-융합 결합 연구를 수행하였다. 인간 1차 T 세포 시험관내 분석에서 생체활성에 대해 Fc-융합 변이체 단백질을 추가로 특성규명하였다.

[0724] **A. 세포-발현 카운터 구조에 대한 결합**

[0725] 결합 상대를 발현시키는 세포를 생성하기 위해, 인간 CD80, CD86 및 ICOSL 각각에 대한 전장 포유류 표면 발현 작제물을 pcDNA3.1 발현 벡터(라이프 테크놀로지즈)에서 설계하고, 미국에 소재한 진스크립트(Genscript)로부터 공급받았다. 상기 기재한 Expi293F 일시적 형질감염 시스템(미국에 소재한 라이프 테크놀로리즈)을 이용하여 결합 연구를 수행하였다. 실험에 필요한 세포 수를 결정하였고, 제조업자의 제시 프로토콜을 이용하여 적절한 30 ㎖ 규모의 형질감염을 수행하였다. 각각의 상대 구조 또는 모의 30㎖ 형질감염에 대해, 7천 5백만개의 Expi293F 세포를 30㎍의 발현 작제물 DNA 및 1.5㎖ 희석 엑스피펙타민 293 시약과 함께 48시간 동안 인큐베이션시켰고, 이 시점에 염색을 위해 세포를 채취하였다.

[0726] 유세포 분석을 위해, 적절한 일시적 형질감염 또는 음성 대조군의 200,000개 세포를 96웰 둥근 바닥 플레이트에 플레이팅시켰다. 세포를 원심분리시키고 나서, 염색 완충제(PBS(인산염 완충 식염수), 1% BSA(소 혈청 알부민) 및 0.1% 아자이드나트륨)에서 20분 동안 현탁시켜 비-특이적 결합을 차단시켰다. 이후에, 세포를 다시 원심분리시키고, 50㎕로 100nM 내지 100pM의 CTLA-4 IgSF 변이체 Fc 융합 단백질을 함유하는 염색 완충제에서 현탁시켰다. 1차 염색을 45분 동안 수행한 후에, 염색 완충제에서 세포를 2회 세척하였다. CD86 형질감염을 위해, 50㎕ 염색 완충제에서 1:150으로 희석시킨 PE-접합 항-인간 Fc(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)로 결합 단백질을 검출하고, 30분 동안 인큐베이션시켰다. CD80 및 ICOSL 형질감염을 위해, 50㎕ 염색 완충제에서 1:130으로 희석시킨 항-CTLA-4 항체(미국에 소재한 바이오레전드(Biolegend))로 결합 단백질을 포획하였다. 30 분의 인큐베이션 후에, 세포를 2회 세척하고 나서, 추가적인 30분의 인큐베이션 동안 50㎕에서 1:150으로 희석시킨 PE-접합 항-마우스 Fc(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)로 검출하였다. 세포를 2회 세척하여 비결합 접합 항체를 제거하고, 2% 폼알데하이드/PBS에서 고정시키고 나서, FACScan(미국에 소재한 벡톤 디킨슨(Becton Dickinson)) 또는 하이퍼사이트(Hypercyt) 유세포분석기(미국에 소재한 인텔리사이트(Intellicyte)) 상에서 분석하였다.

[0727] 각각의 형질감염체 및 음성 모 계통에 대해 셀 퀘스트 프로(Cell Quest Pro) 소프트웨어(미국에 소재한 벡톤 딕킨슨(Becton Dickinson)) 또는 포사이트(Forcyte) 소프트웨어(미국에 소재한 인텔리사이트)를 이용하여 평균 형광 강도(MFI)를 계산하였다.

[0728] **B. 생체활성 특성규명**

[0729] 인간 혼합 림프구 반응(MLR)에서 가용성 CTLA-4-Fc 생체활성을 시험하였다. 엑스-비보(Ex-Vivo) 15 배지(스위스에 소재한 론자(Lonza))에서 50ng/㎖ rIL-4(미국에 소재한 알앤디 시스템즈) 및 80ng/㎖ rGM-CSF(미국에 소재한 알앤디 시스템즈)와 함께 7일 동안 시험관내에서 PBMC(미국에 소재한 벤테크 바이오(BenTech Bio))로부터 단리시킨 단핵구를 배양시킴으로써 인간 1차 수지상 세포(DC)를 생성하였다. 제3일 및 제5일에, 배지의 절반을 제거하고 나서, 50ng/㎖ rIL-4 및 80ng/㎖ rGM-CSF를 함유하는 신선한 배지로 대체하였다. DC 성숙을 완전히 유도하기 위해, 지질다당류(LPS)(미국에 소재한 인비보겐 코포레이션(InvivoGen Corp.))을 제6일에 DC 배양물에 100ng/㎖로 첨가하였고, 추가적인 24 시간 동안 세포를 인큐베이션시켰다. 대략, 10,000개의 성숙 DC 및 100,000개의 정제된 동종이계 CD3+ T 세포(미국에 소재한 벤테크 바이오)를 200㎕의 최종 용적의 엑스-비보 15 배지 내 96웰 둥근 바닥 플레이트에서 CTLA-4 변이체 Fc 융합 단백질 및 대조군과 공동 배양시켰다. 제4일 내지 제5일에, 인간 IFN-감마 듀오셋(Duoset) ELISA 키트(미국에 소재한 알앤디 시스템즈)를 이용하여 배양물 상청액 중의 IFN-감마 분비를 분석하였다. 바이오텍 사이테이션 멀티모드(BioTek Cytation Multimode) 마이크로플레이트 판독기(미국에 소재한 바이오텍 코포레이션(BioTek Corp.)) 상에서 광학 밀도를 측정하고 나서, IFN-감마 듀오-셋 키트(미국에 소재한 알앤디 시스템즈)에 포함된 적정한 rIFN-감마 표준에 대해 정량화하였다.

[0730] **C. 결과**

[0731] 변이체 및 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드에 대해 상기 기재한 결합 및 생체활성 분석 결과를 표 5 내지 7에 요약한다. CD80, CD86 및 ICOSL 결합(MFI) 및 인터페론-감마 분비[pg/㎖]에 대한 값을, 상대적 비에 추가로 각각의 실험에 대한 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드(ΔWT)의 대응하는 결합 및 분비에 비교하여 제공한다. 실질적으로 0.1 미만인 결합에 대한 상대적 비는 0으로서 보고한다. 추가로, 변이체가 인터페론 감마의 분비를 검출 가능하지 않은 수준으로 억제한 변이체에 대한 MLR 데이터를 또한 0으로서 보고한다.

표 5

[0732]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
돌연변이		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	IFN-γ [pg/mL] (ΔWT)
L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L	4	829 (0.2)	761890 (1.1)	873 (0.5)	216 (0.3)
L12P/A26T	6	1024 (0.2)	276276 (0.4)	928 (0.6)	850 (1.3)
L12P/A26T/L63P	7	2400 (0.5)	500345 (0.7)	891 (0.5)	671 (1.0)
L63P/L98Q/Y105L	8	4718 (1.0)	410571 (0.6)	1802 (1.1)	124 (0.2)
L98Q/Y105L	9	3863 (0.8)	685365 (1.0)	1186 (0.7)	124 (0.2)
L63P	10	3932 (0.8)	595807 (0.8)	966 (0.6)	261 (0.4)
L98R/N110K	11	2110 (0.4)	665012 (0.9)	1046 (0.6)	344 (0.5)
WT CTLA-4	2	4775 (1.0)	708753 (1.0)	1664 (1.0)	662 (1.0)

표 6

[0733]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
돌연변이		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	IFN-γ [pg/mL] (ΔWT)
L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	12	2026 (0.4)	33068 (0.9)	1222 (0.7)	569 (1.5)
E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L	13	1098 (0.2)	35506 (1.0)	1792 (1.1)	253 (0.7)
L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	14	2591 (0.5)	33477 (0.9)	1604 (1.0)	586 (1.6)
S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L	15	3773 (0.8)	30572 (0.8)	990 (0.6)	441 (1.2)
S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M	16	1982 (0.4)	33467 (0.9)	1354 (0.8)	426 (1.1)
M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I	17	3775 (0.8)	31296 (0.9)	1719 (1.0)	583 (1.6)
L63P/S72G/Y105L	18	3831 (0.8)	32160 (0.9)	1362 (0.8)	123 (0.3)
L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M	19	2635 (0.6)	32564 (0.9)	1761 (1.1)	539 (1.4)
L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L	20	2463 (0.5)	32830 (0.9)	1930 (1.2)	603 (1.6)
A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	21	3576 (0.7)	31549 (0.9)	939 (0.6)	83 (0.2)
L63P/L98Q/V116A	22	2772 (0.6)	32657 (0.9)	1033 (0.6)	298 (0.8)
G29W/L98Q/M99L/Y105L	23	1772 (0.4)	32977 (0.9)	6183 (3.7)	745 (2.0)
T37S/M56V/L98Q/Y105L	24	2115 (0.4)	27628 (0.8)	881 (0.5)	148 (0.4)
A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L	25	1526 (0.3)	28149 (0.8)	1113 (0.7)	552 (1.5)
L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L	26	1577 (0.3)	25936 (0.7)	931 (0.6)	944 (2.5)
V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M	27	2802 (0.6)	27629 (0.8)	1013 (0.6)	103 (0.3)

[0734]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (Δ WT)	CD86 MFI (Δ WT)	ICOSL MFI (Δ WT)	IFN-γ [pg/mL] (Δ WT)
A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	28	2899 (0.6)	26407 (0.7)	1759 (1.1)	195 (0.5)
I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/P102L/Y105L	636	1140 (0.2)	46974 (1.3)	935 (0.6)	714 (1.9)
E33M/A42T/L98Q/Y105L	29	1623 (0.3)	27354 (0.7)	1675 (1.0)	638 (1.7)
M55T/E97Q/M99L/Y105F	30	906 (0.2)	6249 (0.2)	1037 (0.6)	575 (1.5)
M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L	31	1940 (0.4)	30594 (0.8)	2313 (1.4)	594 (1.6)
R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L	32	2678 (0.6)	28858 (0.8)	1480 (0.9)	144 (0.4)
L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I	33	2318 (0.5)	28463 (0.8)	879 (0.5)	127 (0.3)
M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	34	3487 (0.7)	32054 (0.9)	963 (0.6)	72 (0.2)
S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L	35	1445 (0.3)	33793 (0.9)	1505 (0.9)	622 (1.7)
I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L	36	10109 (2.1)	29367 (0.8)	1711 (1.0)	50 (0.1)
L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L	37	2777 (0.6)	31740 (0.9)	2110 (1.3)	723 (1.9)
L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T	38	1117 (0.2)	28174 (0.8)	1081 (0.6)	944 (2.5)
L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N	39	1074 (0.2)	27514 (0.7)	939 (0.6)	322 (0.9)
M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L	40	2900 (0.6)	24010 (0.7)	1125 (0.7)	384 (1.0)
A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L	41	3352 (0.7)	23688 (0.6)	1042 (0.6)	88 (0.2)
I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L	42	3650 (0.8)	26133 (0.7)	923 (0.6)	105 (0.3)
L12H/M55T/E59D/L63P/M99L	43	2877 (0.6)	26206 (0.7)	876 (0.5)	619 (1.7)
I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V	44	2706 (0.6)	26196 (0.7)	960 (0.6)	62 (0.2)
I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	45	2442 (0.5)	29111 (0.8)	2489 (1.5)	817 (2.2)
T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	46	2505 (0.5)	32390 (0.9)	1987 (1.2)	944 (2.5)
V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	47	3433 (0.7)	33373 (0.9)	2410 (1.4)	846 (2.3)
L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L	48	3282 (0.7)	32885 (0.9)	2277 (1.4)	897 (2.4)
L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F	49	2917 (0.6)	31744 (0.9)	2485 (1.5)	842 (2.3)
I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L	50	1943 (0.4)	31558 (0.9)	2175 (1.3)	689 (1.8)
I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y	51	1086 (0.2)	23508 (0.6)	1124 (0.7)	645 (1.7)

[0735]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (Δ WT)	CD86 MFI (Δ WT)	ICOSL MFI (Δ WT)	IFN-γ [pg/mL] (Δ WT)
I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S	52	1998 (0.4)	36385 (1.0)	1032 (0.6)	73 (0.2)
G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	53	3308 (0.7)	32787 (0.9)	1258 (0.8)	78 (0.2)
G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L	54	3381 (0.7)	32622 (0.9)	3622 (2.2)	578 (1.6)
G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L	55	3750 (0.8)	33612 (0.9)	2158 (1.3)	227 (0.6)
I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L	56	2925 (0.6)	35032 (1.0)	1999 (1.2)	679 (1.8)
WT CTLA4	2	4775 (1.0)	36785 (1.0)	1664 (1.0)	373 (1.0)

표 7

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (Δ WT)	CD86 MFI (Δ WT)	ICOSL MFI (Δ WT)	IFN-γ [pg/mL] (Δ WT)
M56V	57	2688 (0.6)	36766 (0.1)	822 (0.5)	176 (1.3)
L63P/K95R	58	2914 (0.6)	33412 (0.0)	819 (0.5)	165 (1.2)
L63P/L98Q	59	2830 (0.6)	31416 (0.0)	885 (0.5)	229 (1.6)
L98Q/M99L/Y105L	60	1472 (0.3)	33977 (0.0)	1541 (0.9)	325 (2.3)
L63P/M87K/M99L/L106R	61	3329 (0.7)	61526 (0.1)	2540 (1.5)	531 (3.8)
L63P/M99L/Y105L/I108F	62	2142 (0.4)	32781 (0.0)	3759 (2.3)	1053 (7.5)
V10A/L63P/L98Q/Y105L	63	3148 (0.7)	34595 (0.0)	869 (0.5)	141 (1.0)
M56T/L91R/L98Q/Y105L	64	1713 (0.4)	33645 (0.0)	1128 (0.7)	0 (0.0)
A26T/L63P/M87V/N110K/I117E	65	2909 (0.6)	31487 (0.0)	973 (0.6)	426 (3.0)
G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L	66	5165 (1.1)	37721 (0.1)	3023 (1.8)	438 (3.1)
A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q	67	5009 (1.0)	38407 (0.1)	888 (0.5)	273 (1.9)
G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L	68	15619 (3.3)	34897 (0.0)	1374 (0.8)	0 (0.0)
G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L	69	3214 (0.7)	32786 (0.0)	1148 (0.7)	0 (0.0)
L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L	70	2034 (0.4)	31843 (0.0)	857 (0.5)	87 (0.6)
A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L	71	1429 (0.3)	33589 (0.0)	938 (0.6)	472 (3.4)
A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L	72	2324	33672 (0.0)	2200	264 (1.9)

[0736]

[0737]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (Δ WT)	CD86 MFI (Δ WT)	ICOSL MFI (Δ WT)	IFN-γ [pg/mL] (Δ WT)
		(0.5)		(1.3)	
V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L	73	2598 (0.5)	33868 (0.0)	2502 (1.5)	904 (6.4)
L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L	74	1486 (0.3)	30004 (0.0)	1276 (0.8)	352 (2.5)
I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K	75	4096 (0.9)	30852 (0.0)	17220 (10.3)	0 (0.0)
A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L	76	2349 (0.5)	33255 (0.0)	3119 (1.9)	445 (3.2)
L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L	77	1833 (0.4)	924222 (1.3)	919 (0.6)	536 (3.8)
P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L	78	1441 (0.3)	782025 (1.1)	966 (0.6)	535 (3.8)
E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	79	2864 (0.6)	729343 (1.0)	1080 (0.6)	867 (6.2)
I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	80	3592 (0.8)	857127 (1.2)	1014 (0.6)	366 (2.6)
L63P/L98Q/M99L/Y105L	81	2662 (0.6)	618249 (0.9)	868 (0.5)	944 (6.7)
Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F	82	2570 (0.5)	703731 (1.0)	940 (0.6)	408 (2.9)
S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T	83	1374 (0.3)	863538 (1.2)	968 (0.6)	221 (1.6)
M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L	84	2546 (0.5)	911035 (1.3)	839 (0.5)	1198 (8.5)
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L	85	1532 (0.3)	518203 (0.7)	999 (0.6)	1220 (8.7)
L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I	86	2814 (0.6)	1007606 (1.4)	1004 (0.6)	773 (5.5)
A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L	87	2324 (0.5)	520232 (0.7)	986 (0.6)	468 (3.3)
L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L	88	2769 (0.6)	349875 (0.5)	875 (0.5)	202 (1.4)
A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L	89	5409 (1.1)	578704 (0.8)	1235 (0.7)	1097 (7.8)
V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H	90	2820 (0.6)	642849 (0.9)	992 (0.6)	1174 (8.4)
A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	91	3203 (0.7)	850654 (1.2)	875 (0.5)	1096 (7.8)
E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L	92	2195 (0.5)	929792 (1.3)	1043 (0.6)	1478 (10.5)
G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L	93	18277 (3.8)	950639 (1.3)	1463 (0.9)	0 (0.0)
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L	94	2293 (0.5)	912480 (1.3)	907 (0.5)	586 (4.2)
A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L	95	1740 (0.4)	976150 (1.4)	948 (0.6)	1331 (9.5)
L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R	96	2186 (0.5)	984573 (1.4)	867 (0.5)	1286 (9.2)
S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	97	3707	941466	1020	1879

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (Δ WT)	CD86 MFI (Δ WT)	ICOSL MFI (Δ WT)	IFN-γ [pg/mL] (Δ WT)
		(0.8)	(1.3)	(0.6)	(13.4)
G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	99	3446 (0.7)	842791 (1.2)	1024 (0.6)	718 (5.1)
G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L	100	4558 (1.0)	841939 (1.2)	1945 (1.2)	1036 (7.4)
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N	101	2991 (0.6)	854863 (1.2)	894 (0.5)	0 (0.0)
L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A	102	3984 (0.8)	831276 (1.2)	1765 (1.1)	0 (0.0)
G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L	103	4262 (0.9)	860194 (1.2)	1445 (0.9)	0 (0.0)
G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L	104	3399 (0.7)	854339 (1.2)	954 (0.6)	0 (0.0)
T53S/M56V/L98Q/Y105L	106	3860 (0.8)	875378 (1.2)	1376 (0.8)	0 (0.0)
L63P/S72G/L98Q/Y105L	107	3451 (0.7)	892268 (1.3)	1486 (0.9)	0 (0.0)
I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L	108	3542 (0.7)	637802 (0.9)	1240 (0.7)	0 (0.0)
G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L	109	3347 (0.7)	794165 (1.1)	1914 (1.2)	179 (1.3)
I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L	110	4064 (0.9)	797318 (1.1)	1351 (0.8)	0 (0.0)
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I	111	4303 (0.9)	829524 (1.2)	1474 (0.9)	0 (0.0)
G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L	112	3993 (0.8)	769557 (1.1)	1053 (0.6)	0 (0.0)
G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L	113	4174 (0.9)	427427 (0.6)	1248 (0.7)	0 (0.0)
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L	114	3794 (0.8)	502885 (0.7)	1853 (1.1)	0 (0.0)
L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	115	3811 (0.8)	789352 (1.1)	1885 (1.1)	37 (0.3)
L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L	116	6575 (1.4)	919746 (1.3)	2615 (1.6)	0 (0.0)
L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L	117	4012 (0.8)	783049 (1.1)	1001 (0.6)	155 (1.1)
L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I	118	4347 (0.9)	662327 (0.9)	1219 (0.7)	195 (1.4)
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L	119	3242 (0.7)	702231 (1.0)	1205 (0.7)	133 (0.9)
A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L	121	4853 (1.0)	713974 (1.0)	2111 (1.3)	0 (0.0)
G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L	122	4044 (0.8)	818528 (1.2)	1572 (0.9)	0 (0.0)
G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H	123	2421 (0.5)	842313 (1.2)	2147 (1.3)	1129 (8.1)
G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V	124	1233 (0.3)	931184 (1.3)	1045 (0.6)	844 (6.0)
A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L	125	3095	762915	1863	1059 (7.6)

[0738]

[0739]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	IFN-γ [pg/mL] (ΔWT)
		(0.6)	(1.1)	(1.1)	
G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L	126	2460 (0.5)	898877 (1.3)	4222 (2.5)	373 (2.7)
I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L	127	1729 (0.4)	865295 (1.2)	5692 (3.4)	786 (5.6)
S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I	128	1439 (0.3)	905813 (1.3)	4653 (2.8)	915 (6.5)
L63P/L98Q/M99L/Y105L	81	2787 (0.6)	824331 (1.2)	1723 (1.0)	692 (4.9)
A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L	129	2432 (0.5)	835548 (1.2)	2767 (1.7)	404 (2.9)
A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	130	3226 (0.7)	1085961 (1.5)	2090 (1.3)	1413 (10.1)
L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S	131	1764 (0.4)	896733 (1.3)	733 (0.4)	170 (1.2)
I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L	132	3265 (0.7)	769820 (1.1)	802 (0.5)	145 (1.0)
L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L	133	1208 (0.3)	766257 (1.1)	1747 (1.0)	718 (5.1)
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L	134	987 (0.2)	782940 (1.1)	998 (0.6)	623 (4.4)
G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L	135	2019 (0.4)	767081 (1.1)	7975 (4.8)	786 (5.6)
P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	136	1163 (0.2)	798068 (1.1)	1849 (1.1)	1161 (8.3)
G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L	137	4087 (0.9)	425068 (0.6)	5654 (3.4)	956 (6.8)
I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S	138	2392 (0.5)	486401 (0.7)	1765 (1.1)	737 (5.3)
L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V	139	3455 (0.7)	730161 (1.0)	2074 (1.2)	592 (4.2)
A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L	140	10573 (2.2)	610530 (0.9)	24030 (14.4)	1282 (9.1)
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L	85	1984 (0.4)	933740 (1.3)	2401 (1.4)	1849 (13.2)
M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E	141	1940 (0.4)	758136 (1.1)	1552 (0.9)	332 (2.4)
G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L	142	3525 (0.7)	913043 (1.3)	9533 (5.7)	232 (1.7)
L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H	143	1647 (0.3)	891092 (1.3)	1059 (0.6)	907 (6.5)
G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L	144	3375 (0.7)	919607 (1.3)	1454 (0.9)	0 (0.0)
I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K	145	2455 (0.5)	782684 (1.1)	1686 (1.0)	530 (3.8)
I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	146	3315 (0.7)	926617 (1.3)	2390 (1.4)	296 (2.1)
L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L	147	1784 (0.4)	1045369 (1.5)	1510 (0.9)	968 (6.9)
E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F	148	1481	820016	2109	766 (5.5)

[0740]

변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	IFN-γ [pg/mL] (ΔWT)
		(0.3)	(1.2)	(1.3)	
L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L	149	1926 (0.4)	895016 (1.3)	1046 (0.6)	593 (4.2)
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S	150	7819 (1.6)	778254 (1.1)	2249 (1.4)	0 (0.0)
G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S	151	3395 (0.7)	763120 (1.1)	1559 (0.9)	0 (0.0)
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L	152	8116 (1.7)	257214 (0.4)	2517 (1.5)	0 (0.0)
G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V	153	7775 (1.6)	271930 (0.4)	3703 (2.2)	45 (0.3)
G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L	154	4497 (0.9)	174601 (0.2)	1545 (0.9)	0 (0.0)
V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S	155	6058 (1.3)	766570 (1.1)	1612 (1.0)	0 (0.0)
WT CTLA4	2	4775 (1.0)	708753 (1.0)	1664 (1.0)	140 (1.0)

[0741] 실시예 7

[0742] CTLA-4 공통 변이체의 생성 및 분석

[0743] 개선된 CD80, CD86, 및/또는 ICOSL 결합을 나타내고/내거나 MLR 분석에서 인터페론-감마 분비의 억제를 입증한 변이체와 통상적으로 연관된 실시예 1 내지 6에 기재한 선별에서 확인한 공통 잔기를 확인함으로써 CTLA-4 ECD의 추가적인 변이체를 설계하였다. 선택한 공통 돌연변이는 I18T, A26T, E33V, T53S, M55T, M56K, N58S, L63P, M87V, L98Q, M99L 및 Y105L을 포함하였다. 공통 돌연변이체를 사용하여 서열번호 2에 제시된 야생형 서열에 관해 부위-지정 돌연변이유발에 의해 변이체 CTLA-4 ECD를 생성하였고, 이어서, 실시예 4에 기재된 바와 같은 Fc 융합 단백질로서 형식화하였다. 변이체 CTLA-4 ECD-Fc 융합을 이하에 기재하는 바와 같은 결합 및 생체활성에 대해 시험하였다.

[0744] **A. 결합 및 생체활성**

[0745] **1. 세포-발현된 카운터 구조에 대한 결합**

[0746] 동족 결합 상대를 발현시키는 세포를 생성하기 위해, 인간 CD80, CD86 및 ICOSL 각각에 대한 전장 포유류 표면 발현 작제물을 pcDNA3.1 발현 벡터(라이프 테크놀로지즈)에서 설계하고, 미국에 소재한 젠스크립트로부터 공급받았다. 상기 기재한 Expi293F 일시적 형질감염 시스템(미국에 소재한 라이프 테크놀로리즈)을 이용하여 결합 연구를 수행하였다. 실험에 필요한 세포 수를 결정하였고, 제조업자의 제시 프로토콜을 이용하여 적절한 30㎖ 규모의 형질감염을 수행하였다. 각각의 상대 구조 또는 모의 30㎖ 형질감염에 대해, 7천 5백만개의 Expi293F 세포를 30㎍의 발현 작제물 DNA 및 1.5㎖ 희석 엑스피펙타민 293 시약과 함께 48시간 동안 인큐베이션시켰고, 이 시점에 염색을 위해 세포를 채취하였다.

[0747] 일부 예에서, 동족 결합 상대의 안정한 발현을 갖는 세포를 사용하였다. 전장 인간 CD80, CD86 또는 ICOSL의 표면 발현을 위해 렌티바이러스에 의해 중국 햄스터 난소 세포(CHO)를 안정하게 형질도입하였다.

[0748] 유세포 분석을 위해, 주어진 일시적 형질감염, 안정한 세포주 또는 적절한 음성 대조군의 200,000개의 세포를 96웰 둥근 바닥 플레이트에 플레이팅시켰다. 세포를 원심분리시키고 나서, 염색 완충제(PBS (인산염 완충 식염수), 1% BSA(소 혈청 알부민) 및 0.1% 아자이드나트륨)에서 20분 동안 현탁시켜 비-특이적 결합을 차단시켰다. 이후에, 세포를 다시 원심분리시키고, 50㎕로 100nM 내지 100pM의 CTLA-4 변이체 Fc 융합 단백질 또는 대조군을 함유하는 염색 완충제에서 현탁시켰다. 1차 염색을 45분 동안 수행한 후에, 염색 완충제에서 세포를 2회 세척하였다. 50㎕ 염색 완충제에서 1:150으로 희석시킨 PE-접합 항-인간 IgG(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)로 결합된 CTLA-4를 검출하고 나서, 30분 동안 인큐베이션시켰다. 대안적으로, 결합된 CTLA-4를 50㎕ 염색 완충제에서 1:130으로 30분 동안 희석시킨 항-CTLA-4 항체(미국에 소재한 바이오레전드)로 검출한 후에 염색 완충제에서 세포를 2회 세척하였다. 이어서, 50㎕ 염색 완충제에서 1:150으로 희석시킨 PE-접합 항-마우스 IgG(미국에 소재한 잭슨 이뮤노리서치)로 항-CTLA-4 항체를 검출하고, 30분 동안 인큐베이션시켰다.

[0749] 최종 인큐베이션 후에, 세포를 2회 세척하여 비결합 접합 항체를 제거하고, 2% 폼알데하이드/PBS에서 고정시키고 나서, 하이퍼사이트(미국에 소재한 인텔리사이트) 또는 LSRII(미국에 소재한 벡톤 디킨슨) 유세포 분석기 상에서 분석하였다.

[0750] 셀 퀘스트 프로 소프트웨어(미국에 소재한 벡톤 딕킨슨), 플로우조(FlowJo) 소프트웨어(미국에 소재한 플로우조) 또는 포사이트 소프트웨어(미국에 소재한 인텔리사이트)를 이용하여 평균 형광 강도(MFI)를 계산하였다.

[0751] **2. CD86 차단 생체분석**

[0752] CD86 차단 생체분석에 의해 결정한 바와 같은 CD86-CD28 매개 공자극을 차단하는 능력에 대해 선택 CTLA-4 변이체 Fc 융합 단백질을 분석하였다. 세포 표면 항-인간 CD3 단일 쇄 Fv(OKT3) 및 인간 CD86을 발현시키기 위해 K562 세포를 렌티바이러스로 형질도입함으로써 인공 항원 제시 세포(APC)를 생성하여, K562/OKT3/CD86을 수득하였다. IL-2-루시퍼라제 리포터(프로메가)를 발현시키는 Jurkat 세포를 렌티바이러스로 형질도입함으로써 효과기 세포를 생성하여 인간 ICOS의 세포외 도메인 및 인간 CD28의 세포내 도메인으로 구성된 키메라 수용체를 발현시켜, Jurkat/IL-2/ICOS-CD28을 수득하였다. 2×10^4개의 세포/웰로 33㎕/웰의 분석 완충제(5% FBS와 함께 RPMI1640)에서 33㎕/웰에서 300 nM로 CTLA-4-Fc 또는 대조군 단백질과 함께 APC를 플레이팅시켰다. APC와 단백질을 20분 동안 실온에서 인큐베이션시킨 후에, 효과기 세포를 2×10^5개의 세포/웰에서 33㎕/웰로 첨가하였다. 플레이트를 37℃로 옮기고 나서, 5시간 동안 인큐베이션 챔버에서 5% CO2로 습윤화시키고, 이어서, 제거하고 나서, 실온에 15분 동안 두었다. 100㎕/웰의 세포 용해물 및 루시퍼라제 기질 용액(바이오글로(BioGlo)(상표명) 루시퍼라제 시약, 프로메가)을 각각의 플레이트에 첨가하고 나서, 오비탈 진탕기 상에서 10분 동안 인큐베이션

시켰다. 사이테이션 3 이미징(Cytation 3 imaging) 판독기(바이오텍 인스트루먼츠)를 이용하여 웰 노출 시간 당 1초로 발광을 측정함으로써 각각의 시험 샘플에 대해 상대적 발광 값(Relative luminescence value: RLU)을 결정하였다. 다음의 식을 이용하여 CD86 차단에 의해 매개되는 저해%를 결정하였다: [(평균 대조군 RLU - 실험 RLU)/(평균 대조군 RLU)]×100.

[0753] B. 결과

[0754] 결과를 이하의 표 8에 요약한다. 결합 CD80, CD86 및 ICOSL(MFI)에 대한 값 및 저해 CD28 공자극 백분율을 상대적 비에 추가로, 각각의 실험에 대한 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드(ΔWT)의 대응하는 결합 및 CD86 차단에 비교하여 제공한다. 나타낸 바와 같이, CD80 또는 CD86에 대한 결합의 변화와 독립적으로, 특정 돌연변이 및 돌연변이의 조합은 ICOSL에 대한 CTLA-4 ECD 결합의 실질적인 증가와 연관되었다. 일부 경우에, CD80 또는 CD86 중 하나 또는 둘 다에 대한 결합의 증가가 또한 관찰되었다.

표 8

[0755]

공통 변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
돌연변이	서열 번호 (ECD)	결합			CD86 차단 생체분석 (ΔWT)
		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	
T53S, M56K, N58S, L63P, M87V, L98Q, Y105L	575	631192 (1.2)	497901 (0.9)	215054 (50.9)	88.2 (1.3)
I18T, A26T, M55T, M56K, L63P, L98Q, M99L, Y105L	576	759480 (1.4)	657099 (1.1)	89672 (21.2)	40.2 (0.6)
I18T, A26T, M56K, L63P, L98Q, Y105L	577	496119 (0.9)	601631 (1.0)	295395 (69.9)	86.1 (1.2)
T53S, L63P, L98Q	578	564111 (1.1)	571155 (1.0)	11541 (2.7)	86.2 (1.2)
T53S, L63P, Y105L	579	526605 (1.0)	568901 (1.0)	20739 (4.9)	86.4 (1.2)
T53S, M56K, N58S, L63P, M87V, Y105L	581	610377 (1.2)	604604 (1.0)	48034 (11.4)	86.7 (1.3)
L98Q, M99L, Y105L	60	875290 (1.7)	686788 (1.2)	116699 (27.6)	33.9 (0.5)
E33V, L98Q, Y105L	587	811261 (1.5)	580048 (1.0)	101877 (24.1)	32.5 (0.5)
E33V, M99L	590	758165 (1.4)	618183 (1.1)	71903 (17.0)	85.2 (1.2)
T53S, M56K, N58S, L63P, M87V, L98Q	580	347188 (0.7)	555921 (1.0)	7241 (1.7)	82.6 (1.2)
T53S, M56K, N58S, L63P, L98Q, Y105L	582	795550 (1.5)	557059 (1.0)	248668 (58.8)	87.4 (1.3)
T53S, M56K, N58S, M87V, L98Q, Y105L	583	1133587 (2.1)	676071 (1.2)	35087 (8.3)	88.7 (1.3)
T53S, M56K, L63P, M87V, L98Q, Y105L	584	736640 (1.4)	546545 (0.9)	234716 (55.5)	90.1 (1.3)
T53S, N58S, L63P, M87V, L98Q, Y105L	585	637509 (1.2)	508878 (0.9)	108784 (25.7)	86.8 (1.3)
M56K, N58S, L63P, M87V, L98Q, Y105L	586	688049 (1.3)	574298 (1.0)	258574 (61.2)	85.9 (1.2)
E33V, L98Q, M99L,	589	975697 (1.8)	628740 (1.1)	137713 (32.6)	14.1 (0.2)
야생형	2	529140 (1.0)	579615 (1.0)	4228 (1.0)	69.1 (1.0)

[0756] 실시예 8

[0757] 선택 CTLA-4 변이체의 생성 및 분석

[0758] 실시예 1 내지 6에 기재한 선별에서 확인한 변이체 CTLA-4, 구체적으로는 CD80, CD86 및 ICOSL에 대한 향상된 결합 및 인터페론-감마의 억제와 연관된 돌연변이 L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L을 함유하는 서열번호 116에 제시된 변이체로부터의 돌연변이를 갖는 CTLA-4 ECD 변이체의 추가적인 패널을 설계하였다. 일부 경우에, S72G가 포함되었는데, 이것이 억제 활성을 갖는 것으로 확인된 다른 상위 50개의 히트 중 35% 초과에서 생긴 핫 스팟으로서 확인되었기 때문이다. 일부 생성된 변이체에 대해, 예를 들어, 변이체에서 돌연변이 수를 감소시키기 위해, 전략은 일부 돌연변이(복귀 돌연변이)의 제거를 포함하였다. 서열번호 2에 제시된 야생형 서열에 관한 부위-지정 돌연변이유발에 의해 변이체 CTLA-4 ECD를 생성하였고, 이어서, 실시예 4에 기재한 바와 같은 Fc 융합 단백질로서 형식화시켰다. 실시예 7에 기재한 바와 같이 결합 및 생체활성을 위해 변이체 CTLA-4 ECD-Fc 융합을 시험하였다.

[0759] 표 9는 CD80, CD86 및 ICOSL(MFI) 및 저해 CD28 공자극 백분율에 대한 값을 상대적 비에 추가로, 각각의 실험에 대한 비변형 CTLA-4 폴리펩타이드(ΔWT)의 대응하는 결합 및 CD86 차단에 비교하여, 제공한다.

표 9

복귀 변이체 CTLA-4-Fc 폴리펩타이드의 결합 및 생체활성					
	서열 번호 (ECD)	결합			MLR
돌연변이		CD80 MFI (ΔWT)	CD86 MFI (ΔWT)	ICOSL MFI (ΔWT)	CD86 차단 생체분석 (ΔWT)
L12F, R16H, G29W, M56T, L98Q	591	76155 (1.5)	86548 (1.2)	959 (0.8)	72.3 (0.9)
L12F, R16H, G29W, M56T, Y105L	592	73996 (1.4)	72293 (1.0)	1944 (1.7)	77.8 (1.0)
L12F, R16H, G29W, L98Q, Y105L	593	60527 (1.2)	78181 (1.1)	862 (0.7)	89.0 (1.1)
L12F, R16H, M56T, L98Q, Y105L	594	70120 (1.4)	70437 (1.0)	1265 (1.1)	86.8 (1.1)
G29W, M56T, L98Q, Y105L	595	70579 (1.4)	65251 (0.9)	612 (0.5)	88.6 (1.1)
L12F, G29W, L98Q, Y105L	596	66677 (1.3)	85018 (1.2)	807 (0.7)	90.0 (1.1)
L12F, L98Q, Y105L	597	67142 (1.3)	85125 (1.2)	2584 (2.2)	86.9 (1.1)
R16H, L98Q, Y105L	598	67259 (1.3)	70269 (1.0)	1018 (0.9)	89.8 (1.1)
G29W, L98Q, Y105L	599	90170 (1.8)	64097 (0.9)	570 (0.5)	90.0 (1.1)
M56T, L98Q, Y105L	600	68644 (1.3)	70222 (1.0)	700 (0.6)	88.0 (1.1)
L12F, R16H, G29W, M56T, S72G, L98Q, Y105L	601	46175 (0.9)	58464 (0.8)	613 (0.5)	88.3 (1.1)
G29W, M56T, S72G, L98Q, Y105L	602	55706 (1.1)	67962 (0.9)	534 (0.5)	88.6 (1.1)
야생형	2	51269 (1.0)	73502 (1.0)	1160 (1.0)	80.5 (1.0)

[0760]

[0761] **실시예 9**

[0762] **콜라겐-유도 관절염 동물 연구**

[0763] Fc에 융합된 예시적인 CTLA-4 ECD 변이체(G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L; 서열번호 93)를 류마티스 관절염의 뮤린 자가면역 모델에서 평가하였다. 이 모델에서의 활성을 Fc(아바타셉트, 상표명 오렌시아(Orencia)(등록상표) 하에 시판)에 융합된 CTLA-4의 세포외 도메인 및 Fc 단독을 포함하는 융합 단백질에 비교하였다.

[0764] 제0일에, 마우스(연구 시작 시 9 내지 11주의 수컷 DBA/1J)를 고정시키고, 이들의 꼬리를 세정하고 나서, 배부 정맥과 측부 정맥 사이에 콜라겐/CFA 에멀션을 주사기에 의해 주사하였다. 제18일에, 꼬리의 반대측 상에서 유사한 방식으로 콜라겐/IFA 에멀션의 부스터 용량을 주사하였다.

[0765] 제18일에, 마우스(그룹 당 15마리)는 170㎍의 변이체 CTLA-4 ECD-Fc 또는 아바타셉트의 복강내(IP) 주사를 받거나, 또는 112㎍의 Fc 대조군을 받았다. 제20일, 제22일 및 제26일에 IP 주사를 반복하였다.

[0766] 콜라겐/CFA 면역화의 16일 후에 시작해서 콜라겐-유도 관절염(CIA) 징후 동안에 2일마다 마우스를 모니터링하였다. 0 내지 4의 규모로 각각의 발에 대해 CIA를 스코어링하되, "0"은 정상 발을 등급화하고; "1"은 발에 대해 하나의 염증 및 부종이 있는 발가락을 등급화하며; "2"는 발에서 하나 초과이지만, 전체 발은 아닌, 염증 및 부종, 또는 전체 발의 경증의 부종을 등급화하고; "3"은 전체 발 염증 및 부종을 등급화하며; 4는 전체 발이 매우 염증 및 부종이 있거나 교착될 때를 등급화한다(예를 들어, 마우스는 우리 상에서 와이어를 잡을 수 없음). 0 내지 16의 각각의 마우스에 대한 총 CIA 스코어에 대해 각각의 발에 대한 점수를 첨가하였다. 각각의 치료 그룹에 대한 평균 총 발 스코어를 도 7에서 보고한다.

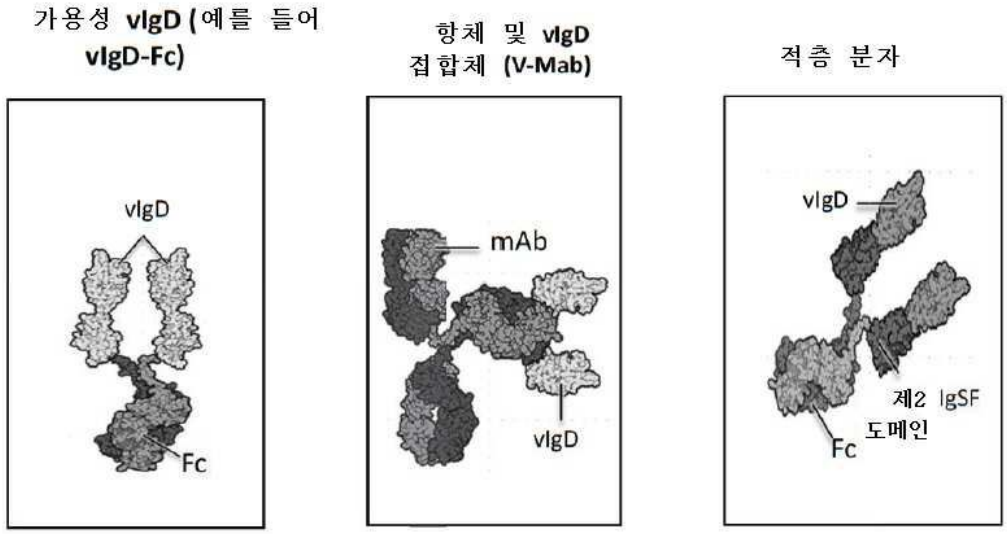
[0767] 도 7에 나타내는 바와 같이, 변이체 CTLA-4 ECD-Fc는 질환 지수 스코어로 결정하여 CIA 진행의 발생 지연으로 나타내는 바와 같은 다른 그룹에 비해 실질적으로 감소된 CIA를 나타내었다. 이들 결과는 임상 벤치마크 아바타셉트(상표명 오렌시아(등록상표) 하에 시판)에 비해 잠재적으로 우수한 방식으로 이 모델에서 면역 반응을 조절하는 공자극 신호전달을 차단하는 활성을 나타내는 변이체 CTLA-4 ECD-Fc와 일치된다.

[0768] 본 발명은 예를 들어, 본 발명의 다양한 양상을 예시하기 위해 제공하는 특정 개시된 실시형태에 대한 범주로 제한하는 것으로 의도하지 않는다. 기재된 조성물 및 방법에 대한 다양한 변형은 본 명세서의 설명 및 교시로부

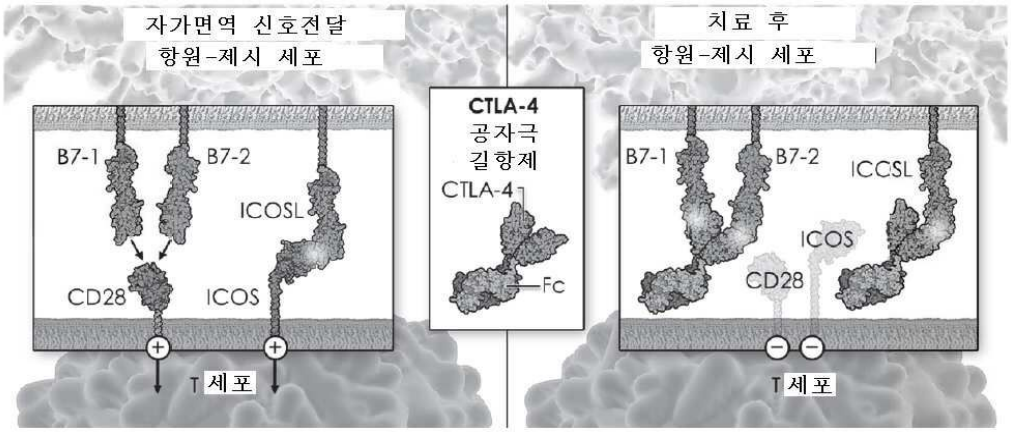
터 분명하게 될 것이다. 이러한 변형은 본 개시내용의 진정한 범주 및 정신으로부터 벗어나는 일 없이 실행될 수 있으며, 본 개시내용의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

도면

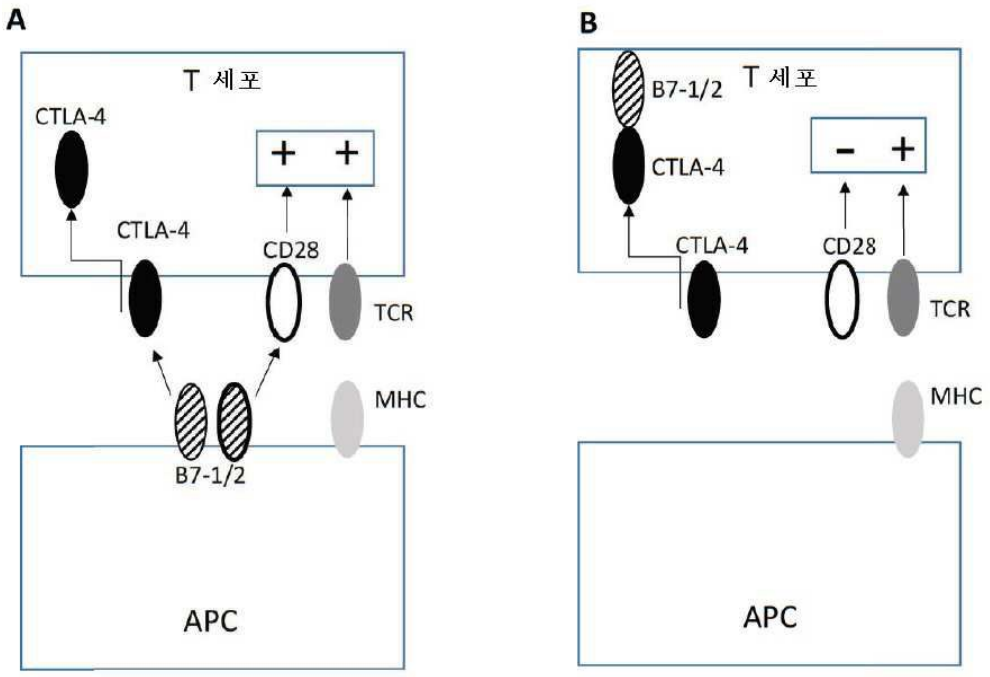
도면1



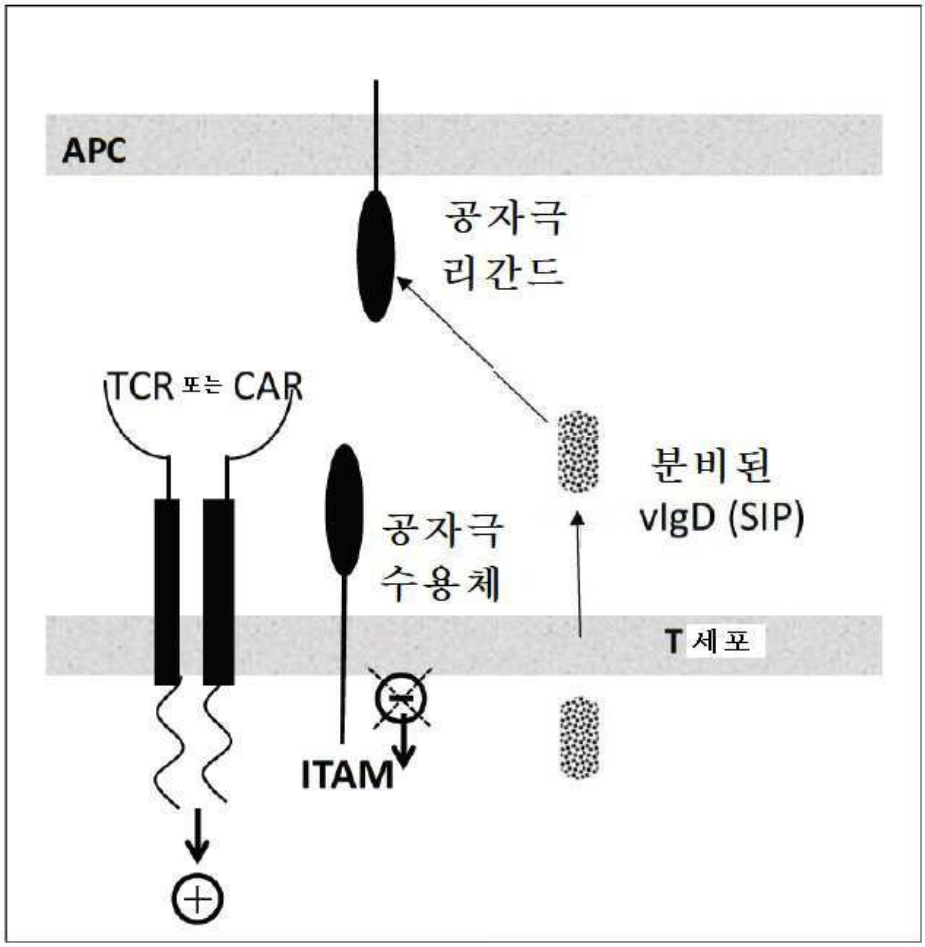
도면2



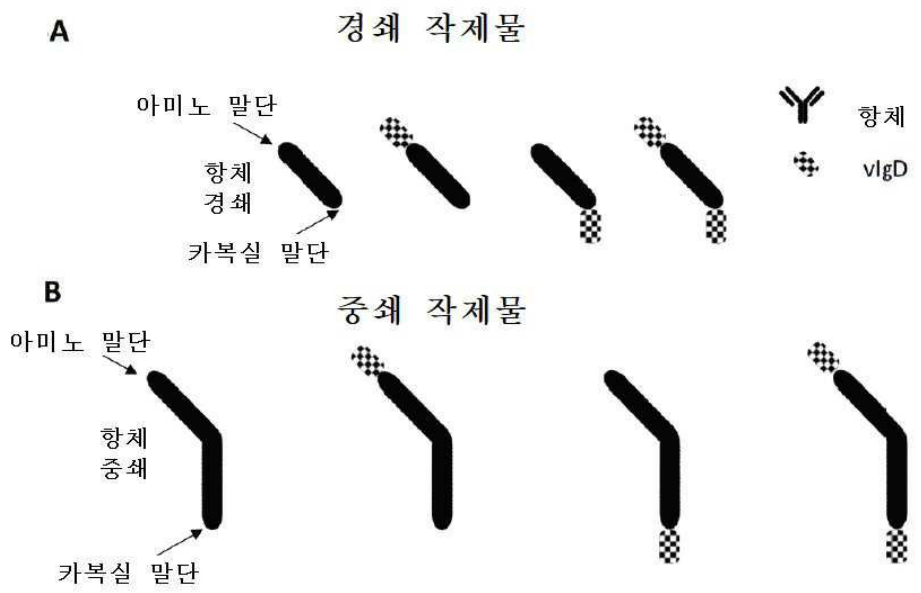
도면3


A
T 세포
CTLA-4
+ +
CTLA-4
CD28
TCR
MHC
B7-1/2
APC
B
B7-1/2
T 세포
CTLA-4
- +
CTLA-4
CD28
TCR
MHC
APC

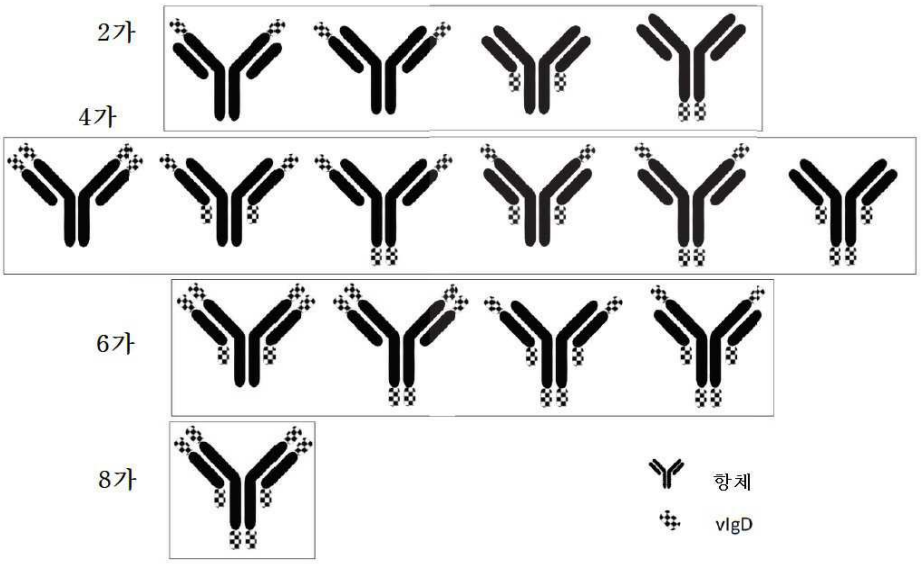
도면4


APC
공자극
리간드
TCR 또는 CAR
분비된
vIgD (SIP)
공자극
수용체
T 세포
ITAM

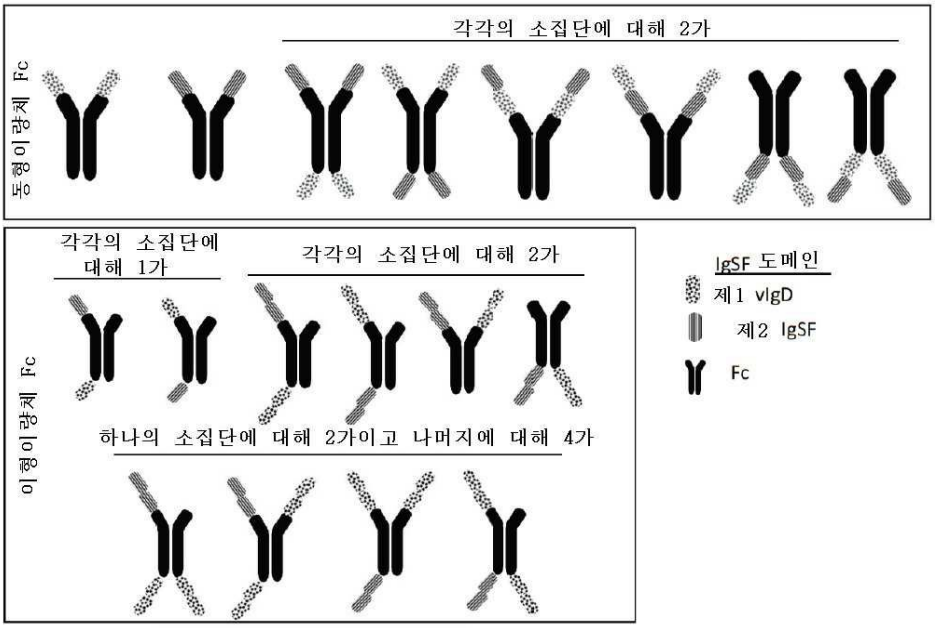
도면5ab


A
경쇄 작제물
아미노 말단
항체
경쇄
카복실 말단
항체
vIgD
B
중쇄 작제물
아미노 말단
항체
중쇄
카복실 말단

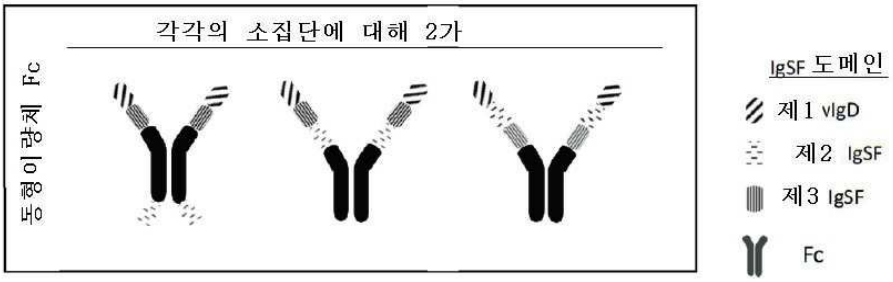
도면5c


2가
4가
6가
8가
항체
vIgD

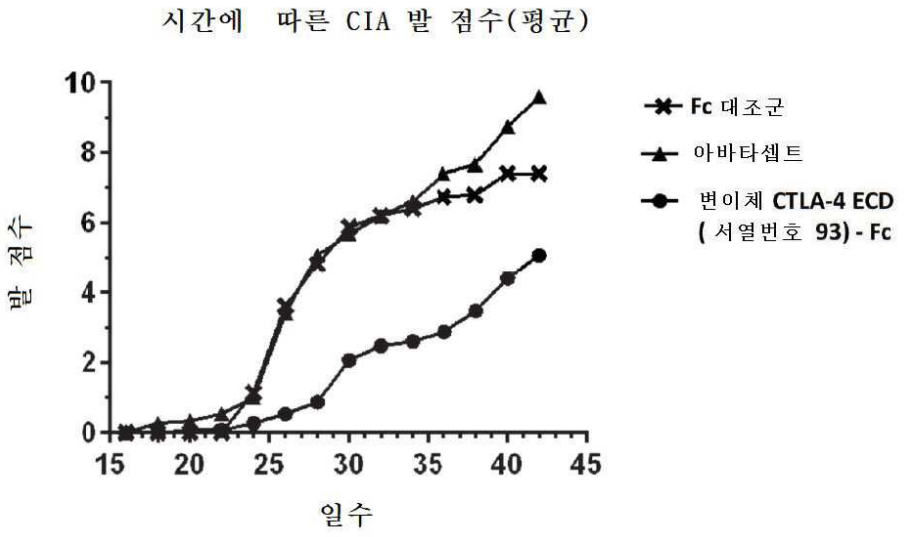
도면6a



도면6b



도면7



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Alpine Immune Sciences, Inc.

<120> CTLA-4 VARIANT IMMUNOMODULATORY PROTEINS AND USES THEREOF

<130> WO/2019/074983

<140> PCT/US2018/055095

<141> 2018-10-09

<150> US 62/570,619

<151> 2017-10-10

<150> US 62/613,379

<151> 2018-01-03

<150> US 62/733,615

<151> 2018-09-19

<160> 638

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala
1 5 10 15

Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro
20 25 30

Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
35 40 45

Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly
50 55 60

Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
85 90 95

Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
100 105 110

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

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

Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220
<210> 2
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CTLA-4 ECD (36-161 of P16410)
<400> 2
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

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

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 3

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> unmodified CTLA-4 IgV (39-140 of P16410)

<400> 3

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 4

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 4

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

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

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125
<210> 5
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/L98R/N110K ECD
<400> 5
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

85 90 95

Glu Arg Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Lys Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 6
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T ECD
<400> 6

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 7
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T/L63P ECD

<400> 7

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 8

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 8

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 9

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/Y105L ECD

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 10

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P ECD

<400> 10

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 11

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98R/N110K ECD

<400> 11

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

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

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 12
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 12

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

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 13

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 13

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

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

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 14

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 14

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 15

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L ECD

<400> 15

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Asn Ser Cys

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Thr Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 16

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M ECD

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Arg Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Met Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 17

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I ECD

<400> 17

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

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

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 18

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/Y105L ECD

<400> 18

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 19

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M ECD

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Met Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 20

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 21

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 22

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/V116A ECD

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

<210> 23

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 23

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 24

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T37S/M56V/L98Q/Y105L ECD

<400> 24

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

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

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 25
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L ECD
<400> 25

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

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

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 26
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L ECD
<400> 26

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

<210> 27
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M ECD
<400> 27

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

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

115 120 125
<210> 28
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 28
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

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

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 29
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> E33M/A42T/L98Q/Y105L ECD
<400> 29

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

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

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 30
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/E97Q/M99L/Y105F ECD

<400> 30

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 31

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 31

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

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

<210> 32
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L ECD
<400> 32

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

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

<210> 33

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I ECD

<400> 33

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 34

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 34

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Leu Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 35

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 35

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

1 5 10 15

Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 36

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 36

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 37

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 38

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T ECD

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 39

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequnece

<220><223> L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N ECD

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Asn Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 40

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L ECD

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 41

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 42

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L ECD

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 43

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/M55T/E59D/L63P/M99L ECD

<400> 43

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Asp Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 44

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V ECD

<400> 44

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 45

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 45

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 46

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 46

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ala Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 47

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 47

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 48

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 49

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F ECD

<400> 49

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

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

<210> 50

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 50

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Asn Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe His Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 51

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y ECD

<400> 51

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Ser Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Tyr Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 52
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S ECD
<400> 52

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

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

<210> 53
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD
<400> 53

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

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

<210> 54
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 54
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Thr Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 55
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 55

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

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

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 56
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 56

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 57

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56V ECD

<400> 57

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

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 58

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/K95R ECD

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Arg Val

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 59

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q ECD

<400> 59

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 60

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 60

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

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

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 61
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/M87K/M99L/L106R ECD
<400> 61

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

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 62

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/M99L/Y105L/I108F ECD

<400> 62

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

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

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 63

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 63

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 64

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56T/L91R/L98Q/Y105L ECD

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 65

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/M87V/N110K/I117E ECD

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Glu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 66

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 66

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

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

115 120 125

<210> 67

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q ECD

<400> 67

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

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Gly Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 68

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 69

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 69

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 70

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 70

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 71

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L ECD

<400> 71

Lys Ala Met His Val Thr Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 72

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 72

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

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

115 120 125

<210> 73

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 73

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

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Val

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 74

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 74

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 75

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K ECD

<400> 75

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

1 5 10 15

Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Glu

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 76

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 77

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 77

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 78

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L ECD

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Arg Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 79

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 79

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Gln Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 80

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 80

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Arg Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

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

<210> 81
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 81
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125
<210> 82
<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F ECD

<400> 82

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Leu Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Phe Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 83

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T ECD

<400> 83

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 84
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 84

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

<210> 85

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 85

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 86

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I ECD

<400> 86

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 87

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Arg Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 88

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L ECD

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Ala Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 89

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 89

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

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Asp Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 90
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H ECD
<400> 90
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Ala Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp His Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 91

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 92

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 93

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L ECD

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 94

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L ECD

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 95

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 95

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Asn Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 96

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R ECD

<400> 96

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Arg Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 97

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 98

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Green fluorescent protein

<400> 98

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

1 5 10 15

Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu Gly

20 25 30

Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys Thr

35 40 45

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

50 55 60

Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys Gln His

65 70 75 80

Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg Thr

85 90 95

Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val Lys

100 105 110

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

115 120 125

Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn Tyr

130 135 140

Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly Ile

145 150 155 160

Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val Gln

165 170 175

Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro Val

180 185 190

Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser Lys

195 200 205

Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val Thr
210 215 220

Ala Ala Gly Ile Thr His Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
225 230 235

<210> 99

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 99

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ile Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 100

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 100

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

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

<210> 101
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N ECD
<400> 101
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asn Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 102
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A ECD
<400> 102
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Arg Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Ala Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 103
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 103

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 104

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 104

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

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

<210> 105
<211> 237
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> enhanced green fluorescent protein (eEGFP)
<400> 105
Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val Glu
1 5 10 15
Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu Gly
20 25 30
Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys Thr
35 40 45

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

Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly Ile Asp
115 120 125

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

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

<210>
106
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> T53S/M56V/L98Q/Y105L ECD
<400> 106
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 107

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 107

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 108

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 108

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

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

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125
<210> 109
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L ECD
<400> 109
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

65 70 75 80

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

<210> 110
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD
<400> 110

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

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

<210> 111
<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I ECD

<400> 111

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 112

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 112

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 113
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L ECD
<400> 113

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

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

<210> 114

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L ECD

<400> 114

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

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

<210> 115

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 115

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

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 116

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L ECD

<400> 116

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 117

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 117

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 118

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I ECD

<400> 118

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 119

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 120

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I ECD

<400> 120

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 121

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 121

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 122

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 122

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

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

<210> 123
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H ECD
<400> 123
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

His Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125
<210> 124
<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V ECD

<400> 124

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Val Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 125

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 125

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 126

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 126

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asp Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Val Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 127

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 127

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Val Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile His Gly Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 128

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I ECD

<400> 128

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Gly Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 129

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 129

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 130

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 131

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S ECD

<400> 131

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asp Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Arg Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 132

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 132

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 133

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 133

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Arg Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 134

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L ECD

<400> 134

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asn Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 135

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 136
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD
<400> 136
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Leu Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

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

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125
<210> 137
<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L ECD

<400> 137

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Ile Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 138

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S ECD

<400> 138

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

1 5 10 15

Gly Phe Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 139

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V ECD

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 140

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L ECD

<400> 140

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Val Asp Ser His Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Asn Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Gln Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 141

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E ECD

<400> 141

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Glu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 142

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L ECD

<400> 142

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 143

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H ECD

<400> 143

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Ile

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile His Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 144

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Asn Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 145

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K ECD

<400> 145

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ser Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Lys Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 146

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 146

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

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Arg Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 147

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 147

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

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

115 120 125

<210> 148

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F ECD

<400> 148

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 149

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L ECD

<400> 149

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser His

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ser Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 150

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S ECD

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 151

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S ECD

<400> 151

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 152

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 152

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 153

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V ECD

<400> 153

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 154

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 154

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 155

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S ECD

<400> 155

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 156

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L IgV

<400> 156

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 157

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98R IgV domain (of L63P/L98R/N110K - IgV doesn't contain N110 residue)

<400> 157

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

35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Arg Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 158
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T IgV domain
<400> 158
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 159

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P IgV domain

<400> 159

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 160

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 160

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 161

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/Y105L IgV domain

<400> 161

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 162

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P IgV domain

<400> 162

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 163

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98R IgV domain (of L98R/N110K - IgV doesn't contain N110 residue)

<400> 163

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Arg Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 164

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 164

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 165

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 165

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

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile His Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 166
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400> 166
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

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

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 167

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L IgV domain

<400> 167

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

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Ala Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Thr Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 168

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L IgV domain

<400> 168

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Pro Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Arg Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 169

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L IgV domain

<400> 169

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asp Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Ile Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 170

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/Y105L IgV domain

<400> 170

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 171

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 171

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 172

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 172

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 173

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T37S/M56V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 173

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Ser Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 174

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L IgV domain

<400> 174

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Phe Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 175

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L IgV domain

<400> 175

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Ser Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 176

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V22I/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 176

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Ile Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

<210> 177
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400> 177
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

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

<210> 178

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/A42T/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 178

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

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 179

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/E97Q/M99L/Y105F IgV domain

<400> 179

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe

100

<210> 180

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 180

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 181

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 181

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Cys Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Val Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 182

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56L/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 182

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Leu Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 183
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400> 183
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Pro Arg Gly Val Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

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

<210> 184
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 184

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 185

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 185

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile His Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 186

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L IgV domain

<400> 186

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 187

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 187

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 188
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 188
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

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

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 189
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/M55T/E59D/L63P/M99L IgV domain

<400> 189

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Asp Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 190

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 190

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 191
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400> 191
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

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

<210> 192
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400
> 192
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ala Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 193

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 193

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 194

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 194

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Leu Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 195

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12I/M55T/M56V/I67T/M99L IgV domain

<400> 195

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Ile Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Thr
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 196
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L IgV domain
<400> 196
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Asn Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

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

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 197
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 197

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Arg Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Ser Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 198

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 198

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Asn Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Thr Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Thr Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 199
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 199
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

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

<210> 200
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 200
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Thr Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 201

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 201

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asn Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 202

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 202

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 203

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56V IgV domain

<400> 203

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 204
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/K95R IgV domain
<400> 204
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

<210> 205
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q IgV domain

<400> 205

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 206

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 206

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 207

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/M87K/M99L IgV domain

<400> 207

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 208

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/M99L/Y105L IgV domain

<400> 208

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 209

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 209

His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 210

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56T/L91R/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 210

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Arg Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 211

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/M87V IgV domain

<400> 211

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 212

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 212

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 213

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q IgV domain

<400> 213

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

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

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr
100

<210> 214

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 214

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

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

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 215
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 215

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

35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 216
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 216

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 217

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L IgV domain

<400> 217

His Val Thr Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 218

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400

> 218

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Gly Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 219

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 219

His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 220

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 220

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asn Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 221

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 221

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Val Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

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

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 222

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 222

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

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

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 223

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 223

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Met Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 224

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L IgV domain

<400> 224

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

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

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Arg Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 225

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 225

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Gln Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 226

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 226

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Arg Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 227

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 227

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 228

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Q41L/Y54F/M56K/M99L IgV domain

<400> 228

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Leu Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Phe Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 229

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 229

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

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

<210> 230

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 230

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

50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 231

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 231

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Met Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 232

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 232

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Arg Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 233

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 233

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Ala Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 234

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 234

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

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

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 235

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 235

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

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 236

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 236

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 237

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 237

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

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

<210> 238

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 238

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

50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Arg Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 239

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400

> 239

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Asn

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 240

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 240

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 241

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 241

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Asn Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 242

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 242

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

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

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 243

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 243

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

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ile Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 244

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 244

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Ile Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 245

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 245

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

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

<210> 246

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 246

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

50 55 60
Cys Ala Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 247

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400

> 247

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 248

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 248

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Gly Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 249

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T53S/M56V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 249

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 250

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 250

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

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

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 251

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 251

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

35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 252

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 252

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 253

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 253

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Val Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 254

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 254

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 255

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 255

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 256

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 256

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 257

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 257

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 258

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 258

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 259

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 259

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 260

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 260

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 261

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 261

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

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

<210> 262

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 262

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

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 263

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 263

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 264

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 264

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Val

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile His Gly

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 265

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 265

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Gly Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 266

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 266

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Ala Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Arg Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 267

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 267

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 268

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L IgV domain

<400> 268

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg Gly Val Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asp Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Arg Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 269

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 269

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

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

<210> 270

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 270

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

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Arg Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 271

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 271

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 272

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 272

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 273

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L IgV domain

<400> 273

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile His Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Ile

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 274

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 274

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Phe Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 275

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L IgV domain

<400> 275

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Val Asp Ser His Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Asn

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Gln Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 276

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 276

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 277

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 277

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Ile Glu Gln Leu
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 278

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 278

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Asn Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 279

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 279

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ser Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 280

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 280

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Arg Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 281

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 281

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 282

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L IgV domain

<400> 282

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser His Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ser Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 283

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 283

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

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

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 284

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 284

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 285

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 285

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

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

<210> 286

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 286

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

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 287

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98R/N110K CTLA4-Fc

<400> 287

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Arg Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

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

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 288
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T CTLA4-Fc
<400> 288
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

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

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 289
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/A26T/L63P CTLA4-Fc
<400> 289
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 290

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 290

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 291

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 291

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

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

355 360

<210> 292
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P CTLA4-Fc
<400> 292
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

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

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

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

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

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

355 360

<210> 293

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98R/N110K CTLA4-Fc

<400> 293

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Arg Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Lys Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 294

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 294

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

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

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

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

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 295

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/Q82H/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 295

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

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile His Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

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

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

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

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

355 360

<210> 296

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 296

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 297

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S14N/R16C/I18T/M56K/T61A/L63P/A86T/M99L CTLA4-Fc

<400> 297

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Asn Ser Cys

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Thr Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 298

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S27P/M56K/L63P/S72G/S73R/T89A/M99L/Y105L/I117M CTLA4-Fc

<400> 298

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Arg Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

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

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

340 345 350

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

355 360

<210> 299

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56K/L63P/N75D/V96I/M99L/Y105L/L106I CTLA4-Fc

<400> 299

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asp Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Ile

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 300

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/Y105L CTLA4-Fc

<400> 300

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 301

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/I117M CTLA4-Fc

<400> 301

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Met Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 302

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L CTLA4-Fc

<400> 302

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 303

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L CTLA4-Fc

<400> 303

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

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

355 360

<210> 304
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/L98Q/V116A CTLA4-Fc
<400> 304
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

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

100 105 110

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

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

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

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

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

355 360

<210> 305

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 305

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 306

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T37S/M56V/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 306

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

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

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 307

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/Y54F/M56K/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 307

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

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Phe Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

```
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys


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


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


            260                 265                 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        275                 280                 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    290                 295                 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305                 310                 315                 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln


                325                 330                 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            340                 345                 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
```

355 360

<210> 308

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/I18T/A26T/M55T/T69S/S72G/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 308

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Ser Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

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

195 200 205

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

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

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 309
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> V22I/L63P/L98Q/Y105L/I117M CTLA4-Fc
<400> 309
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Ile Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

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

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

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

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 310

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 310

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 311

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/A42T/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 311

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 312

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/E97Q/M99L/Y105F CTLA4-Fc

<400> 312

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

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

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

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

<210> 313

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 313

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

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

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 314

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R16C/G29W/E33V/M55T/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 314

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Cys
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

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

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

<210> 315

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106I CTLA4-Fc

<400> 315

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

35 40 45

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

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

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

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

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

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

<210> 316

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56L/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L CTLA4-Fc

<400> 316

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

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

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360

<210> 317

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S15P/I18V/M56T/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 317

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Pro Arg
1 5 10 15

Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

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

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

<210> 318

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/G29W/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 318

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

35 40 45

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

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

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

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

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

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

<210> 319

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/Q82H/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 319

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

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

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

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

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

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

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305                 310                 315                 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
                325                 330                 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
            340                 345                 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        355                 360
<210>  320
```

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117T CTLA4-Fc

<400> 320

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

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

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

<210> 321

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N CTLA4-Fc

<400> 321

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

35 40 45

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

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

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 322

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M55T/L63P/T71I/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 322

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 323

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 323

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 324

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26T/L63P/Q82R/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 324

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 325

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/M55T/E59D/L63P/M99L CTLA4-Fc

<400> 325

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Asp Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 326

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108V CTLA4-Fc

<400> 326

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Val Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 327

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 327

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 328

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T61A/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 328

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ala Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 329

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V38I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 329

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Ile Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 330

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/I93L/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 330

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Leu Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 331

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12I/M55T/M56V/I67T/M99L/L106R/I108F CTLA4-Fc

<400> 331

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Ile Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Thr Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Arg Gly Phe Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 332

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18N/A26T/L63H/T89A/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 332

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Asn Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe His Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 333

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/E48R/L63P/T69S/L98Q/Y105L/N110Y CTLA4-Fc

<400> 333

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Arg

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Ser Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Tyr Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 334

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18N/L63P/S72T/M87T/L98Q/Y105L/N110S CTLA4-Fc

<400> 334

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Asn Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Thr Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Thr Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Ser Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 335

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M56T/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L CTLA4-Fc

<400> 335

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 336

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/M87T/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 336

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Thr Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 337

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/D64N/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 337

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asn
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 338

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/L63P/S72G/M87K/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 338

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 339

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56V CTLA4-Fc

<400> 339

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 340

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/K95R CTLA4-Fc

<400> 340

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Arg Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360
<210> 341
<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q CTLA4-Fc

<400> 341

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 342

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 342

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 343
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/M87K/M99L/L106R CTLA4-Fc
<400> 343
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95
Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Arg Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 344

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/M99L/Y105L/I108F CTLA4-Fc

<400> 344

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 345
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> V10A/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc
<400> 345
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 346

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56T/L91R/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 346

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Arg Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 347

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/M87V/N110K/I117E CTLA4-Fc

<400> 347

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Glu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 348

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 348

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 349

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/V46E/L63P/D65G/L98Q CTLA4-Fc

<400> 349

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Glu Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Gly Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 350

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 350

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 351

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/E59G/L63P/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 351

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 352

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12H/L63P/S72G/L98Q/Y105L CTLA4-Fc

<400> 352

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 353

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A6T/A26T/M55T/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 353

Lys Ala Met His Val Thr Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 354

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/D65G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 354

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Gly Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 355

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/L63P/D64V/S72G/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 355

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Val

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 356

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/D43N/N58S/L63P/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 356

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asn Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 357

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18V/A26T/L63P/D64E/L98Q/Y105L/L106R/N110K CTLA4-Fc

<400> 357

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Glu
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Arg Gly Ile Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 358

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A19V/G29W/R35K/L63P/L98Q/M99L/Y105L CTLA4-Fc

<400> 358

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Val Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Lys Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 359

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/A26T/L63P/S72G/T89M/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 359

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Met Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 360

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98R/M99L/Y105L-Fc

<400> 360

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Leu Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Arg Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 361

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E24Q/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 361

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Gln Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 362

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/G29R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 362

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Arg Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 363

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 363

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

```
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
                85                  90                  95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
            100                 105                 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
    130                 135                 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145                 150                 155                 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                165                 170                 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

            180                 185                 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        195                 200                 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    210                 215                 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225                 230                 235                 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

                245                 250                 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
            260                 265                 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        275                 280                 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
    290                 295                 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
```

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 364

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Q41L/Y54F/M56K/M99L/I108F-Fc

<400> 364

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Leu Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Phe Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 365

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117T-Fc

<400> 365

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 366

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> M56R/L63P/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 366

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Arg Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 367

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 367

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 368

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/L106I-Fc

<400> 368

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 369
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> A26T/M55R/L98Q/M99L/Y105L-Fc
<400> 369
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Arg Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 370

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/M87A/L98Q/Y105L-Fc

<400> 370

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Ala Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 371

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26D/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 371

```
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1               5                  10                  15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Asp Ser Pro Gly Lys Ala Thr
            20                  25                  30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
        35                  40                  45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

    50                  55                  60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
                85                  90                  95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
            100                 105                 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
    130                 135                 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145                 150                 155                 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                165                 170                 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

            180                 185                 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        195                 200                 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    210                 215                 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225                 230                 235                 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
```

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 372

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V22A/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P119H-Fc

<400> 372

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Ala Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp His Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 373

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 373

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 374
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> E33V/A42S/M55T/L98Q/M99L/Y105L-Fc
<400> 374
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ser Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360
<210> 375
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/N58S/L63P/Q82R/L98Q/Y105L-Fc
<400> 375
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 376

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L-Fc

<400> 376

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 377

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/I67N/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 377

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Asn Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 378
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12F/A26T/L63P/L98Q/Y105L/L106R-Fc
<400> 378
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Arg Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 379

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> S20N/A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 379

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Asn Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 380

<

211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Blue fluorescent protein

<400> 380

Ser Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met His Met Lys Leu Tyr Met Glu Gly
1 5 10 15

Thr Val Asp Asn His His Phe Lys Cys Thr Ser Glu Gly Glu Gly Lys
20 25 30
Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr Met Arg Ile Lys Val Val Glu Gly Gly
35 40 45
Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr Ser Phe Leu Tyr Gly

50 55 60
Ser Lys Thr Phe Ile Asn His Thr Gln Gly Ile Pro Asp Phe Phe Lys
65 70 75 80
Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg Val Thr Thr Tyr Glu
85 90 95
Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln Asp Gly
100 105 110
Cys Leu Ile Tyr Asn Val Lys Ile Arg Gly Val Asn Phe Thr Ser Asn

115 120 125
Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Gly Trp Glu Ala Phe Thr Glu
130 135 140
Thr Leu Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Asn Asp Met Ala
145 150 155 160
Leu Lys Leu Val Gly Gly Ser His Leu Ile Ala Asn Ile Lys Thr Thr
165 170 175
Tyr Arg Ser Lys Lys Pro Ala Lys Asn Leu Lys Met Pro Gly Val Tyr

180 185 190
Tyr Val Asp Tyr Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asn Asn Glu Thr
195 200 205
Tyr Val Glu Gln His Glu Val Ala Val Ala Arg Tyr Cys Asp Leu Pro
210 215 220
Ser Lys Leu Gly His Lys Leu Asn
225 230
<210> 381
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T61I/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 381

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ile Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 382

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/T69I/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 382

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Ile Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 383

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N-Fc

<400> 383

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asn Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 384
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/T69A/L98Q/M99L/Y105L/L106R/V116A-Fc

<400> 384

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Ala Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Arg Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Ala Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 385

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 385

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 386
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/L63P/D65G/S72G/L98Q/Y105L-Fc
<400> 386

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Gly Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 387

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Blue fluorescent protein

<400> 387

Ser Arg Ser Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met His Met Lys Leu Tyr Met
1 5 10 15
Glu Gly Thr Val Asp Asn His His Phe Lys Cys Thr Ser Glu Gly Glu
20 25 30
Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr Met Arg Ile Lys Val Val Glu
35 40 45

Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr Ser Phe Leu
50 55 60
Tyr Gly Ser Lys Thr Phe Ile Asn His Thr Gln Gly Ile Pro Asp Phe
65 70 75 80
Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg Val Thr Thr
85 90 95
Tyr Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln
100 105 110

Asp Gly Cys Leu Ile Tyr Asn Val Lys Ile Arg Gly Val Asn Phe Thr
115 120 125
Ser Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Trp Glu Ala Phe Thr
130 135 140
Glu Thr Leu Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Asn Asp Met
145 150 155 160
Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Ser His Leu Ile Ala Asn Ile Lys Thr
165 170 175

Thr Tyr Arg Ser Lys Lys Pro Ala Lys Asn Leu Lys Met Pro Gly Val
180 185 190
Tyr Tyr Val Asp Tyr Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asn Asn Glu
195 200 205
Thr Tyr Val Glu Gln His Glu Val Ala Ala Arg Tyr Cys Asp Leu Pro
210 215 220
Ser Lys Leu Gly His Lys Leu Asn
225 230

<210> 388

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T53S/M56V/L98Q/Y105L-Fc

<400> 388

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 389
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 389
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 390

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18A/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 390

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ala Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 391

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L-Fc

<400> 391

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 392
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18V/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc
<400> 392
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 393

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I-Fc

<400> 393

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 394

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/I67V/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 394

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Val Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 395

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M55V/E59G/L63P/L98Q/Y105L-Fc

<400> 395

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Val Met Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 396

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I117L-Fc

<400> 396

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 397

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L-Fc

<400> 397

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 398

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q/Y105L-Fc

<400> 398

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 399

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 399

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 400

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I-Fc

<400> 400

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 401

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I/I117L-Fc

<400> 401

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 402

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106I-Fc

<400> 402

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 403

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/T53S/L63P/L98Q/Y105L/L106I/I117L-Fc

<400> 403

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 404

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/M87V/L98Q/Y105L-Fc

<400> 404

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 405

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/S72G/Q76R/L98Q/Y105L/L106I/Q113H-Fc

<400> 405

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Arg Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

His Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 406

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58S/L63P/S72G/L98Q/Y105L/L106V-Fc

<400> 406

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Val Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 407

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/L63P/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 407

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 408

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/N58D/I67V/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 408

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asp Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Val Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 409

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I67V/S72G/Q82H/T89A/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 409

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Val Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile His Gly Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 410
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> S72G/R85G/L98Q/M99L/Y105L/L106I-Fc
<400> 410
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Gly Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 411
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> A26T/T47A/M56K/L63P/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L-Fc
<400> 411
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Ala Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 412

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/M55T/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 412

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 413
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12H/I18V/A42T/M55T/N58D/L98R/Y105L/L106I/P121S-Fc
<400> 413
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Val Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Met Gly Asp Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Arg Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 414

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/A26T/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc

<400> 414

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 415

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12F/K30R/S72G/Q82R/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 415

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Arg Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Arg Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 416
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/L106N/I117L-Fc
<400> 416
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asn Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 417

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 417

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 418

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P28L/E33V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 418

```
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1               5                  10                  15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Leu Gly Lys Ala Thr
            20                  25                  30
Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
        35                  40                  45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
    50                  55                  60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
                85                  90                  95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
            100                 105                 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
    130                 135                 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145                 150                 155                 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                165                 170                 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
            180                 185                 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        195                 200                 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    210                 215                 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225                 230                 235                 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
```

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 419

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/L63P/Q82H/L98Q/M99I/Y105L-Fc

<400> 419

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile His Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Ile Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360
<210> 420
<
211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18F/L63P/L98Q/M99L/Y105L/P121S-Fc
<400> 420
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Phe Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 421

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63P/L98Q/M99L/Y105L/I108V-Fc

<400> 421

```
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1               5                  10                  15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
            20                  25                  30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
        35                  40                  45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

    50                  55                  60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
                85                  90                  95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Val Gly Asn Gly Thr
            100                 105                 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
    130                 135                 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145                 150                 155                 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
                165                 170                 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

            180                 185                 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
        195                 200                 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
    210                 215                 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225                 230                 235                 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
```

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 422

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> A26T/A42V/Q45H/I67N/M87K/E97Q/M99L-Fc

<400> 422

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Val Asp Ser His Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Asn Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Gln Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 423
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> M56V/E59G/L63P/S72G/M87K/I93V/L98Q/M99L/Y105L/I117E-Fc
<400> 423

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Gly Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Thr Gly Leu Tyr Val Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Glu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 424
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/M87K/T89S/L98Q/M99L/Y105L/I108V/I117L-Fc
<400> 424
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Lys Asp Ser Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Val Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 425

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/M56V/L63P/V96I/L98Q/M99L/Y105L/Y115H-Fc

<400> 425

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Ile

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile His Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 426

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/T61N/L63P/L98Q/Y105L-Fc

<400> 426

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Asn Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
355 360

<210> 427
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> I18T/A26S/M55T/M56V/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L/I117K-Fc
<400> 427
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ser Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Lys Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 428

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I18T/T61R/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 428

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Arg Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 429

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/L63P/S72G/L98Q/M99L/Y105L-Fc

<400> 429

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 430
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> E33M/L63P/S72G/L98Q/Y105L/I108F-Fc
<400> 430
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Phe Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 431

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L12P/R16H/A26T/T61S/L63P/M87V/L98Q/M99L/Y105L/L106I/I117L-Fc

<400> 431

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Pro Ala Ser Ser His

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Ser Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Leu Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 432

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/P121S-Fc

<400> 432

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 433
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S-Fc
<400> 433
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 434

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L-Fc

<400> 434

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 435

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G29W/T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L/I108V-Fc

<400> 435

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Val Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu

145 150 155 160

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

225 230 235 240
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 436
<211> 364
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> G29W/T53S/L63P/S72G/L98Q/Y105L-Fc
<400> 436
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

275 280 285

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 437

<

211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V10A/G29W/T53S/M56K/L63P/L98Q/Y105L/P121S-Fc

<400> 437

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Ala Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Asp Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
130 135 140
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu
145 150 155 160
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
275 280 285
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
290 295 300

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

355 360

<210> 438

<

211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc deltaK (homodimeric)

<400> 438

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 439

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc (homodimeric)

<400> 439

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 440

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc (C220S/R292C/N297G/V302C)

<400> 440

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 441

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc (C220S/L234A/L235E/G237A)

<400> 441

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 442

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc (C220S/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K)

<400> 442

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 443

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD80(B7-1)

<400> 443

Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr
1 5 10 15
Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys
20 25 30
Ser Gly Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu

35 40 45
Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile
50 55 60
Tyr Trp Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp
65 70 75 80
Met Asn Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr
85 90 95
Asn Asn Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly

100 105 110
Thr Tyr Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg
115 120 125
Glu His Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr
130 135 140
Pro Ser Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile
145 150 155 160
Ile Cys Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu

165 170 175
Glu Asn Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp
180 185 190
Pro Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met
195 200 205
Thr Thr Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg
210 215 220
Val Asn Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro

225 230 235 240
Asp Asn Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly

245 250 255

Ile Phe Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg

260 265 270

Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val

275 280 285

<210> 444

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD86 (B7-2)

<400> 444

Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe

20 25 30

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln

35 40 45

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val

50 55 60

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

65 70 75 80

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

85 90 95

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

100 105 110

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser

115 120 125

Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile

130 135 140

Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile

145 150 155 160

His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys
165 170 175
Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn

180 185 190
Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro
195 200 205
Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys
210 215 220
Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln
225 230 235 240
Pro Pro Pro Asp His Ile Pro Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val

245 250 255
Ile Ile Cys Val Met Val Phe Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys
260 265 270
Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu
275 280 285
Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro
290 295 300
Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser

305 310 315 320
Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe
325

<210> 445
<211> 290
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD274 (PD-L1, B7-H1)
<400> 445
Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15
Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45
Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60
Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80
Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110
Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
115 120 125
Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val
130 135 140
Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
165 170 175
Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
180 185 190
Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
195 200 205
Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
225 230 235 240
Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
245 250 255
Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
275 280 285

Glu Thr
290

<210> 446
<211> 273
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> PDCD1LG2 (PD-L2, CD273)
<400> 446

Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
1 5 10 15
Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
20 25 30
Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
35 40 45

His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn
50 55 60
Asp Thr Ser Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu
65 70 75 80
Pro Leu Gly Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp
85 90 95
Glu Gly Gln Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr
100 105 110

Lys Tyr Leu Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr
115 120 125
His Ile Leu Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln
130 135 140
Ala Thr Gly Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val
145 150 155 160
Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val

165 170 175

Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys
180 185 190
Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
195 200 205
Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His
210 215 220
Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val
225 230 235 240

Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp
245 250 255
Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala
260 265 270
Ile

<210> 447
<211> 302
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> ICOSLG (B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2)
<400> 447
Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu
1 5 10 15

Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp
20 25 30
Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn
35 40 45
Asp Val Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr
50 55 60
Tyr His Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr

65 70 75 80

Arg Asn Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe
85 90 95
Ser Leu Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His
100 105 110
Cys Leu Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val
115 120 125
Glu Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser
130 135 140

Ala Pro His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser
145 150 155 160
Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp
165 170 175
Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn
180 185 190
Met Arg Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr
195 200 205

Pro Ser Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln
210 215 220
Asn Leu Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp
225 230 235 240
Lys Ile Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
245 250 255
Trp Ser Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala
260 265 270

Ile Gly Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly
275 280 285
Ala Trp Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val
290 295 300

<210> 448

<211> 534

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD276 (B7-H3)

<400> 448

Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala
1 5 10 15

Ala Leu Gly Ala Leu Trp Phe Cys Leu Thr Gly Ala Leu Glu Val Gln

20 25 30

Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu
35 40 45

Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
50 55 60

Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Ala
65 70 75 80

Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe

85 90 95

Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val
100 105 110

Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp
115 120 125

Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys
130 135 140

Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr

145 150 155 160

Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val

165 170 175

Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr
180 185 190

Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Ile Leu
195 200 205

Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn

210 215 220

Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr Ile Thr Pro Gln

225 230 235 240

Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val

245 250 255

Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys Ser Phe Ser Pro

260 265 270

Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr

275 280 285

Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly Arg Asp Gln Gly

290 295 300

Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln

305 310 315 320

Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly

325 330 335

Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val

340 345 350

Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu

355 360 365

Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser

370 375 380

Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln

385 390 395 400

Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu

405 410 415

Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala

420 425 430

Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp

435 440 445

Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met Thr Phe Pro Pro

450 455 460

Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Ile Ala Leu

465 470 475 480

Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys

485 490 495

Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly

500 505 510

Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp

515 520 525

Asp Gly Gln Glu Ile Ala

530

<210> 449

<211> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> VTCN1 (B7-H4)

<400> 449

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser

20 25 30

Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile

35 40 45

Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu

50 55 60

Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val

65 70 75 80

His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met

85 90 95

Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn

100 105 110

Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
115 120 125
Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
130 135 140
Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn
145 150 155 160
Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln
165 170 175

Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser
180 185 190
Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met
195 200 205
Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser
210 215 220
Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
225 230 235 240

Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser
245 250 255
Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu
260 265 270
Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys
275 280

<210> 450
<211> 220
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD28
<400> 450
Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val

1 5 10 15

Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr

20 25 30

Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser

35 40 45

Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu

50 55 60

Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser

65 70 75 80

Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr

85 90 95

Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys

100 105 110

Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser

115 120 125

Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro

130 135 140

Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly

145 150 155 160

Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile

165 170 175

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

180 185 190

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

195 200 205

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

210 215 220

<210> 451

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> PDCD1 (PD-1)

<400> 451

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro

225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly

245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg

260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu

275 280 285

<210> 452

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> ICOS

<400> 452

Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu Arg Ile Lys

1 5 10 15

Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile

20 25 30

Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val

35 40 45

Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp

50 55 60

Leu Thr Lys Thr Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu

65 70 75 80

Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu

85 90 95

Tyr Asn Leu Asp His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser

100 105 110

Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu

115 120 125

His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro

130 135 140

Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu
145 150 155 160
Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro
165 170 175

Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser
180 185 190
Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu
195

<210> 453
<211> 289
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> BTLA (CD272)
<400> 453
Met Lys Thr Leu Pro Ala Met Leu Gly Thr Gly Lys Leu Phe Trp Val
1 5 10 15
Phe Phe Leu Ile Pro Tyr Leu Asp Ile Trp Asn Ile His Gly Lys Glu

20 25 30
Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His Ser Ile
35 40 45
Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr Cys Ala
50 55 60
Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr Cys Val
65 70 75 80
Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn Ile Ser

85 90 95
Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn Gly Ser
100 105 110
Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser His Ser
115 120 125
Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg Pro Ser

130 135 140

Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg Leu Leu Pro

145 150 155 160

Leu Gly Gly Leu Pro Leu Leu Ile Thr Thr Cys Phe Cys Leu Phe Cys

165 170 175

Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp Thr Ala

180 185 190

Gly Arg Glu Ile Asn Leu Val Asp Ala His Leu Lys Ser Glu Gln Thr

195 200 205

Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu Thr Gly

210 215 220

Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu Gly Ser

225 230 235 240

Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly Ile Val

245 250 255

Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg Leu Ala

260 265 270

Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys Val Arg

275 280 285

Ser

<210> 454

<211> 458

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD4

<400> 454

Met Asn Arg Gly Val Pro Phe Arg His Leu Leu Leu Val Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ala Leu Leu Pro Ala Ala Thr Gln Gly Lys Lys Val Val Leu Gly Lys

20 25 30

Lys Gly Asp Thr Val Glu Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gln Lys Lys Ser

35 40 45

Ile Gln Phe His Trp Lys Asn Ser Asn Gln Ile Lys Ile Leu Gly Asn

50 55 60

Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala

65 70 75 80

Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile

85 90 95

Lys Asn Leu Lys Ile Glu Asp Ser Asp Thr Tyr Ile Cys Glu Val Glu

100 105 110

Asp Gln Lys Glu Glu Val Gln Leu Leu Val Phe Gly Leu Thr Ala Asn

115 120 125

Ser Asp Thr His Leu Leu Gln Gly Gln Ser Leu Thr Leu Thr Leu Glu

130 135 140

Ser Pro Pro Gly Ser Ser Pro Ser Val Gln Cys Arg Ser Pro Arg Gly

145 150 155 160

Lys Asn Ile Gln Gly Gly Lys Thr Leu Ser Val Ser Gln Leu Glu Leu

165 170 175

Gln Asp Ser Gly Thr Trp Thr Cys Thr Val Leu Gln Asn Gln Lys Lys

180 185 190

Val Glu Phe Lys Ile Asp Ile Val Val Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser

195 200 205

Ser Ile Val Tyr Lys Lys Glu Gly Glu Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro

210 215 220

Leu Ala Phe Thr Val Glu Lys Leu Thr Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp

225 230 235 240

Gln Ala Glu Arg Ala Ser Ser Ser Lys Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu

245 250 255

Lys Asn Lys Glu Val Ser Val Lys Arg Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu

260 265 270

Gln Met Gly Lys Lys Leu Pro Leu His Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu

275 280 285

Pro Gln Tyr Ala Gly Ser Gly Asn Leu Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys

290 295 300

Thr Gly Lys Leu His Gln Glu Val Asn Leu Val Val Met Arg Ala Thr

305 310 315 320

Gln Leu Gln Lys Asn Leu Thr Cys Glu Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro

325 330 335

Lys Leu Met Leu Ser Leu Lys Leu Glu Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser

340 345 350

Lys Arg Glu Lys Ala Val Trp Val Leu Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp

355 360 365

Gln Cys Leu Leu Ser Asp Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile

370 375 380

Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile

385 390 395 400

Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile

405 410 415

Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met

420 425 430

Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro

435 440 445

His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile

450 455

<210> 455

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD8A (CD8-alpha)

<400> 455

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr
20 25 30

Trp Asn Leu Gly Glu Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser
35 40 45

Asn Pro Thr Ser Gly Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala
50 55 60

Ala Ser Pro Thr Phe Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala
65 70 75 80

Ala Glu Gly Leu Asp Thr Gln Arg Phe Ser Gly Lys Arg Leu Gly Asp
85 90 95

Thr Phe Val Leu Thr Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ser Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe
115 120 125

Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
130 135 140

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
145 150 155 160

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
165 170 175

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
180 185 190

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His
195 200 205

Arg Asn Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser
210 215 220

Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
225 230 235

<210> 456

<211> 210

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD8B (CD8-beta)

<400> 456

Met Arg Pro Arg Leu Trp Leu Leu Leu Ala Ala Gln Leu Thr Val Leu
1 5 10 15

His Gly Asn Ser Val Leu Gln Gln Thr Pro Ala Tyr Ile Lys Val Gln
20 25 30

Thr Asn Lys Met Val Met Leu Ser Cys Glu Ala Lys Ile Ser Leu Ser
35 40 45

Asn Met Arg Ile Tyr Trp Leu Arg Gln Arg Gln Ala Pro Ser Ser Asp
50 55 60

Ser His His Glu Phe Leu Ala Leu Trp Asp Ser Ala Lys Gly Thr Ile
65 70 75 80

His Gly Glu Glu Val Glu Gln Glu Lys Ile Ala Val Phe Arg Asp Ala
85 90 95

Ser Arg Phe Ile Leu Asn Leu Thr Ser Val Lys Pro Glu Asp Ser Gly
100 105 110

Ile Tyr Phe Cys Met Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu Thr Phe Gly Lys
115 120 125

Gly Thr Gln Leu Ser Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro
130 135 140

Thr Lys Lys Ser Thr Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro
145 150 155 160

Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Cys Ser Pro Ile Thr Leu Gly Leu Leu
165 170 175

Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Ile His
180 185 190

Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Ala Arg Leu Arg Phe Met Lys Gln Phe
195 200 205

Tyr Lys

210

<210> 457

<211> 525

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> LAG3

<400> 457

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln

195 200 205

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser

210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

245 250 255

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala

260 265 270

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val

275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu

305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr

340 345 350

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu

355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser

370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

405 410 415

Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser

420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

435 440 445

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu

450 455 460

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro

465 470 475 480

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln

485 490 495

Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro

500 505 510

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu

515 520 525

<210> 458

<211> 301

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> HAVCR2 (TIM-3)

<400> 458

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu

35 40 45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

50 55 60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

65 70 75 80

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr

85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
100 105 110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
115 120 125

Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe
130 135 140

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala
145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile
165 170 175

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu
180 185 190

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly
195 200 205

Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe
210 215 220

Lys Trp Tyr Ser His Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile
225 230 235 240

Ser Leu Ala Asn Leu Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu
245 250 255

Gly Ile Arg Ser Glu Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr
260 265 270

Glu Val Glu Glu Pro Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln
275 280 285

Gln Pro Ser Gln Pro Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
290 295 300

<210> 459

<211> 526

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CEACAM1

<400> 459

Met Gly His Leu Ser Ala Pro Leu His Arg Val Arg Val Pro Trp Gln
1 5 10 15
Gly Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
20 25 30
Thr Ala Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly

35 40 45
Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly
50 55 60
Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val
65 70 75 80
Gly Tyr Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser
85 90 95
Gly Arg Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val

100 105 110
Thr Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp
115 120 125
Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu
130 135 140
Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys
145 150 155 160
Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Thr Thr Tyr

165 170 175
Leu Trp Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
180 185 190
Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn
195 200 205
Asp Thr Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn
210 215 220
Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro

225 230 235 240

Thr Ile Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser
245 250 255
Leu Ser Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu
260 265 270
Ile Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
275 280 285
Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser

290 295 300
Val Thr Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu
305 310 315 320
Leu Ser Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr
325 330 335
Val Thr Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp
340 345 350
Thr Gly Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser

355 360 365
Ser Glu Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn
370 375 380
Pro Val Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn
385 390 395 400
Pro Ile Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr
405 410 415
Asn Ala Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly Ala Ile Ala Gly

420 425 430
Ile Val Ile Gly Val Val Ala Leu Val Ala Leu Ile Ala Val Ala Leu
435 440 445
Ala Cys Phe Leu His Phe Gly Lys Thr Gly Arg Ala Ser Asp Gln Arg
450 455 460
Asp Leu Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His
465 470 475 480
Ser Asn Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu

485 490 495

Asn Phe Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser

500 505 510

Leu Thr Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln

515 520 525

<210> 460

<211> 244

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> TIGIT

<400> 460

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala

1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn

20 25 30

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser

35 40 45

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln

50 55 60

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser

65 70 75 80

Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln

85 90 95

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr

100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu

115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly

130 135 140

Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val

145 150 155 160

Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
165 170 175
Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
180 185 190
Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
195 200 205

Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
210 215 220
Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
225 230 235 240
Thr Glu Thr Gly

<210> 461
<211> 417
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> PVR (CD155)
<400> 461
Met Ala Arg Ala Met Ala Ala Ala Trp Pro Leu Leu Leu Val Ala Leu
1 5 10 15

Leu Val Leu Ser Trp Pro Pro Pro Gly Thr Gly Asp Val Val Val Gln
20 25 30
Ala Pro Thr Gln Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp Ser Val Thr Leu Pro
35 40 45
Cys Tyr Leu Gln Val Pro Asn Met Glu Val Thr His Val Ser Gln Leu
50 55 60
Thr Trp Ala Arg His Gly Glu Ser Gly Ser Met Ala Val Phe His Gln
65 70 75 80

Thr Gln Gly Pro Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg Leu Glu Phe Val Ala
85 90 95
Ala Arg Leu Gly Ala Glu Leu Arg Asn Ala Ser Leu Arg Met Phe Gly

100 105 110

Leu Arg Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Leu Phe Val Thr Phe

115 120 125

Pro Gln Gly Ser Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu Arg Val Leu Ala Lys

130 135 140

Pro Gln Asn Thr Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro

145 150 155 160

Val Pro Met Ala Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln

165 170 175

Ile Thr Trp His Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val

180 185 190

Pro Gly Phe Leu Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu

195 200 205

Val Pro Ser Ser Gln Val Asp Gly Lys Asn Val Thr Cys Lys Val Glu

210 215 220

His Glu Ser Phe Glu Lys Pro Gln Leu Leu Thr Val Asn Leu Thr Val

225 230 235 240

Tyr Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asn Asn Trp Tyr

245 250 255

Leu Gly Gln Asn Glu Ala Thr Leu Thr Cys Asp Ala Arg Ser Asn Pro

260 265 270

Glu Pro Thr Gly Tyr Asn Trp Ser Thr Thr Met Gly Pro Leu Pro Pro

275 280 285

Phe Ala Val Ala Gln Gly Ala Gln Leu Leu Ile Arg Pro Val Asp Lys

290 295 300

Pro Ile Asn Thr Thr Leu Ile Cys Asn Val Thr Asn Ala Leu Gly Ala

305 310 315 320

Arg Gln Ala Glu Leu Thr Val Gln Val Lys Glu Gly Pro Pro Ser Glu

325 330 335

His Ser Gly Ile Ser Arg Asn Ala Ile Ile Phe Leu Val Leu Gly Ile

340 345 350

Leu Val Phe Leu Ile Leu Leu Gly Ile Gly Ile Tyr Phe Tyr Trp Ser
355 360 365

Lys Cys Ser Arg Glu Val Leu Trp His Cys His Leu Cys Pro Ser Ser
370 375 380

Thr Glu His Ala Ser Ala Ser Ala Asn Gly His Val Ser Tyr Ser Ala
385 390 395 400

Val Ser Arg Glu Asn Ser Ser Ser Gln Asp Pro Gln Thr Glu Gly Thr
405 410 415

Arg

<210> 462
<211> 538
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> PVRL2 (CD112)
<400> 462

Met Ala Arg Ala Ala Ala Leu Leu Pro Ser Arg Ser Pro Pro Thr Pro
1 5 10 15

Leu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Glu Thr Gly Ala Gln
20 25 30

Asp Val Arg Val Gln Val Leu Pro Glu Val Arg Gly Gln Leu Gly Gly
35 40 45

Thr Val Glu Leu Pro Cys His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Leu Tyr
50 55 60

Ile Ser Leu Val Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ala Pro Ala Asn His Gln
65 70 75 80

Asn Val Ala Ala Phe His Pro Lys Met Gly Pro Ser Phe Pro Ser Pro
85 90 95

Lys Pro Gly Ser Glu Arg Leu Ser Phe Val Ser Ala Lys Gln Ser Thr
100 105 110

Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu His

115 120 125

Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala Thr

130 135 140

Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile Ala

145 150 155 160

Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln Asp

165 170 175

Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro Ala

180 185 190

Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr Gln

195 200 205

Val Ser Gly Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Arg Phe Thr

210 215 220

Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys Val

225 230 235 240

Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu Ser

245 250 255

Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn Trp

260 265 270

Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser Asn

275 280 285

Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe Pro

290 295 300

Thr Ser Ala Val Ala Gln Gly Ser Gln Leu Val Ile His Ala Val Asp

305 310 315 320

Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val Gly

325 330 335

Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn Thr

340 345 350

Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ile Ile Ala Ala

355 360 365

Ile Ile Ala Thr Ala Val Ala Ala Thr Gly Ile Leu Ile Cys Arg Gln
370 375 380
Gln Arg Lys Glu Gln Thr Leu Gln Gly Ala Glu Glu Asp Glu Asp Leu
385 390 395 400
Glu Gly Pro Pro Ser Tyr Lys Pro Pro Thr Pro Lys Ala Lys Leu Glu
405 410 415

Ala Gln Glu Met Pro Ser Gln Leu Phe Thr Leu Gly Ala Ser Glu His
420 425 430
Ser Pro Leu Lys Thr Pro Tyr Phe Asp Ala Gly Ala Ser Cys Thr Glu
435 440 445
Gln Glu Met Pro Arg Tyr His Glu Leu Pro Thr Leu Glu Glu Arg Ser
450 455 460
Gly Pro Leu His Pro Gly Ala Thr Ser Leu Gly Ser Pro Ile Pro Val
465 470 475 480

Pro Pro Gly Pro Pro Ala Val Glu Asp Val Ser Leu Asp Leu Glu Asp
485 490 495
Glu Glu Gly Glu Glu Glu Glu Glu Tyr Leu Asp Lys Ile Asn Pro Ile
500 505 510
Tyr Asp Ala Leu Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Asp Ser Tyr Gln Gly Lys
515 520 525
Gly Phe Val Met Ser Arg Ala Met Tyr Val
530 535

<210> 463
<211> 336
<212
> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD226
<400> 463
Met Asp Tyr Pro Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu His Val Tyr Arg Ala
1 5 10 15
Leu Cys Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn

20 25 30

Met Ser Leu Glu Cys Val Tyr Pro Ser Met Gly Ile Leu Thr Gln Val

35 40 45

Glu Trp Phe Lys Ile Gly Thr Gln Gln Asp Ser Ile Ala Ile Phe Ser

50 55 60

Pro Thr His Gly Met Val Ile Arg Lys Pro Tyr Ala Glu Arg Val Tyr

65 70 75 80

Phe Leu Asn Ser Thr Met Ala Ser Asn Asn Met Thr Leu Phe Phe Arg

85 90 95

Asn Ala Ser Glu Asp Asp Val Gly Tyr Tyr Ser Cys Ser Leu Tyr Thr

100 105 110

Tyr Pro Gln Gly Thr Trp Gln Lys Val Ile Gln Val Val Gln Ser Asp

115 120 125

Ser Phe Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro

130 135 140

Gly Lys Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val

145 150 155 160

Gln Ala Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu

165 170 175

Thr Tyr Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro

180 185 190

Arg Gln Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val

195 200 205

Ile Pro Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu

210 215 220

Gln Ala Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val

225 230 235 240

Ala Glu Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala Gly Gly

245 250 255

Thr Val Leu Leu Leu Leu Phe Val Ile Ser Ile Thr Thr Ile Ile Val

260 265 270

Ile Phe Leu Asn Arg Arg Arg Arg Arg Glu Arg Arg Asp Leu Phe Thr
275 280 285
Glu Ser Trp Asp Thr Gln Lys Ala Pro Asn Asn Tyr Arg Ser Pro Ile
290 295 300
Ser Thr Ser Gln Pro Thr Asn Gln Ser Met Asp Asp Thr Arg Glu Asp

305 310 315 320
Ile Tyr Val Asn Tyr Pro Thr Phe Ser Arg Arg Pro Lys Thr Arg Val
325 330 335
<210> 464
<211> 351
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD2
<400> 464
Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
1 5 10 15
Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
20 25 30

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
35 40 45
Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
50 55 60
Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
65 70 75 80
Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
85 90 95

Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
100 105 110
Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
115 120 125
Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu

130 135 140

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
145 150 155 160

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
165 170 175

Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
180 185 190

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu
195 200 205

Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met
210 215 220

Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Lys Arg Lys Lys Gln
225 230 235 240

Arg Ser Arg Arg Asn Asp Glu Glu Leu Glu Thr Arg Ala His Arg Val
245 250 255

Ala Thr Glu Glu Arg Gly Arg Lys Pro His Gln Ile Pro Ala Ser Thr
260 265 270

Pro Gln Asn Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Pro Gly His
275 280 285

Arg Ser Gln Ala Pro Ser His Arg Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Val
290 295 300

Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val
305 310 315 320

His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
325 330 335

Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn
340 345 350

<210> 465

<211> 180

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD160

<400> 465

Met Leu Leu Glu Pro Gly Arg Gly Cys Cys Ala Leu Ala Ile Leu Leu
1 5 10 15

Ala Ile Val Asp Ile Gln Ser Gly Gly Cys Ile Asn Ile Thr Ser Ser
20 25 30

Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu Ile Cys Thr Val Trp His
35 40 45

Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val Phe Leu Cys Lys Asp Arg
50 55 60

Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu Lys Gln Leu Arg Leu Lys
65 70 75 80

Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu Ile Ser Ser Gln Leu Met
85 90 95

Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His Ser Gly Thr Tyr Gln Cys
100 105 110

Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg Leu Gln Gly His Phe Phe
115 120 125

Ser Ile Leu Phe Thr Glu Thr Gly Asn Tyr Thr Val Thr Gly Leu Lys
130 135 140

Gln Arg Gln His Leu Glu Phe Ser His Asn Glu Gly Thr Leu Ser Ser
145 150 155 160

Gly Phe Leu Gln Glu Lys Val Trp Val Met Leu Val Thr Ser Leu Val
165 170 175

Ala Leu Gln Ala
180

<210> 466

<211> 278

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD200

<400> 466

Met Glu Arg Leu Val Ile Arg Met Pro Phe Ser His Leu Ser Thr Tyr
1 5 10 15

Ser Leu Val Trp Val Met Ala Ala Val Val Leu Cys Thr Ala Gln Val
20 25 30

Gln Val Val Thr Gln Asp Glu Arg Glu Gln Leu Tyr Thr Pro Ala Ser
35 40 45

Leu Lys Cys Ser Leu Gln Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ile Val Thr Trp
50 55 60

Gln Lys Lys Lys Ala Val Ser Pro Glu Asn Met Val Thr Phe Ser Glu
65 70 75 80

Asn His Gly Val Val Ile Gln Pro Ala Tyr Lys Asp Lys Ile Asn Ile
85 90 95

Thr Gln Leu Gly Leu Gln Asn Ser Thr Ile Thr Phe Trp Asn Ile Thr
100 105 110

Leu Glu Asp Glu Gly Cys Tyr Met Cys Leu Phe Asn Thr Phe Gly Phe
115 120 125

Gly Lys Ile Ser Gly Thr Ala Cys Leu Thr Val Tyr Val Gln Pro Ile
130 135 140

Val Ser Leu His Tyr Lys Phe Ser Glu Asp His Leu Asn Ile Thr Cys
145 150 155 160

Ser Ala Thr Ala Arg Pro Ala Pro Met Val Phe Trp Lys Val Pro Arg
165 170 175

Ser Gly Ile Glu Asn Ser Thr Val Thr Leu Ser His Pro Asn Gly Thr
180 185 190

Thr Ser Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Asp Pro Lys Asn Gln Val
195 200 205

Gly Lys Glu Val Ile Cys Gln Val Leu His Leu Gly Thr Val Thr Asp
210 215 220

Phe Lys Gln Thr Val Asn Lys Gly Tyr Trp Phe Ser Val Pro Leu Leu

225 230 235 240

Leu Ser Ile Val Ser Leu Val Ile Leu Leu Val Leu Ile Ser Ile Leu
245 250 255
Leu Tyr Trp Lys Arg His Arg Asn Gln Asp Arg Gly Glu Leu Ser Gln
260 265 270
Gly Val Gln Lys Met Thr
275

<210> 467
<211> 325
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD200R1(CD200R)
<400> 467
Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
20 25 30
Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
35 40 45
Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
50 55 60
Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
85 90 95
Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
100 105 110
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
115 120 125
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
145 150 155 160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
165 170 175
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
180 185 190
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
210 215 220
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser
225 230 235 240
Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr
245 250 255
Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr
260 265 270

Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro Val Val Glu Glu Asp Glu Met
275 280 285
Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr
290 295 300
Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Glu Ala Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr
305 310 315 320
Asp Leu His Thr Leu
325

<210> 468
<211> 201
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221>
MISC_FEATURE
<223> NC R3 (NKp30)

<400> 468

Met Ala Trp Met Leu Leu Leu Ile Leu Ile Met Val His Pro Gly Ser
1 5 10 15

Cys Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly
20 25 30

Ser Ser Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu
35 40 45

Ala Ile Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys
50 55 60

Glu Val Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu
65 70 75 80

Ala Ser Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg
85 90 95

Asp Val Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val
100 105 110

Leu Gly Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu
115 120 125

Lys Glu His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Leu Arg Ala
130 135 140

Gly Phe Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val
145 150 155 160

Tyr Tyr Gln Gly Lys Cys Leu Thr Trp Lys Gly Pro Arg Arg Gln Leu
165 170 175

Pro Ala Val Val Pro Ala Pro Leu Pro Pro Pro Cys Gly Ser Ser Ala
180 185 190

His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Gly
195 200

<210> 469

<211> 414

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> VSIG8

<400> 469

Met Arg Val Gly Gly Ala Phe His Leu Leu Leu Val Cys Leu Ser Pro
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ser Ala Val Arg Ile Asn Gly Asp Gly Gln Glu Val Leu
20 25 30

Tyr Leu Ala Glu Gly Asp Asn Val Arg Leu Gly Cys Pro Tyr Val Leu
35 40 45

Asp Pro Glu Asp Tyr Gly Pro Asn Gly Leu Asp Ile Glu Trp Met Gln
50 55 60

Val Asn Ser Asp Pro Ala His His Arg Glu Asn Val Phe Leu Ser Tyr
65 70 75 80

Gln Asp Lys Arg Ile Asn His Gly Ser Leu Pro His Leu Gln Gln Arg
85 90 95

Val Arg Phe Ala Ala Ser Asp Pro Ser Gln Tyr Asp Ala Ser Ile Asn
100 105 110

Leu Met Asn Leu Gln Val Ser Asp Thr Ala Thr Tyr Glu Cys Arg Val
115 120 125

Lys Lys Thr Thr Met Ala Thr Arg Lys Val Ile Val Thr Val Gln Ala
130 135 140

Arg Pro Ala Val Pro Met Cys Trp Thr Glu Gly His Met Thr Tyr Gly
145 150 155 160

Asn Asp Val Val Leu Lys Cys Tyr Ala Ser Gly Gly Ser Gln Pro Leu
165 170 175

Ser Tyr Lys Trp Ala Lys Ile Ser Gly His His Tyr Pro Tyr Arg Ala
180 185 190

Gly Ser Tyr Thr Ser Gln His Ser Tyr His Ser Glu Leu Ser Tyr Gln
195 200 205

Glu Ser Phe His Ser Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asn Asn Gly Asp Leu
210 215 220

Val Leu Lys Asp Ile Ser Arg Ala Asp Asp Gly Leu Tyr Gln Cys Thr

225 230 235 240

Val Ala Asn Asn Val Gly Tyr Ser Val Cys Val Val Glu Val Lys Val

245 250 255

Ser Asp Ser Arg Arg Ile Gly Val Ile Ile Gly Ile Val Leu Gly Ser

260 265 270

Leu Leu Ala Leu Gly Cys Leu Ala Val Gly Ile Trp Gly Leu Val Cys

275 280 285

Cys Cys Cys Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Ala Arg Gly Ala Phe Gly

290 295 300

Tyr Gly Asn Gly Gly Gly Val Gly Gly Gly Ala Cys Gly Asp Leu Ala

305 310 315 320

Ser Glu Ile Arg Glu Asp Ala Val Ala Pro Gly Cys Lys Ala Ser Gly

325 330 335

Arg Gly Ser Arg Val Thr His Leu Leu Gly Tyr Pro Thr Gln Asn Val

340 345 350

Ser Arg Ser Leu Arg Arg Lys Tyr Ala Pro Pro Pro Cys Gly Gly Pro

355 360 365

Glu Asp Val Ala Leu Ala Pro Cys Thr Ala Ala Ala Ala Cys Glu Ala

370 375 380

Gly Pro Ser Pro Val Tyr Val Lys Val Lys Ser Ala Glu Pro Ala Asp

385 390 395 400

Cys Ala Glu Gly Pro Val Gln Cys Lys Asn Gly Leu Leu Val

405 410

<210> 470

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD80(B7-1)

<400> 470

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125
Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205
Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly Ile Phe
210 215 220
Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg Glu Arg
225 230 235 240

Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
245 250

<210> 471

<211> 306

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD86(B7-2)

<400> 471

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser
50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys
65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly
85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn
100 105 110

Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val
115 120 125

Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys
130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp
145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val
165 170 175

Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr
180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

210 215 220

Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val Ile Ile Cys Val Met Val Phe

225 230 235 240

Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser

245 250 255

Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr

260 265 270

Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln

275 280 285

Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr

290 295 300

Cys Phe

305

<210> 472

<211> 272

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD274 (PD-L1, B7-H1)

<400> 472

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser

1 5 10 15

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu

20 25 30

Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln

35 40 45

Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg

50 55 60

Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala

65 70 75 80

Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys

85 90 95

Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val

100 105 110

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro

115 120 125

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys

130 135 140

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys

145 150 155 160

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr

165 170 175

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr

180 185 190

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile

195 200 205

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val

210 215 220

Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile

225 230 235 240

Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile

245 250 255

Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr

260 265 270

<210> 473

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature PDCD1LG2(PD-L2, CD273)

<400> 473

Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly

1 5 10 15

Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser His Val Asn

20 25 30

Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn Asp Thr Ser

35 40 45

Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu Pro Leu Gly

50 55 60

Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp Glu Gly Gln

65 70 75 80

Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu

85 90 95

Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu

100 105 110

Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly

115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn

130 135 140

Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val

145 150 155 160

Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp

165 170 175

Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser

180 185 190

Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His Ile Phe Ile

195 200 205

Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val Ile Ala Leu

210 215 220

Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp Thr Thr Lys

225 230 235 240

Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala Ile

245 250

<210> 474

<211> 284

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220

><221> MISC_FEATURE

<223> Mature ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2)

<400> 474

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn

50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr Trp Ser

225 230 235 240

Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala Ile Gly

245 250 255

Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly Ala Trp

260 265 270

Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val

275 280

<210> 475

<211> 506

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD276(B7-H3)

<400> 475

Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr

1 5 10 15

Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu

20 25 30

Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val

35 40 45

His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg

50 55 60

Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg

65 70 75 80

Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val

85 90 95

Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala

100 105 110

Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
115 120 125
Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
130 135 140

Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
145 150 155 160
Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val
165 170 175
His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
180 185 190
Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr
195 200 205

Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro
210 215 220
Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys
225 230 235 240
Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile
245 250 255
Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly
260 265 270

Arg Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp
275 280 285
Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val
290 295 300
Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly
305 310 315 320
Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser
325 330 335

Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr
340 345 350
Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp

355 360 365

Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln

370 375 380

Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val

385 390 395 400

Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val

405 410 415

Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met

420 425 430

Thr Phe Pro Pro Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys

435 440 445

Leu Ile Ala Leu Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile

450 455 460

Lys Gln Ser Cys Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly

465 470 475 480

Glu Gly Glu Gly Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp

485 490 495

Ser Lys Glu Asp Asp Gly Gln Glu Ile Ala

500 505

<210> 476

<211> 258

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature VTCN1(B7-H4)

<400> 476

Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr

1 5 10 15

Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys

20 25 30

Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu

35 40 45

Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp

50 55 60

Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe

65 70 75 80

Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val

85 90 95

Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys

100 105 110

Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met

115 120 125

Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys

130 135 140

Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln

145 150 155 160

Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu

165 170 175

Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn

180 185 190

Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala

195 200 205

Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg

210 215 220

Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser

225 230 235 240

Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met

245 250 255

Leu Lys

<210> 477

<211> 202

<

212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD28

<400> 477

Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr Asp Asn
1 5 10 15

Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser Arg Glu
20 25 30

Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu Val Cys
35 40 45

Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser Lys Thr
50 55 60

Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile
85 90 95

Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly
100 105 110

Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe
115 120 125

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
130 135 140

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
145 150 155 160

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
165 170 175

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
180 185 190

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
195 200

<210> 478

<211> 188

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CTLA4

<400> 478

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Phe Leu
115 120 125

Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe Tyr Ser Phe
130 135 140

Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys Arg Ser Pro
145 150 155 160

Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu Pro Glu Cys
165 170 175

Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
180 185

<210> 479

<211> 268

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature PDCD1(PD-1)

<400> 479

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
165 170 175

Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
195 200 205

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu

210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser

225 230 235 240

Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro

245 250 255

Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu

260 265

<210> 480

<211> 179

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature ICOS

<400> 480

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly

1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys

20 25 30

Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr

35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His

50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp

65 70 75 80

His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro

85 90 95

Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu His Ile Tyr Glu

100 105 110

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro Ile Gly Cys Ala

115 120 125

Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu Ile Cys Trp Leu

130 135 140

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
145 150 155 160
Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
165 170 175
Val Thr Leu

<210> 481
<211> 259
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature BTLA(CD272)
<400> 481
Lys Glu Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His
1 5 10 15
Ser Ile Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr
20 25 30
Cys Ala Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr
35 40 45
Cys Val Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn
50 55 60

Ile Ser Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn
65 70 75 80
Gly Ser Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser
85 90 95
His Ser Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg
100 105 110
Pro Ser Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg Leu
115 120 125

Leu Pro Leu Gly Gly Leu Pro Leu Leu Ile Thr Thr Cys Phe Cys Leu
130 135 140
Phe Cys Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp

145 150 155 160

Thr Ala Gly Arg Glu Ile Asn Leu Val Asp Ala His Leu Lys Ser Glu

165 170 175

Gln Thr Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu

180 185 190

Thr Gly Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu

195 200 205

Gly Ser Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly

210 215 220

Ile Val Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg

225 230 235 240

Leu Ala Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys

245 250 255

Val Arg Ser

<210> 482

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD4

<400> 482

Lys Lys Val Val Leu Gly Lys Lys Gly Asp Thr Val Glu Leu Thr Cys

1 5 10 15

Thr Ala Ser Gln Lys Lys Ser Ile Gln Phe His Trp Lys Asn Ser Asn

20 25 30

Gln Ile Lys Ile Leu Gly Asn Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro

35 40 45

Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln

50 55 60

Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile Lys Asn Leu Lys Ile Glu Asp Ser Asp

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Glu Val Glu Asp Gln Lys Glu Glu Val Gln Leu Leu
85 90 95
Val Phe Gly Leu Thr Ala Asn Ser Asp Thr His Leu Leu Gln Gly Gln
100 105 110

Ser Leu Thr Leu Thr Leu Glu Ser Pro Pro Gly Ser Ser Pro Ser Val
115 120 125
Gln Cys Arg Ser Pro Arg Gly Lys Asn Ile Gln Gly Gly Lys Thr Leu
130 135 140
Ser Val Ser Gln Leu Glu Leu Gln Asp Ser Gly Thr Trp Thr Cys Thr
145 150 155 160
Val Leu Gln Asn Gln Lys Lys Val Glu Phe Lys Ile Asp Ile Val Val
165 170 175

Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser Ser Ile Val Tyr Lys Lys Glu Gly Glu
180 185 190
Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro Leu Ala Phe Thr Val Glu Lys Leu Thr
195 200 205
Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp Gln Ala Glu Arg Ala Ser Ser Ser Lys
210 215 220
Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu Lys Asn Lys Glu Val Ser Val Lys Arg
225 230 235 240

Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu Gln Met Gly Lys Lys Leu Pro Leu His
245 250 255
Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu Pro Gln Tyr Ala Gly Ser Gly Asn Leu
260 265 270
Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys Thr Gly Lys Leu His Gln Glu Val Asn
275 280 285
Leu Val Val Met Arg Ala Thr Gln Leu Gln Lys Asn Leu Thr Cys Glu
290 295 300

Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro Lys Leu Met Leu Ser Leu Lys Leu Glu
305 310 315 320
Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser Lys Arg Glu Lys Ala Val Trp Val Leu

325 330 335

Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp Gln Cys Leu Leu Ser Asp Ser Gly Gln

340 345 350

Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro

355 360 365

Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu

370 375 380

Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg

385 390 395 400

Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu

405 410 415

Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro

420 425 430

Ile

<210> 483

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD8A(CD8-alpha)

<400> 483

Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr Trp Asn Leu Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser Asn Pro Thr Ser Gly

20 25 30

Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala Ala Ser Pro Thr Phe

35 40 45

Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala Ala Glu Gly Leu Asp

50 55 60

Thr Gln Arg Phe Ser Gly Lys Arg Leu Gly Asp Thr Phe Val Leu Thr

65 70 75 80

Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr Tyr Phe Cys Ser Ala
85 90 95
Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu
100 105 110

Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
115 120 125
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
130 135 140
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
145 150 155 160
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
165 170 175

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Arg Arg
180 185 190
Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser Gly Asp Lys Pro Ser
195 200 205
Leu Ser Ala Arg Tyr Val
210

<210> 484
<211> 189
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Mature CD8B(CD8-beta)
<400> 484
Leu Gln Gln Thr Pro Ala Tyr Ile Lys Val Gln Thr Asn Lys Met Val

1 5 10 15
Met Leu Ser Cys Glu Ala Lys Ile Ser Leu Ser Asn Met Arg Ile Tyr
20 25 30
Trp Leu Arg Gln Arg Gln Ala Pro Ser Ser Asp Ser His His Glu Phe
35 40 45
Leu Ala Leu Trp Asp Ser Ala Lys Gly Thr Ile His Gly Glu Glu Val

50 55 60

Glu Gln Glu Lys Ile Ala Val Phe Arg Asp Ala Ser Arg Phe Ile Leu

65 70 75 80

Asn Leu Thr Ser Val Lys Pro Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Phe Cys Met

85 90 95

Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr Gln Leu Ser

100 105 110

Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro Thr Lys Lys Ser Thr

115 120 125

Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro Glu Thr Gln Lys Gly

130 135 140

Pro Leu Cys Ser Pro Ile Thr Leu Gly Leu Leu Val Ala Gly Val Leu

145 150 155 160

Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Ile His Leu Cys Cys Arg Arg

165 170 175

Arg Arg Ala Arg Leu Arg Phe Met Lys Gln Phe Tyr Lys

180 185

<210> 485

<211> 497

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature LAG3

<400> 485

Val Pro Val Val Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys

1 5 10 15

Ser Pro Thr Ile Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly

20 25 30

Val Thr Trp Gln His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro

35 40 45

Gly His Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp

50 55 60

Gly Pro Arg Pro Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ser Gly Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu
85 90 95
Arg Gly Arg Gln Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg
100 105 110
Arg Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg
115 120 125

Ala Leu Ser Cys Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr
130 135 140
Ala Ser Pro Pro Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn
145 150 155 160
Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg
165 170 175
Asn Arg Gly Gln Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His
180 185 190

Leu Ala Glu Ser Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser
195 200 205
Gly Pro Trp Gly Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser
210 215 220
Ile Met Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu
225 230 235 240
Thr Val Tyr Ala Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu
245 250 255

Pro Ala Gly Val Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro
260 265 270
Pro Gly Gly Gly Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe
275 280 285
Thr Leu Arg Leu Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr
290 295 300

Cys His Ile His Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu
305 310 315 320

Ala Ile Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu
325 330 335
Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe
340 345 350
Val Trp Ser Ser Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro
355 360 365
Trp Leu Glu Ala Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys
370 375 380

Gln Leu Tyr Gln Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr
385 390 395 400
Glu Leu Ser Ser Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala
405 410 415
Leu Pro Ala Gly His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser
420 425 430
Leu Leu Leu Leu Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg
435 440 445

Gln Trp Arg Pro Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro
450 455 460
Pro Gln Ala Gln Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro
465 470 475 480
Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln
485 490 495
Leu

<210> 486
<211> 280
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature HAVCR2(TIM-3)

<400> 486

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro
1 5 10 15
Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30
Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45
Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80
Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95
Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110
Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
130 135 140
Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
145 150 155 160
Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
165 170 175
Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu
180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe Lys Trp Tyr Ser His
195 200 205
Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile Ser Leu Ala Asn Leu
210 215 220
Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu Gly Ile Arg Ser Glu

225 230 235 240

Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr Glu Val Glu Glu Pro

245 250 255

Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln Gln Pro Ser Gln Pro

260 265 270

Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro

275 280

<210> 487

<211> 492

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CEACAM1

<400> 487

Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu

1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly Tyr Ser

20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val Gly Tyr

35 40 45

Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser Gly Arg

50 55 60

Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln

65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val

85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys

100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala

115 120 125

Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Thr Thr Tyr Leu Trp

130 135 140

Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser

145 150 155 160

Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn Asp Thr

165 170 175

Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn Arg Ser

180 185 190

Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro Thr Ile

195 200 205

Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu Ile Asn

225 230 235 240

Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr

245 250 255

Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser Val Thr

260 265 270

Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu Leu Ser

275 280 285

Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr Val Thr

290 295 300

Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp Thr Gly

305 310 315 320

Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser Ser Glu

325 330 335

Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn Pro Val

340 345 350

Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn Pro Ile

355 360 365

Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr Asn Ala

370 375 380

Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly Ala Ile Ala Gly Ile Val

385 390 395 400

Ile Gly Val Val Ala Leu Val Ala Leu Ile Ala Val Ala Leu Ala Cys

405 410 415

Phe Leu His Phe Gly Lys Thr Gly Arg Ala Ser Asp Gln Arg Asp Leu

420 425 430

Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His Ser Asn

435 440 445

Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu Asn Phe

450 455 460

Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser Leu Thr

465 470 475 480

Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln

485 490

<210> 488

<211> 222

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature TIGIT

<400> 488

Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys Gly

1 5 10 15

Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln Val

20 25 30

Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys Asn

35 40 45

Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val Ala

50 55 60

Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn Asp

65 70 75 80

Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr

85 90 95

Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu His
100 105 110
Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Ala Thr Leu
115 120 125
Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val Val Ala Leu Thr Arg Lys
130 135 140
Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu Gly Asp Leu Arg Arg Lys
145 150 155 160

Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly
165 170 175
Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln
180 185 190
Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser
195 200 205
Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly
210 215 220

<210> 489
<211> 397
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Mature PVR(CD155)
<400> 489
Trp Pro Pro Pro Gly Thr Gly Asp Val Val Val Gln Ala Pro Thr Gln
1 5 10 15
Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp Ser Val Thr Leu Pro Cys Tyr Leu Gln
20 25 30
Val Pro Asn Met Glu Val Thr His Val Ser Gln Leu Thr Trp Ala Arg
35 40 45

His Gly Glu Ser Gly Ser Met Ala Val Phe His Gln Thr Gln Gly Pro

50 55 60

Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg Leu Glu Phe Val Ala Ala Arg Leu Gly

65 70 75 80

Ala Glu Leu Arg Asn Ala Ser Leu Arg Met Phe Gly Leu Arg Val Glu

85 90 95

Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Leu Phe Val Thr Phe Pro Gln Gly Ser

100 105 110

Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu Arg Val Leu Ala Lys Pro Gln Asn Thr

115 120 125

Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro Val Pro Met Ala

130 135 140

Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln Ile Thr Trp His

145 150 155 160

Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val Pro Gly Phe Leu

165 170 175

Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser Ser

180 185 190

Gln Val Asp Gly Lys Asn Val Thr Cys Lys Val Glu His Glu Ser Phe

195 200 205

Glu Lys Pro Gln Leu Leu Thr Val Asn Leu Thr Val Tyr Tyr Pro Pro

210 215 220

Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asn Asn Trp Tyr Leu Gly Gln Asn

225 230 235 240

Glu Ala Thr Leu Thr Cys Asp Ala Arg Ser Asn Pro Glu Pro Thr Gly

245 250 255

Tyr Asn Trp Ser Thr Thr Met Gly Pro Leu Pro Pro Phe Ala Val Ala

260 265 270

Gln Gly Ala Gln Leu Leu Ile Arg Pro Val Asp Lys Pro Ile Asn Thr

275 280 285

Thr Leu Ile Cys Asn Val Thr Asn Ala Leu Gly Ala Arg Gln Ala Glu

290 295 300

Leu Thr Val Gln Val Lys Glu Gly Pro Pro Ser Glu His Ser Gly Ile
305 310 315 320
Ser Arg Asn Ala Ile Ile Phe Leu Val Leu Gly Ile Leu Val Phe Leu
325 330 335
Ile Leu Leu Gly Ile Gly Ile Tyr Phe Tyr Trp Ser Lys Cys Ser Arg
340 345 350
Glu Val Leu Trp His Cys His Leu Cys Pro Ser Ser Thr Glu His Ala
355 360 365

Ser Ala Ser Ala Asn Gly His Val Ser Tyr Ser Ala Val Ser Arg Glu
370 375 380
Asn Ser Ser Ser Gln Asp Pro Gln Thr Glu Gly Thr Arg
385 390 395
<210> 490
<211> 507
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Mature PVRL2(CD112)
<400> 490
Gln Asp Val Arg Val Gln Val Leu Pro Glu Val Arg Gly Gln Leu Gly
1 5 10 15
Gly Thr Val Glu Leu Pro Cys His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Leu

20 25 30
Tyr Ile Ser Leu Val Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ala Pro Ala Asn His
35 40 45
Gln Asn Val Ala Ala Phe His Pro Lys Met Gly Pro Ser Phe Pro Ser
50 55 60
Pro Lys Pro Gly Ser Glu Arg Leu Ser Phe Val Ser Ala Lys Gln Ser
65 70 75 80
Thr Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu

85 90 95
His Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala

100 105 110

Thr Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile

115 120 125

Ala Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln

130 135 140

Asp Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro

145 150 155 160

Ala Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr

165 170 175

Gln Val Ser Gly Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Arg Phe

180 185 190

Thr Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys

195 200 205

Val Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu

210 215 220

Ser Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn

225 230 235 240

Trp Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser

245 250 255

Asn Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe

260 265 270

Pro Thr Ser Ala Val Ala Gln Gly Ser Gln Leu Val Ile His Ala Val

275 280 285

Asp Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val

290 295 300

Gly Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn

305 310 315 320

Thr Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ile Ile Ala

325 330 335

Ala Ile Ile Ala Thr Ala Val Ala Ala Thr Gly Ile Leu Ile Cys Arg

340 345 350

Gln Gln Arg Lys Glu Gln Thr Leu Gln Gly Ala Glu Glu Asp Glu Asp

355 360 365

Leu Glu Gly Pro Pro Ser Tyr Lys Pro Pro Thr Pro Lys Ala Lys Leu

370 375 380

Glu Ala Gln Glu Met Pro Ser Gln Leu Phe Thr Leu Gly Ala Ser Glu

385 390 395 400

His Ser Pro Leu Lys Thr Pro Tyr Phe Asp Ala Gly Ala Ser Cys Thr

405 410 415

Glu Gln Glu Met Pro Arg Tyr His Glu Leu Pro Thr Leu Glu Glu Arg

420 425 430

Ser Gly Pro Leu His Pro Gly Ala Thr Ser Leu Gly Ser Pro Ile Pro

435 440 445

Val Pro Pro Gly Pro Pro Ala Val Glu Asp Val Ser Leu Asp Leu Glu

450 455 460

Asp Glu Glu Gly Glu Glu Glu Glu Glu Tyr Leu Asp Lys Ile Asn Pro

465 470 475 480

Ile Tyr Asp Ala Leu Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Asp Ser Tyr Gln Gly

485 490 495

Lys Gly Phe Val Met Ser Arg Ala Met Tyr Val

500 505

<210> 491

<211> 318

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD226

<400> 491

Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn Met Ser

1 5 10 15

Leu Glu Cys Val Tyr Pro Ser Met Gly Ile Leu Thr Gln Val Glu Trp

20 25 30

Phe Lys Ile Gly Thr Gln Gln Asp Ser Ile Ala Ile Phe Ser Pro Thr

35 40 45

His Gly Met Val Ile Arg Lys Pro Tyr Ala Glu Arg Val Tyr Phe Leu

50 55 60

Asn Ser Thr Met Ala Ser Asn Asn Met Thr Leu Phe Phe Arg Asn Ala

65 70 75 80

Ser Glu Asp Asp Val Gly Tyr Tyr Ser Cys Ser Leu Tyr Thr Tyr Pro

85 90 95

Gln Gly Thr Trp Gln Lys Val Ile Gln Val Val Gln Ser Asp Ser Phe

100 105 110

Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro Gly Lys

115 120 125

Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val Gln Ala

130 135 140

Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu Thr Tyr

145 150 155 160

Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro Arg Gln

165 170 175

Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val Ile Pro

180 185 190

Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu Gln Ala

195 200 205

Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val Ala Glu

210 215 220

Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala Gly Gly Thr Val

225 230 235 240

Leu Leu Leu Leu Phe Val Ile Ser Ile Thr Thr Ile Ile Val Ile Phe

245 250 255

Leu Asn Arg Arg Arg Arg Arg Glu Arg Arg Asp Leu Phe Thr Glu Ser

260 265 270

Trp Asp Thr Gln Lys Ala Pro Asn Asn Tyr Arg Ser Pro Ile Ser Thr

275 280 285

Ser Gln Pro Thr Asn Gln Ser Met Asp Asp Thr Arg Glu Asp Ile Tyr
290 295 300
Val Asn Tyr Pro Thr Phe Ser Arg Arg Pro Lys Thr Arg Val
305 310 315
<210> 492
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Mature CD2
<400> 492
Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp

1 5 10 15
Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp
20 25 30
Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg
35 40 45
Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys
50 55 60
Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile

65 70 75 80
Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys
85 90 95
Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser
100 105 110
Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr
115 120 125
Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser

130 135 140
Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe
145 150 155 160
Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro

165 170 175

Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile

180 185 190

Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe

195 200 205

Tyr Ile Thr Lys Arg Lys Lys Gln Arg Ser Arg Arg Asn Asp Glu Glu

210 215 220

Leu Glu Thr Arg Ala His Arg Val Ala Thr Glu Glu Arg Gly Arg Lys

225 230 235 240

Pro His Gln Ile Pro Ala Ser Thr Pro Gln Asn Pro Ala Thr Ser Gln

245 250 255

His Pro Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Ser Gln Ala Pro Ser His Arg

260 265 270

Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Val Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro

275 280 285

Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu

290 295 300

Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn

325

<210> 493

<211> 154

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD160

<400> 493

Ile Asn Ile Thr Ser Ser Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu

1 5 10 15

Ile Cys Thr Val Trp His Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val

20 25 30

Phe Leu Cys Lys Asp Arg Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu
35 40 45

Lys Gln Leu Arg Leu Lys Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu
50 55 60

Ile Ser Ser Gln Leu Met Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Gln Cys Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg
85 90 95

Leu Gln Gly His Phe Phe Ser Ile Leu Phe Thr Glu Thr Gly Asn Tyr
100 105 110

Thr Val Thr Gly Leu Lys Gln Arg Gln His Leu Glu Phe Ser His Asn
115 120 125

Glu Gly Thr Leu Ser Ser Gly Phe Leu Gln Glu Lys Val Trp Val Met
130 135 140

Leu Val Thr Ser Leu Val Ala Leu Gln Ala
145 150

<210> 494

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD200

<400> 494

Gln Val Gln Val Val Thr Gln Asp Glu Arg Glu Gln Leu Tyr Thr Pro
1 5 10 15

Ala Ser Leu Lys Cys Ser Leu Gln Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ile Val
20 25 30

Thr Trp Gln Lys Lys Lys Ala Val Ser Pro Glu Asn Met Val Thr Phe
35 40 45

Ser Glu Asn His Gly Val Val Ile Gln Pro Ala Tyr Lys Asp Lys Ile
50 55 60

Asn Ile Thr Gln Leu Gly Leu Gln Asn Ser Thr Ile Thr Phe Trp Asn

65 70 75 80

Ile Thr Leu Glu Asp Glu Gly Cys Tyr Met Cys Leu Phe Asn Thr Phe

85 90 95

Gly Phe Gly Lys Ile Ser Gly Thr Ala Cys Leu Thr Val Tyr Val Gln

100 105 110

Pro Ile Val Ser Leu His Tyr Lys Phe Ser Glu Asp His Leu Asn Ile

115 120 125

Thr Cys Ser Ala Thr Ala Arg Pro Ala Pro Met Val Phe Trp Lys Val

130 135 140

Pro Arg Ser Gly Ile Glu Asn Ser Thr Val Thr Leu Ser His Pro Asn

145 150 155 160

Gly Thr Thr Ser Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Asp Pro Lys Asn

165 170 175

Gln Val Gly Lys Glu Val Ile Cys Gln Val Leu His Leu Gly Thr Val

180 185 190

Thr Asp Phe Lys Gln Thr Val Asn Lys Gly Tyr Trp Phe Ser Val Pro

195 200 205

Leu Leu Leu Ser Ile Val Ser Leu Val Ile Leu Leu Val Leu Ile Ser

210 215 220

Ile Leu Leu Tyr Trp Lys Arg His Arg Asn Gln Asp Arg Gly Glu Leu

225 230 235 240

Ser Gln Gly Val Gln Lys Met Thr

245

<210> 495

<211> 297

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature CD200R1(CD200R)

<400> 495

```
Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu
1               5                  10                  15
Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys
            20                  25                  30
Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile
        35                  40                  45
Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr
    50                  55                  60

Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val
65                  70                  75                  80
Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile
                85                  90                  95
Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn
            100                 105                 110
Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr
        115                 120                 125

Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly
    130                 135                 140
Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr
145                 150                 155                 160
Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys
                165                 170                 175
His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His
            180                 185                 190

Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly
        195                 200                 205
Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile
    210                 215                 220
Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys Val Asn Gly
225                 230                 235                 240
Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro Val Val Glu
```

245 250 255

Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Asn Asn Pro
260 265 270
Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Glu Ala Leu Gln Ser
275 280 285
Glu Val Asp Thr Asp Leu His Thr Leu
290 295

<210> 496
<211> 183
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> Mature NC R3 (NKp30)
<400> 496
Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly Ser Ser

1 5 10 15
Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile
20 25 30
Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45
Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser
50 55 60
Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80
Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
85 90 95
Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu
100 105 110
His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Leu Arg Ala Gly Phe
115 120 125
Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val Tyr Tyr

130 135 140

Gln Gly Lys Cys Leu Thr Trp Lys Gly Pro Arg Arg Gln Leu Pro Ala
145 150 155 160

Val Val Pro Ala Pro Leu Pro Pro Pro Cys Gly Ser Ser Ala His Leu
165 170 175

Leu Pro Pro Val Pro Gly Gly
180

<210> 497

<211> 393

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> Mature VSIG8

<400> 497

Val Arg Ile Asn Gly Asp Gly Gln Glu Val Leu Tyr Leu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Asp Asn Val Arg Leu Gly Cys Pro Tyr Val Leu Asp Pro Glu Asp Tyr
20 25 30

Gly Pro Asn Gly Leu Asp Ile Glu Trp Met Gln Val Asn Ser Asp Pro
35 40 45

Ala His His Arg Glu Asn Val Phe Leu Ser Tyr Gln Asp Lys Arg Ile
50 55 60

Asn His Gly Ser Leu Pro His Leu Gln Gln Arg Val Arg Phe Ala Ala
65 70 75 80

Ser Asp Pro Ser Gln Tyr Asp Ala Ser Ile Asn Leu Met Asn Leu Gln
85 90 95

Val Ser Asp Thr Ala Thr Tyr Glu Cys Arg Val Lys Lys Thr Thr Met
100 105 110

Ala Thr Arg Lys Val Ile Val Thr Val Gln Ala Arg Pro Ala Val Pro
115 120 125

Met Cys Trp Thr Glu Gly His Met Thr Tyr Gly Asn Asp Val Val Leu
130 135 140

Lys Cys Tyr Ala Ser Gly Gly Ser Gln Pro Leu Ser Tyr Lys Trp Ala
145 150 155 160
Lys Ile Ser Gly His His Tyr Pro Tyr Arg Ala Gly Ser Tyr Thr Ser
165 170 175
Gln His Ser Tyr His Ser Glu Leu Ser Tyr Gln Glu Ser Phe His Ser
180 185 190

Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asn Asn Gly Asp Leu Val Leu Lys Asp Ile
195 200 205
Ser Arg Ala Asp Asp Gly Leu Tyr Gln Cys Thr Val Ala Asn Asn Val
210 215 220
Gly Tyr Ser Val Cys Val Val Glu Val Lys Val Ser Asp Ser Arg Arg
225 230 235 240
Ile Gly Val Ile Ile Gly Ile Val Leu Gly Ser Leu Leu Ala Leu Gly
245 250 255

Cys Leu Ala Val Gly Ile Trp Gly Leu Val Cys Cys Cys Cys Gly Gly
260 265 270
Ser Gly Ala Gly Gly Ala Arg Gly Ala Phe Gly Tyr Gly Asn Gly Gly
275 280 285
Gly Val Gly Gly Gly Ala Cys Gly Asp Leu Ala Ser Glu Ile Arg Glu
290 295 300
Asp Ala Val Ala Pro Gly Cys Lys Ala Ser Gly Arg Gly Ser Arg Val
305 310 315 320

Thr His Leu Leu Gly Tyr Pro Thr Gln Asn Val Ser Arg Ser Leu Arg
325 330 335
Arg Lys Tyr Ala Pro Pro Pro Cys Gly Gly Pro Glu Asp Val Ala Leu
340 345 350
Ala Pro Cys Thr Ala Ala Ala Ala Cys Glu Ala Gly Pro Ser Pro Val
355 360 365
Tyr Val Lys Val Lys Ser Ala Glu Pro Ala Asp Cys Ala Glu Gly Pro
370 375 380

Val Gln Cys Lys Asn Gly Leu Leu Val

385 390

<210> 498

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD80(B7-1) ECD

<400> 498

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 499

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD86(B7-2) ECD

<400> 499

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn

100 105 110

Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val

115 120 125

Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys

130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp

145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val

165 170 175

Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr

180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

210 215 220

<210> 500

<211> 220

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD274 (PD-L1, B7-H1) ECD

<400> 500

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser

1 5 10 15

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu

20 25 30

Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln

35 40 45

Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg

50 55 60

Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala

65 70 75 80

Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys

85 90 95

Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val

100 105 110

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro

115 120 125

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys

130 135 140

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys

145 150 155 160

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr

165 170 175

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr

180 185 190

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile

195 200 205

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg

210 215 220

<210> 501

<211> 201

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> PDCD1LG2 (PD-L2, CD273) ECD

<400> 501

Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly

1 5 10 15

Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser His Val Asn

20 25 30

Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn Asp Thr Ser

35 40 45

Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu Pro Leu Gly

50 55 60

Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp Glu Gly Gln

65 70 75 80

Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu

85 90 95

Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu

100 105 110

Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly

115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn
130 135 140
Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val
145 150 155 160
Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp

165 170 175
Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser
180 185 190
Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr
195 200

<210> 502
<211> 238
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2) ECD
<400> 502
Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 503

<211> 438

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD276 (B7-H3) ECD

<400> 503

Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr

1 5 10 15

Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu

20 25 30

Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val

35 40 45

His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg

50 55 60

Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg

65 70 75 80

Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val

85 90 95

Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala

100 105 110

Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg

115 120 125

Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro

130 135 140

Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly

145 150 155 160

Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val

165 170 175

His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys

180 185 190

Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr

195 200 205

Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro

210 215 220

Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys

225 230 235 240

Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile

245 250 255

Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly

260 265 270

Arg Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp

275 280 285

Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val

290 295 300

Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly

305 310 315 320

Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser

325 330 335

Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr

340 345 350

Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp

355 360 365

Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln

370 375 380

Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val

385 390 395 400

Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val

405 410 415

Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met

420 425 430

Thr Phe Pro Pro Glu Ala

435

<210> 504

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> VTCN1(B7-H4) ECD

<400> 504

Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr

1 5 10 15

Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys

20 25 30

Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu

35 40 45

Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp

50 55 60

Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe

65 70 75 80

Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val
85 90 95
Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys
100 105 110
Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met
115 120 125
Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys
130 135 140

Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln
145 150 155 160
Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu
165 170 175
Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn
180 185 190
Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala
195 200 205

Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg
210 215 220
Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser
225 230 235
<210> 505
<211> 134
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD28 ECD
<400> 505
Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr Asp Asn
1 5 10 15
Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser Arg Glu

20 25 30

Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu Val Cys

35 40 45

Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser Lys Thr

50 55 60

Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile

85 90 95

Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly

100 105 110

Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe

115 120 125

Pro Gly Pro Ser Lys Pro

130

<210> 506

<211> 150

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> PDCD1 (PD-1) ECD

<400> 506

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr

1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe

20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr

35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu

50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu

65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val
145 150

<210> 507

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> ICOS ECD

<400> 507

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly
1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys
20 25 30

Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr
35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His
50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp
65 70 75 80

His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95

Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu His Ile Tyr Glu
100 105 110

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys

115 120

<210> 508

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> BTLA (CD272) ECD

<400> 508

Lys Glu Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His
1 5 10 15

Ser Ile Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr

20 25 30

Cys Ala Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr
35 40 45

Cys Val Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn
50 55 60

Ile Ser Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn
65 70 75 80

Gly Ser Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser

85 90 95

His Ser Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg
100 105 110

Pro Ser Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg
115 120 125

<210> 509

<211> 371

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD4 ECD

<400> 509

Lys Lys Val Val Leu Gly Lys Lys Gly Asp Thr Val Glu Leu Thr Cys

1 5 10 15

Thr Ala Ser Gln Lys Lys Ser Ile Gln Phe His Trp Lys Asn Ser Asn
20 25 30
Gln Ile Lys Ile Leu Gly Asn Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro
35 40 45
Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln
50 55 60
Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile Lys Asn Leu Lys Ile Glu Asp Ser Asp
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Glu Val Glu Asp Gln Lys Glu Glu Val Gln Leu Leu
85 90 95
Val Phe Gly Leu Thr Ala Asn Ser Asp Thr His Leu Leu Gln Gly Gln
100 105 110
Ser Leu Thr Leu Thr Leu Glu Ser Pro Pro Gly Ser Ser Pro Ser Val
115 120 125
Gln Cys Arg Ser Pro Arg Gly Lys Asn Ile Gln Gly Gly Lys Thr Leu
130 135 140

Ser Val Ser Gln Leu Glu Leu Gln Asp Ser Gly Thr Trp Thr Cys Thr
145 150 155 160
Val Leu Gln Asn Gln Lys Lys Val Glu Phe Lys Ile Asp Ile Val Val
165 170 175
Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser Ser Ile Val Tyr Lys Lys Glu Gly Glu
180 185 190
Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro Leu Ala Phe Thr Val Glu Lys Leu Thr
195 200 205

Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp Gln Ala Glu Arg Ala Ser Ser Ser Lys
210 215 220
Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu Lys Asn Lys Glu Val Ser Val Lys Arg
225 230 235 240
Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu Gln Met Gly Lys Lys Leu Pro Leu His
245 250 255

Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu Pro Gln Tyr Ala Gly Ser Gly Asn Leu
260 265 270

Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys Thr Gly Lys Leu His Gln Glu Val Asn
275 280 285
Leu Val Val Met Arg Ala Thr Gln Leu Gln Lys Asn Leu Thr Cys Glu
290 295 300
Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro Lys Leu Met Leu Ser Leu Lys Leu Glu
305 310 315 320
Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser Lys Arg Glu Lys Ala Val Trp Val Leu
325 330 335

Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp Gln Cys Leu Leu Ser Asp Ser Gly Gln
340 345 350
Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro
355 360 365
Val Gln Pro
370
<210> 510
<211> 161
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD8A (CD8-alpha) ECD
<400> 510
Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr Trp Asn Leu Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser Asn Pro Thr Ser Gly
20 25 30
Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala Ala Ser Pro Thr Phe
35 40 45
Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala Ala Glu Gly Leu Asp
50 55 60
Thr Gln Arg Phe Ser Gly Lys Arg Leu Gly Asp Thr Phe Val Leu Thr

65 70 75 80

Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr Tyr Phe Cys Ser Ala
85 90 95
Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu
100 105 110
Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
115 120 125
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
130 135 140

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
145 150 155 160
Asp

<210> 511
<211> 149
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> CD8B (CD8-beta) ECD
<400> 511
Leu Gln Gln Thr Pro Ala Tyr Ile Lys Val Gln Thr Asn Lys Met Val
1 5 10 15
Met Leu Ser Cys Glu Ala Lys Ile Ser Leu Ser Asn Met Arg Ile Tyr
20 25 30

Trp Leu Arg Gln Arg Gln Ala Pro Ser Ser Asp Ser His His Glu Phe
35 40 45
Leu Ala Leu Trp Asp Ser Ala Lys Gly Thr Ile His Gly Glu Glu Val
50 55 60
Glu Gln Glu Lys Ile Ala Val Phe Arg Asp Ala Ser Arg Phe Ile Leu
65 70 75 80
Asn Leu Thr Ser Val Lys Pro Glu Asp Ser Gly Ile Tyr Phe Cys Met

85 90 95

Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr Gln Leu Ser
100 105 110
Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro Thr Lys Lys Ser Thr
115 120 125
Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro Glu Thr Gln Lys Gly
130 135 140
Pro Leu Cys Ser Pro
145

<210> 512
<211> 422
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221
> MISC_FEATURE
<223> LAG3 ECD
<400> 512

Val Pro Val Val Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys
1 5 10 15
Ser Pro Thr Ile Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly
20 25 30
Val Thr Trp Gln His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro
35 40 45
Gly His Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp

50 55 60
Gly Pro Arg Pro Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ser Gly Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu
85 90 95
Arg Gly Arg Gln Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg
100 105 110
Arg Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg

115 120 125

Ala Leu Ser Cys Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr

130 135 140

Ala Ser Pro Pro Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn

145 150 155 160

Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg

165 170 175

Asn Arg Gly Gln Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His

180 185 190

Leu Ala Glu Ser Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser

195 200 205

Gly Pro Trp Gly Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser

210 215 220

Ile Met Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu

225 230 235 240

Thr Val Tyr Ala Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu

245 250 255

Pro Ala Gly Val Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro

260 265 270

Pro Gly Gly Gly Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe

275 280 285

Thr Leu Arg Leu Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr

290 295 300

Cys His Ile His Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu

305 310 315 320

Ala Ile Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu

325 330 335

Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe

340 345 350

Val Trp Ser Ser Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro

355 360 365

Trp Leu Glu Ala Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys

370 375 380

Gln Leu Tyr Gln Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr
385 390 395 400

Glu Leu Ser Ser Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala
405 410 415

Leu Pro Ala Gly His Leu
420

<210> 513

<211> 181

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> HAVCR2 (TIM-3) ECD

<400> 513

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu

130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn

145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala

165 170 175

Thr Ile Arg Ile Gly

180

<210> 514

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221

> MISC_FEATURE

<223> CEACAM1 ECD

<400> 514

Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu

1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly Tyr Ser

20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val Gly Tyr

35 40 45

Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser Gly Arg

50 55 60

Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln

65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val

85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys

100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala

115 120 125

Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Thr Thr Tyr Leu Trp

130 135 140

Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser

145 150 155 160

Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn Asp Thr

165 170 175

Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn Arg Ser

180 185 190

Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro Thr Ile

195 200 205

Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser Leu Ser

210 215 220

Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu Ile Asn

225 230 235 240

Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr

245 250 255

Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser Val Thr

260 265 270

Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu Leu Ser

275 280 285

Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr Val Thr

290 295 300

Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp Thr Gly

305 310 315 320

Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser Ser Glu

325 330 335

Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn Pro Val

340 345 350

Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn Pro Ile

355 360 365

Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr Asn Ala

370 375 380

Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly

385 390

<210> 515

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> TIGIT ECD

<400> 515

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys

1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln

20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys

35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val

50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn

65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr

85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu

100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro

115 120

<210> 516

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> PVR (CD155) ECD

<400> 516

Trp Pro Pro Pro Gly Thr Gly Asp Val Val Val Gln Ala Pro Thr Gln

1 5 10 15

Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp Ser Val Thr Leu Pro Cys Tyr Leu Gln

20 25 30

Val Pro Asn Met Glu Val Thr His Val Ser Gln Leu Thr Trp Ala Arg

35 40 45

His Gly Glu Ser Gly Ser Met Ala Val Phe His Gln Thr Gln Gly Pro

50 55 60

Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg Leu Glu Phe Val Ala Ala Arg Leu Gly

65 70 75 80

Ala Glu Leu Arg Asn Ala Ser Leu Arg Met Phe Gly Leu Arg Val Glu

85 90 95

Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Leu Phe Val Thr Phe Pro Gln Gly Ser

100 105 110

Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu Arg Val Leu Ala Lys Pro Gln Asn Thr

115 120 125

Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro Val Pro Met Ala

130 135 140

Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln Ile Thr Trp His

145 150 155 160

Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val Pro Gly Phe Leu

165 170 175

Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser Ser

180 185 190

Gln Val Asp Gly Lys Asn Val Thr Cys Lys Val Glu His Glu Ser Phe

195 200 205

Glu Lys Pro Gln Leu Leu Thr Val Asn Leu Thr Val Tyr Tyr Pro Pro

210 215 220

Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asn Asn Trp Tyr Leu Gly Gln Asn

225 230 235 240

Glu Ala Thr Leu Thr Cys Asp Ala Arg Ser Asn Pro Glu Pro Thr Gly

245 250 255

Tyr Asn Trp Ser Thr Thr Met Gly Pro Leu Pro Pro Phe Ala Val Ala
260 265 270
Gln Gly Ala Gln Leu Leu Ile Arg Pro Val Asp Lys Pro Ile Asn Thr

275 280 285
Thr Leu Ile Cys Asn Val Thr Asn Ala Leu Gly Ala Arg Gln Ala Glu
290 295 300
Leu Thr Val Gln Val Lys Glu Gly Pro Pro Ser Glu His Ser Gly Ile
305 310 315 320
Ser Arg Asn

<210> 517
<211> 329
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<223> PVRL2 (CD112) ECD
<400> 517
Gln Asp Val Arg Val Gln Val Leu Pro Glu Val Arg Gly Gln Leu Gly

1 5 10 15
Gly Thr Val Glu Leu Pro Cys His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Leu
20 25 30
Tyr Ile Ser Leu Val Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ala Pro Ala Asn His
35 40 45
Gln Asn Val Ala Ala Phe His Pro Lys Met Gly Pro Ser Phe Pro Ser
50 55 60
Pro Lys Pro Gly Ser Glu Arg Leu Ser Phe Val Ser Ala Lys Gln Ser

65 70 75 80
Thr Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu
85 90 95
His Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala
100 105 110
Thr Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile

115 120 125

Ala Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln

130 135 140

Asp Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro

145 150 155 160

Ala Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr

165 170 175

Gln Val Ser Gly Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Arg Phe

180 185 190

Thr Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys

195 200 205

Val Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu

210 215 220

Ser Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn

225 230 235 240

Trp Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser

245 250 255

Asn Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe

260 265 270

Pro Thr Ser Ala Val Ala Gln Gly Ser Gln Leu Val Ile His Ala Val

275 280 285

Asp Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val

290 295 300

Gly Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn

305 310 315 320

Thr Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly

325

<210> 518

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD226 ECD

<400> 518

Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn Met Ser
1 5 10 15

Leu Glu Cys Val Tyr Pro Ser Met Gly Ile Leu Thr Gln Val Glu Trp
20 25 30

Phe Lys Ile Gly Thr Gln Gln Asp Ser Ile Ala Ile Phe Ser Pro Thr
35 40 45

His Gly Met Val Ile Arg Lys Pro Tyr Ala Glu Arg Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Asn Ser Thr Met Ala Ser Asn Asn Met Thr Leu Phe Phe Arg Asn Ala
65 70 75 80

Ser Glu Asp Asp Val Gly Tyr Tyr Ser Cys Ser Leu Tyr Thr Tyr Pro
85 90 95

Gln Gly Thr Trp Gln Lys Val Ile Gln Val Val Gln Ser Asp Ser Phe
100 105 110

Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro Gly Lys
115 120 125

Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val Gln Ala
130 135 140

Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu Thr Tyr
145 150 155 160

Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro Arg Gln
165 170 175

Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val Ile Pro
180 185 190

Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu Gln Ala
195 200 205

Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val Ala Glu
210 215 220

Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala

225 230 235

<210> 519

<211> 185

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD2 ECD

<400> 519

Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp
1 5 10 15
Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp
20 25 30
Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg
35 40 45
Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys

50 55 60
Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile
65 70 75 80
Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys
85 90 95
Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser
100 105 110
Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr

115 120 125
Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser
130 135 140
Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe
145 150 155 160
Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro
165 170 175
Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu Asp

180 185

<210> 520

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD160 ECD

<400> 520

Ile Asn Ile Thr Ser Ser Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu
1 5 10 15

Ile Cys Thr Val Trp His Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val
20 25 30

Phe Leu Cys Lys Asp Arg Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu
35 40 45

Lys Gln Leu Arg Leu Lys Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu
50 55 60

Ile Ser Ser Gln Leu Met Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Gln Cys Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg
85 90 95

Leu Gln Gly His Phe Phe Ser Ile Leu Phe Thr Glu Thr Gly Asn Tyr
100 105 110

Thr Val Thr Gly Leu Lys Gln Arg Gln His Leu Glu Phe Ser His Asn
115 120 125

Glu Gly Thr Leu Ser
130

<210> 521

<211> 202

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD200 ECD

<400> 521

Gln Val Gln Val Val Thr Gln Asp Glu Arg Glu Gln Leu Tyr Thr Pro
1 5 10 15

Ala Ser Leu Lys Cys Ser Leu Gln Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ile Val
20 25 30

Thr Trp Gln Lys Lys Lys Ala Val Ser Pro Glu Asn Met Val Thr Phe
35 40 45

Ser Glu Asn His Gly Val Val Ile Gln Pro Ala Tyr Lys Asp Lys Ile
50 55 60

Asn Ile Thr Gln Leu Gly Leu Gln Asn Ser Thr Ile Thr Phe Trp Asn
65 70 75 80

Ile Thr Leu Glu Asp Glu Gly Cys Tyr Met Cys Leu Phe Asn Thr Phe
85 90 95

Gly Phe Gly Lys Ile Ser Gly Thr Ala Cys Leu Thr Val Tyr Val Gln
100 105 110

Pro Ile Val Ser Leu His Tyr Lys Phe Ser Glu Asp His Leu Asn Ile
115 120 125

Thr Cys Ser Ala Thr Ala Arg Pro Ala Pro Met Val Phe Trp Lys Val
130 135 140

Pro Arg Ser Gly Ile Glu Asn Ser Thr Val Thr Leu Ser His Pro Asn
145 150 155 160

Gly Thr Thr Ser Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Asp Pro Lys Asn
165 170 175

Gln Val Gly Lys Glu Val Ile Cys Gln Val Leu His Leu Gly Thr Val
180 185 190

Thr Asp Phe Lys Gln Thr Val Asn Lys Gly
195 200

<210> 522

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> CD200R1 (CD200R) ECD

<400> 522

Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu

1 5 10 15

Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys

20 25 30

Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile

35 40 45

Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr

50 55 60

Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val

65 70 75 80

Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile

85 90 95

Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn

100 105 110

Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr

115 120 125

Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly

130 135 140

Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr

145 150 155 160

Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys

165 170 175

His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His

180 185 190

Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly

195 200 205

Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu

210 215

<210> 523

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> NC R3 (NKp30) ECD

<400> 523

Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly Ser Ser
1 5 10 15

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile
20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser
50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu
100 105 110

His Pro Gln Leu Gly
115

<210> 524

<211> 242

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> VSIG8 ECD

<400> 524

Val Arg Ile Asn Gly Asp Gly Gln Glu Val Leu Tyr Leu Ala Glu Gly
1 5 10 15

Asp Asn Val Arg Leu Gly Cys Pro Tyr Val Leu Asp Pro Glu Asp Tyr

20 25 30

Gly Pro Asn Gly Leu Asp Ile Glu Trp Met Gln Val Asn Ser Asp Pro
35 40 45
Ala His His Arg Glu Asn Val Phe Leu Ser Tyr Gln Asp Lys Arg Ile
50 55 60
Asn His Gly Ser Leu Pro His Leu Gln Gln Arg Val Arg Phe Ala Ala
65 70 75 80
Ser Asp Pro Ser Gln Tyr Asp Ala Ser Ile Asn Leu Met Asn Leu Gln
85 90 95

Val Ser Asp Thr Ala Thr Tyr Glu Cys Arg Val Lys Lys Thr Thr Met
100 105 110
Ala Thr Arg Lys Val Ile Val Thr Val Gln Ala Arg Pro Ala Val Pro
115 120 125
Met Cys Trp Thr Glu Gly His Met Thr Tyr Gly Asn Asp Val Val Leu
130 135 140
Lys Cys Tyr Ala Ser Gly Gly Ser Gln Pro Leu Ser Tyr Lys Trp Ala
145 150 155 160

Lys Ile Ser Gly His His Tyr Pro Tyr Arg Ala Gly Ser Tyr Thr Ser
165 170 175
Gln His Ser Tyr His Ser Glu Leu Ser Tyr Gln Glu Ser Phe His Ser
180 185 190
Ser Ile Asn Gln Gly Leu Asn Asn Gly Asp Leu Val Leu Lys Asp Ile
195 200 205
Ser Arg Ala Asp Asp Gly Leu Tyr Gln Cys Thr Val Ala Asn Asn Val
210 215 220

Gly Tyr Ser Val Cys Val Val Glu Val Lys Val Ser Asp Ser Arg Arg
225 230 235 240
Ile Gly

<210> 525
<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc (C5S (C220S), R77C, (R292C), N82G (N297G), V87C (V302C), L232del (K447del))

<400> 525

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
65 70 75 80
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 526

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc with C220S/L234A/L235E/G237A/K447del

<400> 526

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 527

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc with C220S/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/K447del

<400> 527

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230

<210> 528

<211> 230

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc with C220S/E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/K447del

<400> 528

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
130 135 140
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Ser Pro Gly
225 230

<210> 529
<211> 235
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG2 Fc
<400> 529
Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15
Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
20 25 30
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
35 40 45
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
50 55 60

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
65 70 75 80
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
85 90 95
Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
100 105 110
Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
115 120 125

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
130 135 140
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
145 150 155 160
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
165 170 175
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
180 185 190

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
195 200 205
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
210 215 220
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 530
<211> 229
<212> PRT
<213> Artificial Sequences
<220><223> IgG4 Fc
<400> 530
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65 70 75 80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys
225
<210> 531
<211> 229
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgG4 Fc S228P
<400> 531

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

20 25 30
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85 90 95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys
225
<210> 532

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG1 Fc C220S

<400> 532

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 533

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<223> IgG1 Fc

<400> 533

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 534
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker
<400> 534
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 535
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> 4GS Linker
<400> 535
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 536
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IgV-IgV linker
<400> 536
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 537

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgV-Fc linker 1

<400> 537

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 538

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgV-Fc linker 2

<400> 538

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala

1 5 10

<210> 539

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Stuffer

<400> 539

His Met Ser Ser Val Ser Ala Gln

1 5

<210> 540

<211> 71

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8-derived hinge and transmembrane domain

<400> 540

Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr

1 5 10 15

Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Ser Arg Pro Ala

20 25 30

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Ser Asp Ile

35 40 45

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser

50 55 60

Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

65 70

<210> 541

<211> 69

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8-derived hinge and transmembrane domain (2nd gen CAR)

<400> 541

Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro

1 5 10 15

Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro

20 25 30

Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp

35 40 45

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu

50 55 60

Ser Leu Val Ile Thr

65

<210> 542

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD3zeta intracellular signaling domain

<400> 542

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 543

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 4-1BB-derived costimulatory domain

<400> 543

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 544

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28-derived costimulatory domain

<400> 544

Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

1 5 10 15

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

20 25 30

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 545

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28-derived costimulatory domain 2

<400> 545

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 546

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD28-derived costimulatory domain 3

<400> 546

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

1 5 10 15

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

20 25 30

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 547

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HSA signal peptide

<400> 547

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 548

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ig kappa light chain

<400> 548

Met Asp Met Arg Ala Pro Ala Gly Ile Phe Gly Phe Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

Phe Pro Gly Tyr Arg Ser

20

<210> 549

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human azurocidin preprotein signal sequence

<400> 549

Met Thr Arg Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ser

1 5 10 15

Ser Arg Ala

<210> 550

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 550

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 551

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 551

Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 552

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 552

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 553

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 553

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly

1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 554

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 554

Met Asp Trp Thr Trp Arg Phe Leu Phe Val Val Ala Ala Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val Gln Ser

<210> 555

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 555

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 556

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 556

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Phe Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 557

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG heavy chain signal peptide

<400> 557

Met Asp Leu Leu His Lys Asn Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp Val Leu Ser

20 25

<210> 558

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG Kappa light chain signal sequence

<400> 558

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys

20

<210> 559

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgG Kappa light chain signal sequence

<400> 559

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala

1 5 10 15

Ala Gln Pro Ala Met Ala

20

<210> 560

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gaussia luciferase

<400> 560

Met Gly Val Lys Val Leu Phe Ala Leu Ile Cys Ile Ala Val Ala Glu

1 5 10 15

Ala

<210> 561

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human albumin

<400> 561

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 562

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chymotrypsinogen

<400> 562

Met Ala Phe Leu Trp Leu Leu Ser Cys Trp Ala Leu Leu Gly Thr Thr

1 5 10 15

Phe Gly

<210> 563

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human interleukin-2

<400> 563

Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ile Leu Ala Leu Val

1 5 10

<210> 564

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human trypsinogen-2

<400> 564

Met Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala
1 5 10 15

<210> 565

<211> 68

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 hinge and transmembrane domain

<400> 565

Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
1 5 10 15

Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
20 25 30

Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
35 40 45

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
50 55 60

Leu Val Ile Thr
65

<210> 566

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A protein

<400> 566

Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu
1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro
20

<210> 567

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A

Protein

<400> 567

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 568

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A

<400> 568

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 569

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CTLA-4 wild-type ECD

<400> 569

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Gln
115 120 125

<210> 570
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P

ECD

<400> 570
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Ile Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Asn Val Ile Asp Pro Asp Pro Pro Pro Pro Ile Pro
115 120 125

<210> 571

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T ECD

<400> 571

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Ala Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ile Pro Thr
115 120 125

<210> 572

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P ECD

<400> 572

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Gly Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Asp Pro Pro Pro Pro Ile Pro
115 120 125

<210> 573
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T ECD
<400> 573

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Ser Cys Pro Asp Ser Thr

115 120 125

<210> 574

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12H/E33M/L98Q/Y105L ECD

<400> 574

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Met Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 575

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 575

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 576

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/M99L/Y105L ECD

<400> 576

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Thr Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 577

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 577

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 578

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/L63P/L98Q ECD

<400> 578

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 579
<211> 126
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> T53S/L63P/Y105L ECD
<400> 579
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 580

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q ECD

<400> 580

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 581

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L ECD

<400> 581

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 582

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L ECD

<400> 582

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 583

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 583

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 584

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 584

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 585

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 585

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Ser Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 586

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L ECD

<400> 586

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 587

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/L98Q/Y105L ECD

<400> 587

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 588

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/M99L/Y105L ECD

<400> 588

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 589

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/L98Q/M99L ECD

<400> 589

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 590

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/M99L ECD

<400> 590

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Val Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Leu Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 591

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q ECD

<400> 591

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 592

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L ECD

<400> 592

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 593

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L ECD

<400> 593

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 594

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L ECD

<400> 594

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 595

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/M56T/L98Q/Y105L ECD

<400> 595

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 596

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/G29W/L98Q/Y105L ECD

<400> 596

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 597

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/L98Q/Y105L ECD

<400> 597

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 598

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> R16H/L98Q/Y105L ECD

<400> 598

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser His
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 599

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/L98Q/Y105L ECD

<400> 599

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 600

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> M56T/L98Q/Y105L ECD

<400> 600

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 601

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 601

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 602

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L ECD

<400> 602

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Gln Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 603

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T89A/L98Q/M99L/Y105L/L106I/Y115N/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P IgV domain

<400> 603

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Ala Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 604

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> N58S/L63P/T71A/S72G/L98Q/M99L/Y105L/D124I/S125P/D126T IgV domain

<400> 604

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Ala Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 605
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> R16G/E33M/N58S/E59G/L63P/L98Q/Y105L/E120D/C122P/D124P/S125I/D126P
IgV
<400> 605
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Gly Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Met Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Ser Gly Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 606

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/L63P/S72G/L98Q/Y105L/P121S/D126T IgV domain

<400> 606

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 607

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12H/E33M/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 607

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val His Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Met Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 608

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 608

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 609

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T/A26T/M55T/M56K/L63P/L98Q/ M99L/Y105L IgV domain

<400> 609

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Thr Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 610

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T/A26T/M56K/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 610

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Thr Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 611

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/L63P/L98Q IgV domain

<400> 611

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 612

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/L63P/Y105L IgV domain

<400> 612

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Ser Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 613

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q IgV domain

<400

> 613

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 614

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/M87V/Y105L IgV domain

<400> 614

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 615

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/L63P/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 615

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 616

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/N58S/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 616

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Ser Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 617

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/M56K/L63P/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 617

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Ser Tyr Met Lys Gly Asn Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 618

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> T53S/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 618

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Ser Tyr Met Met Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 619

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> M56K/N58S/L63P/M87V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 619

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Lys Gly Ser Glu Leu Thr Phe Pro Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 620

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 620

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Val Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 621

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/M99L/Y105L IgV domain

<400> 621

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Val Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 622

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/L98Q/M99L IgV domain

<400> 622

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Val Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 623

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> E33V/M99L IgV domain

<400> 623

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Val Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Leu

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 624

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/L98Q IgV domain

<400> 624

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr

100

<210> 625

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/Y105L IgV domain

<400> 625

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 626

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 626

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 627
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> L12F/R16H/M56T/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 627
His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala

1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 628
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> G29W/M56T/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 628

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 629

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/G29W/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 629

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 630
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> L12F/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 630

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met
85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 631
<211> 102
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> R16H/L98Q/Y105L IgV domain
<400> 631

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser His Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 632

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 632

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 633

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> M56T/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 633

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30
Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly
65 70 75 80
Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
100

<210> 634

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> L12F/R16H/G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 634

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Phe Ala Ser Ser His Gly Ile Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 635

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> G29W/M56T/S72G/L98Q/Y105L IgV domain

<400> 635

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile Ala

1 5 10 15

Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Trp Lys Ala Thr Glu Val Arg

20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala

35 40 45

Ala Thr Tyr Met Thr Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser Ile

50 55 60

Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Met

85 90 95

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu

100

<210> 636

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T, T61R, L63P, S72G, L98Q, M99L, P102L, Y105L ECD

<400> 636

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Thr Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Arg Phe Pro Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Gln Leu Tyr Pro Leu Pro Tyr Leu Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp
115 120 125

<210> 637

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> I18T, T61R, L63P, S72G, L98Q, M99L, P102L, Y105L IgV domain

<400> 637

His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Thr Ala
1 5 10 15
Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr Glu Val Arg
20 25 30

Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu Val Cys Ala
35 40 45
Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Arg Phe Pro Asp Asp Ser Ile
50 55 60
Cys Thr Gly Thr Gly Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr Ile Gln Gly

65 70 75 80

Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Gln Leu

85 90 95

Tyr Pro Leu Pro Tyr Leu

100

<210> 638

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Fc with C220S/E356D/M358L/K447del

<400> 638

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

225 230