(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0051800
(43) 공개일자 2025년04월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2851 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2025-7011280(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년07월31일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2020-7005238
원출원일자(국제) 2018년07월31일
심사청구일자 2021년07월29일
(85) 번역문제출일자 2025년04월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/044610
(87) 국제공개번호 WO 2019/028027
국제공개일자 2019년02월07일
(30) 우선권주장
62/539,421 2017년07월31일 미국(US)

(71) 출원인
드래곤플라이 쎄라퓨틱스, 인크.
미국 02451 매사추세츠 월섬 써드 애비뉴 180 식스쓰 플로어
(72) 발명자
창, 그레고리 피.
미국 메사추세츠주 02155 메드포드 손더스 스트리트 143
청, 앤 에프.
미국 메사추세츠주 01773 링컨 모닝사이드 레인 25
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이귀동

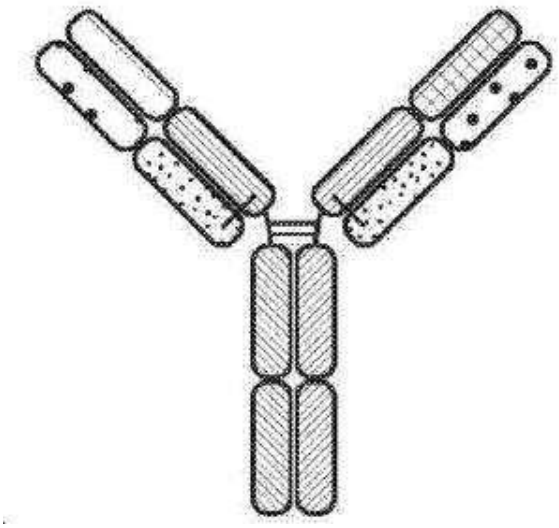
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **NKG2D, CD16 및 FLT3에 결합하는 단백질**

(57) 요 약

NKG2D 수용체, CD16 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질뿐만 아니라 암의 치료에 유용한 약제학적 조성물 및 치료 방법이 기재된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/283 (2013.01)
C07K 16/2863 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
(72) 발명자
핸니, 윌리엄
미국 메사추세츠주 01778 웨이랜드 링컨 로드 61
룬드, 브래들리 엠.
미국 뉴햄프셔주 03766 레바논 루센트 드라이브 7
프린츠, 비앙카
미국 뉴햄프셔주 03766 레바논 루센트 드라이브 7

명 세 서

청구범위

청구항 1

단백질의 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참고

[0002] 본 출원은 2017년 7월 31일에 출원한 미국 가특허 출원 번호 62/539,421을 우선권으로 주장하며, 그 내용은 그 전문이 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 그 전문이 본원에 참고로 포함된다. 2018년 7월 30일에 생성된 상기 ASCII 사본은 DFY-027WO_SL.txt로 명명되고, 103,731 바이트의 크기를 갖는다.

[0005] 발명의 분야

[0006] 본 발명은 NKG2D 수용체, CD16 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 암은 이 질환을 치료하기 위한 문헌에 보고된 상당한 연구 노력과 과학적 진보에도 불구하고 건강에 심각한 문제가 되고 있다. 혈액 및 골수암은 다발성 골수종, 백혈병 및 림프종을 포함한 암 유형으로 흔히 진단된다. 이들 암에 대한 현재의 치료 옵션은 모든 환자에 효과적이지 않으며/않거나 실질적인 부작용을 가질 수 있다. 다른 유형의 암 또한 기존 치료 옵션을 사용하여 치료하기가 여전히 힘들다.

[0008] 암 면역요법은 고도로 특이적이고 환자 자신의 면역계를 사용하여 암 세포의 파괴를 용이하게 할 수 있기 때문에 바람직하다. 융합 단백질, 예컨대 이중-특이적 T-세포 인게이저는 종양 세포 및 T-세포에 결합하여 종양 세포의 파괴를 용이하게 하는, 문헌에 기재된 암 면역요법이다. 특정 종양-관련 항원 및 특정 면역 세포에 결합하는 항체는 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, WO 2016/134371 및 WO 2015/095412를 참고한다.

[0009] 천연 킬러 (NK) 세포는 선천성 면역계의 성분이고, 순환 림프구의 대략 15%를 구성한다. NK 세포는 사실상 모든 조직에 침투하며, 원래 사전 민감화에 대한 필요없이 효과적으로 종양 세포를 사멸시키는 능력을 특징으로 하였다. 활성화된 NK 세포는 세포독성 T 세포와 유사한 수단에 의해 - 즉, 퍼포린 및 그랜자임을 함유하는 세포용해성 과립을 통해서, 뿐만 아니라 사멸 수용체 경로를 통해서 표적 세포를 사멸시킨다. 활성화된 NK 세포는 또한 표적 조직으로 다른 백혈구의 동원을 촉진시키는 염증성 시토카인, 예컨대 IFN-γ 및 케모카인을 분비한다.

[0010] NK 세포는 그들의 표면 상의 다양한 활성화 및 억제 수용체를 통해 신호에 반응한다. 예를 들어, NK 세포가 건강한 자가-세포와 직면할 때, 그들의 활성은 킬러-세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)의 활성화를 통해 억제된다. 대안적으로, NK 세포가 외래 세포 또는 암 세포와 직면할 때, 그들은 그들의 활성화 수용체 (예를 들어, NKG2D, NCR, DNAM1)를 통해 활성화된다. NK 세포는 또한 그들의 표면 상의 CD16 수용체를 통해 일부 이뮤노글로불린의 불변 영역에 의해 활성화된다. 활성화에 대한 NK 세포의 전반적인 민감도는 자극 및 억제 신호의 합에 따라 좌우된다.

[0011] 다능성 전구체 및 일반적인 림프성 선조체에서 발현되는 수용체 티로신 키나제인 FMS-유사 티로신 키나제-3 (FLT3)은 조혈 및 면역계의 발달에 중요하다. FLT3을 통한 신호전달은 세포 생존, 증식 및 분화에서 중요한 역할을 한다. FLT3 수용체의 돌연변이는 백혈병, 예를 들어 급성 골수성 백혈병, T-세포 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 모발상 세포 백혈병의 발병을 가져올 수 있다. FLT3의 내부 탠덤 복제 (FLT3-ITD)는 급성 골수성 백혈병 (AML)과 연관된 가장 흔한 돌연변이다.

발명의 내용

[0012] 요약

[0013] 본 발명은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 그러한 단백질은 1종 초과의 NK-활성화 수용체에 결속할 수 있고, NKG2D에 대한 천연 리간드의 결합을 차단할 수 있다. 특정 구현예에서, 단백질은 인간에서 NK 세포를 효능화시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 단백질은 인간 및 다른 종, 예컨대 설치류 및 시노몰구스 원숭이에서 NK 세포를 효능화시킬 수있다. 본 발명의 다양한 양상 및 구현예는 아래에 더 상세히 기술된다.

[0014] 따라서, 본 발명의 한 양상은 NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위; 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 제2 항원-결합 부위; 및 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인, 그의 부분, 또는 CD16에 결합하는 제3 항원-결합 부위를 포함하는 단백질을 제공한다.

[0015] 항원-결합 부위는 각각 항체 중쇄 가변 도메인 및 항체 경쇄 가변 도메인 (예를 들어, 항체에서와 같이 배열되거나, 또는 함께 융합되어 scFv를 형성함)을 포함할 수 있거나, 또는 항원-결합 부위 중 하나 이상은 단일 도메인 항체, 예컨대 낙타과 항체와 같은 V_HH 항체, 또는 연골 어류에서 발견되는 것들과 같은 V_{NAR} 항체일 수 있다.

[0016] 한 양상에서, 본 발명은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. NKG2D-결합 부위는 서열번호: 1, 서열번호: 41, 서열번호: 49, 서열번호: 57, 서열번호: 59, 서열번호: 61, 서열번호: 69, 서열번호: 77, 서열번호: 85 및 서열번호: 93으로부터 선택된 아미노산과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0017] 일구 구현예에서, NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 서열번호: 1과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖고/갖거나 서열번호: 1의 CDR1 (서열번호: 105), CDR2 (서열번호: 106) 및 CDR3 (서열번호: 107) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함함으로써, 서열번호: 1과 관련된 중쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 서열번호: 1과 관련된 중쇄 가변 도메인은 다양한 경쇄 가변 도메인과 커플링되어 NKG2D 결합 부위를 형성할 수 있다. 예를 들어, 서열번호: 1과 관련된 중쇄 가변 도메인을 포함하는 제 1 항원 결합 부위는 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 및 40과 관련된 서열 중 어느 하나로부터 선택된 경쇄 가변 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 1과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인; 및 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 및 40으로부터 선택된 어느 하나의 서열과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0018] 대안적으로, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 41과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 42와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 41과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 41의 CDR1 (서열번호: 43), CDR2 (서열번호: 44) 및 CDR3 (서열번호: 45) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 42와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 42의 CDR1 (서열번호: 46), CDR2 (서열번호: 47) 및 CDR3 (서열번호: 48) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0019] 다른 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 49와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 50과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 49와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 49의 CDR1 (서열번호: 51), CDR2 (서열번호: 52) 및 CDR3 (서열번호: 53) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 50과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 50의 CDR1 (서열번호: 54), CDR2 (서열번호: 55) 및 CDR3 (서열번호: 56) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0020] 대안적으로, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 서열번호: 57과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖고 서열번호: 58과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써, 서열번호: 57과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 58과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다.

[0021] 또 다른 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 59와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 60과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 59와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 59의 CDR1 (서열번호: 134), CDR2 (서열번호: 135) 및 CDR3 (서열번호: 136) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 60과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 60의 CDR1 (서열번호: 137), CDR2 (서열번호: 138) 및 CDR3 (서열번호: 139) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0022] 일구 구현예에서, NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 61과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 62와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원 결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 61과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 61의 CDR1 (서열번호: 63), CDR2 (서열번호: 64) 및 CDR3 (서열번호: 65) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 62와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 62의 CDR1 (서열번호: 66), CDR2 (서열번호: 67) 및 CDR3 (서열번호: 68) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 69와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 70과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 69와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 69의 CDR1 (서열번호: 71), CDR2 (서열번호: 72) 및 CDR3 (서열번호: 73) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 70과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 70의 CDR1 (서열번호: 74), CDR2 (서열번호: 75) 및 CDR3 (서열번호: 76) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0023] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 77과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 78과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 77과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 77의 CDR1 (서열번호: 79), CDR2 (서열번호: 80) 및 CDR3 (서열번호: 81) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 78과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 78의 CDR1 (서열번호: 82), CDR2 (서열번호: 83) 및 CDR3 (서열번호: 84) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0024] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 85와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 86과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 85와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 85의 CDR1 (서열번호: 87), CDR2 (서열번호: 88) 및 CDR3 (서열번호: 89) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 86과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 86의 CDR1 (서열번호: 90), CDR2 (서열번호: 91) 및 CDR3 (서열번호: 92) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0025] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는 서열번호: 93과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 94와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 93과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 93의 CDR1 (서열번호: 95), CDR2 (서열번호: 96) 및 CDR3 (서열번호: 97) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 94와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 94의 CDR1 (서열번호: 98), CDR2 (서열번호: 99) 및 CDR3 (서열번호: 100) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수

있다.

[0026] 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 서열번호: 101과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖고 서열번호: 102와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써, 서열번호: 101과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 102와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 서열번호: 103과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖고 서열번호: 104와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써, 서열번호: 103과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 104와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다.

[0027] 일부 구현예에서, FLT3에 결합하는 제2 항원-결합 부위는 서열번호: 109와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 113과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 109와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 109의 CDR1 (서열번호: 110), CDR2 (서열번호: 111) 및 CDR3 (서열번호: 112) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 113과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 113의 CDR1 (서열번호: 114), CDR2 (서열번호: 115) 및 CDR3 (서열번호: 116) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0028] 대안적으로, FLT3에 결합하는 제2 항원-결합 부위는 서열번호: 117과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 121과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 117과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 117의 CDR1 (서열번호: 118), CDR2 (서열번호: 119) 및 CDR3 (서열번호: 120) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 121과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 121의 CDR1 (서열번호: 122), CDR2 (서열번호: 123) 및 CDR3 (서열번호: 124) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0029] 대안적으로, FLT3에 결합하는 제2 항원-결합 부위는 서열번호: 125와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 서열번호: 129와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 125와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 125의 CDR1 (서열번호: 126), CDR2 (서열번호: 127) 및 CDR3 (서열번호: 128) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 서열번호: 129와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/있거나 서열번호: 129의 CDR1 (서열번호: 130), CDR2 (서열번호: 131) 및 CDR3 (서열번호: 132) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0030] 일부 구현예에서, 제2 항원-결합 부위는 제1 항원-결합 부위에 존재하는 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, 단백질은 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인의 부분을 포함하며, 상기 항체 Fc 도메인은 힌지 및 CH2 도메인, 및/또는 인간 IgG 항체의 아미노산 서열 234-332와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0032] 본원에 기재된 단백질 중 어느 하나를 함유하는 제형, 상기 단백질을 발현하는 하나 이상의 핵산을 함유하는 세포, 및 이들 단백질을 사용하여 종양 세포 사멸을 증진시키는 방법이 또한 제공된다.

[0033] 본 발명의 또 다른 양상은 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료학적 유효량의 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질을 투여하는 것을 포함한다. 다중-특이적 결합 단백질을 사용하여 치료될 예시적인 암은, 예를 들어, 급성 골수성 백혈병, T-세포 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 및 모발상 세포 백혈병을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0034] **도 1**은 이종이량체성 다중-특이적 항체의 대표도이다. 각 아암은 NKG2D-결합 도메인 또는 FLT3 결합 도메인을

나타낼 수 있다. 일부 구현예에서, NKG2D- 및 FLT3-결합 도메인은 공통 경쇄를 공유할 수 있다.

도 2는 이종이량체성 다중-특이적 항체의 대표도이다. NKG2D-결합 도메인 또는 FLT3-결합 도메인은 scFv 포맷(우측 아암)을 취할 수 있다.

도 3은 ELISA 검정에서 인간 재조합 NKG2D에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 4는 ELISA 검정에서 시노몰구스 재조합 NKG2D에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 5는 ELISA 검정에서 마우스 재조합 NKG2D에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 6은 유동 세포분석법에 의해 인간 NKG2D를 발현하는 EL4 세포에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 결합을 입증하는 막대 그래프이며, 백그라운드 대비 (FOB) 평균 형광 강도 (MFI) 배수를 나타낸다.

도 7은 유동 세포분석법에 의해 마우스 NKG2D를 발현하는 EL4 세포에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 결합을 입증하는 막대 그래프이며, 백그라운드 대비 (FOB) 평균 형광 강도 (MFI) 배수를 나타낸다.

도 8은 천연 리간드 ULBP-6과 경쟁함으로써 재조합 인간 NKG2D-Fc에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 특이적 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 9는 천연 리간드 MICA와 경쟁함으로써 재조합 인간 NKG2D-Fc에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 특이적 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 10은 천연 리간드 Rae-1 델타와 경쟁함으로써 재조합 마우스 NKG2D-Fc에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 특이적 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 11은 인간 NKG2D-CD3 제타 융합 단백질을 발현하는 TNFα-양성 세포의 백분율을 정량화함으로써 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 인간 NKG2D의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 12는 마우스 NKG2D-CD3 제타 융합 단백질을 발현하는 TNFα-양성 세포의 백분율을 정량화함으로써 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 마우스 NKG2D의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 13은 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 인간 NK 세포의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 14는 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 인간 NK 세포의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 15는 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 마우스 NK 세포의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 16은 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)에 의한 마우스 NK 세포의 활성화를 나타내는 막대 그래프이다.

도 17은 종양 세포에 대한 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 세포독성 효과를 나타내는 막대 그래프이다.

도 18은 시차 주사 형광측정법에 의해 측정되는 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)의 융점을 나타내는 막대 그래프이다.

도 19a-19c는 CD16 및 NKG2D-결합을 사용하는 NK 세포의 상승작용적 활성화의 막대 그래프이다. 도 19a는 CD107a의 수준을 입증하고; 도 19b는 IFNγ의 수준을 입증하고; 도 19c는 CD107a 및 IFNγ의 수준을 입증한다. 그래프는 평균 (n = 2) ±SD를 나타낸다. 데이터는 5명의 상이한 건강한 공여자를 사용하는 5회의 독립적인 실험을 대표한다.

도 20은 트리오맙 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 IgG-유사 형태를 유지하는 삼작용성의 이중특이적 항체이다. 이 키메라는 2가지 모 항체로부터 유래된 2개의 절반 항체로 이루어지고, 이들 각각은 1개의 경쇄 및 1개의 중쇄를 갖는다. 트리오맙 형태는 ½의 래트 항체 및 ½의 마우스 항체를 함유하는 이종이량체성 작제물일 수 있다.

도 21은 KiH 공통 경쇄 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 놉-인투-홀 (knobs-into-holes, KIH) 기술과 관련이 있다. KiH는 표적 1 및 2에 결합하는 2개의 Fab 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 함유하는 이종이량체이다. KiH 포맷의 TriNKET는 2개의 상이한 중쇄, 및 두 중쇄 모두와 쌍을 형성한 공통 경쇄를 함유하는, 표적 1 및 표적 2에 결합하는 2개의 Fab를 갖는 이종이량체성 작제물일 수 있다.

도 22는 이중-가변 도메인 이뮤노글로불린 (DVD-Ig™) 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 가요성 천연 발생 링커를 통해 2개의 모노클로날 항체의 표적-결합 도메인을 조합하고, 4가 IgG-유사 분자를 생성한다. DVD-Ig™는 항원 2를 표적으로 하는 가변 도메인이 항원 1을 표적으로 하는 Fab의 가변 도메인의 N-말단에 융합된 동종이량체성 작제물이다. DVD-Ig™ 형태는 정상 Fc를 함유한다.

도 23은 직교 (Orthogonal) Fab 계면 (Ortho-Fab) 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 Fc에 융합된, 표적 1 및 표적 2에 결합하는 2개의 Fab를 함유하는 이종이량체성 작제물이다. 경쇄 (LC)-중쇄 (HC) 쌍 형성은 직교 계면에 의해 보장된다. 이종이량체화는 Fc에서의 돌연변이에 의해 보장된다.

도 24는 2-in-1 Ig 포맷의 TriNKET의 대표도이다.

도 25는 ES 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 Fc에 융합된, 표적 1 및 표적 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab를 함유하는 이종이량체성 작제물이다. 이종이량체화는 Fc에서 정전기적 조정 돌연변이에 의해 보장된다.

도 26은 Fab 아암 교환 형태의 TriNKET의 대표도이다: 중쇄 및 부착된 경쇄 (절반-분자)를 또 다른 분자로부터의 중쇄-경쇄 쌍과 교체함으로써 Fab 아암을 교환하여 이중특이적 항체를 생성하는 항체. Fab 아암 교환 형태 (cFae)는 표적 1 및 2에 결합하는 2개의 Fab, 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 함유하는 이종이량체이다.

도 27은 SEED 바디 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 표적 1 및 2에 결합하는 2개의 Fab, 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 함유하는 이종이량체이다.

도 28은 LuZ-Y 형태의 TriNKET의 대표도이고, 여기서 류신 지퍼를 사용하여 2개의 상이한 HC의 이종이량체화를 유도한다. LuZ-Y 형태는 Fc에 융합된, 표적 1 및 2에 결합하는 2개의 상이한 scFab를 함유하는 이종이량체이다. 이종이량체화는 Fc의 C-말단에 융합된 류신 지퍼 모티프를 통해 보장된다.

도 29는 Cov-X-바디 형태의 TriNKET의 대표도이다.

도 30a-30b는 κλ-바디 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc에 융합된 2개의 상이한 Fab를 갖는 이종이량체성 작제물이며: 항원 1을 표적으로 하는 하나의 Fab는 카파 LC를 함유하는 반면에, 항원 2를 표적으로 하는 제2 Fab는 람다 LC를 함유한다. 도 30a는 κλ-바디의 한 형태의 예시적인 대표도이고; 도 30b는 또 다른 κλ-바디의 예시적인 대표도이다.

도 31은 둘 다 Fc 도메인에 융합된, 표적 1에 결합하는 Fab 및 표적 2에 결합하는 scFab를 포함하는 Oasc-Fab 이종이량체성 작제물이다. 이종이량체화는 Fc 도메인에서 돌연변이에 의해 보장된다.

도 32는 항원 1 및 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab, 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 함유하는 이종이량체성 작제물인 DuetMab이다. Fab 1 및 2는 정확한 경쇄 및 중쇄 쌍 형성을 보장하는 차별적인 S-S 브릿지를 함유한다.

도 33은 항원 1 및 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab, 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 갖는 이종이량체성 작제물인 CrossmAb이다. CL 및 CH1 도메인 및 VH 및 VL 도메인이 전환되고, 예를 들어 CH1은 VL과 일렬로 융합된 반면에, CL은 VH와 일렬로 융합된다.

도 34는 항원 2에 결합하는 Fab가 항원 1에 결합하는 Fab의 HC의 N-말단에 융합된 동종이량체성 작제물인 Fit-Ig이다. 상기 작제물은 야생형 Fc를 함유한다.

도 35는 EL4 세포에서 발현된 NKG2D에 대한 FLT3-표적화 TriNKET의 결합을 보여주는 선 그래프이다. FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10을 대조군으로 사용하였다.

도 36a 및 36b는 인간 AML 세포주 Molm-13 (도 36a) 및 EOL-1 (도 36b)에서 발현된 FLT3에 대한 FLT3-표적화 TriNKET의 결합을 나타내는 선 그래프이다. FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10을 대조군으로 사용하였다.

도 37a 및 37b는 37℃에서 2시간 및 20시간 항온처리 후 EOL-1 세포 (도 37a) 및 Molm-13 세포 (도 37b)에서 FLT3-표적화 TriNKET의 내재화를 나타내는 선 그래프이다. 린투주맙을 대조군으로서 사용하였다.

도 38a 및 38b는 FLT3-발현 EOL-1 세포에 대한 인간 NK 세포의 TriNKET-매개 세포독성을 나타내는 선 그래프이다. FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10 및 IMCEB10으로부터 유래된 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET를 도 38a에 나타낸다. FLT3 모노클로날 항체 4G8 및 4G8로부터 유래된 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET를 도 38b에 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 본 발명은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 일부 구현예에서, 상기 다중-특이적 단백질은 FLT3 또는 또 다른 종양-관련 항원에 결합하는 추가의 항원-결합 부위를 추가로 포함한다. 본 발명은 또한 그러한 다중-특이적 결합 단백질을 포함하는 약제학적 조성물, 및 암 치료와 같은 목적을 위해 그러한 다중-특이적 단백질 및 약제학적 조성물을 사용하는 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 다양한 양상은 섹션별로 하기에 설명되지만, 하나의 특정 섹션에 기재된 본 발명의 양상은 임의의 특정 섹션으로 제한되지 않아야 한다.

[0036] 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위해, 수많은 용어 및 문구가 하기에 정의된다.

[0037] 본원에서 사용된 용어 "a"는 "an"은 "하나 이상"을 의미하고 문맥이 부적절하지 않은 한 복수를 포함한다.

[0038] 본원에서 사용된 용어 "항원-결합 부위"는 항원 결합에 참여하는 이뮤노글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 인간 항체에서, 항원 결합 부위는 중쇄 ("H") 및 경쇄 ("L")의 N-말단 가변 ("V") 영역의 아미노산 잔기에 의해 형성된다. 중쇄 및 경쇄의 V 영역 내에 있는 3개의 고도로 분기한 스트레치는 "초가변 영역"으로 지칭되며, 이는 "프레임워크 영역" 또는 "FR"로 공지된 더욱 보존된 플랭킹 스트레치들 사이에 삽입되어 있다. 따라서, 용어 "FR"은 이뮤노글로불린에서 초가변 영역들 사이에서 그에 인접하여 천연적으로 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다. 인간 항체 분자에서, 경쇄의 3개의 초가변 영역 및 중쇄의 3개의 초가변 영역은 서로에 대해 삼차원 공간으로 배치되어 항원-결합 표면을 형성한다. 항원-결합 표면은 결합된 항원의 삼차원 표면에 대해 상보성이고, 각각의 중쇄 및 경쇄의 3개의 초가변 영역은 "상보성-결정 영역" 또는 "CDR"로 지칭된다. 특정한 동물, 예컨대 낙타 및 연골 어류에서는, 항원-결합 부위가 단일 항체 쇄에 의해 형성되어, "단일 도메인 항체"를 제공한다. 항원-결합 부위는 무손상 항체로서, 항원-결합 표면을 보유하는 항체의 항원-결합 단편으로, 또는 단일 폴리펩티드에서 중쇄 가변 도메인을 경쇄 가변 도메인에 연결하기 위해 펩티드 링커를 사용하는 재조합 폴리펩티드, 예컨대 scFv로 존재할 수 있다.

[0039] 본원에서 사용된 용어 "종양 관련 항원"은 암과 관련된 단백질, 당단백질, 강글리오시드, 탄수화물, 지질을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 항원을 의미한다. 그러한 항원은 악성 세포 상에서 또는 종양 미세환경에서, 예컨대 종양-관련 혈관, 세포외 매트릭스, 간엽성 간질, 또는 면역 침윤물 상에서 발현될 수 있다.

[0040] 본원에서 사용된 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에 기재된 방법 및 조성물에 의해 치료될 유기체를 지칭한다. 그러한 유기체는 바람직하게는 포유류 (예를 들어, 뮤린, 원숭이, 말, 소, 돼지, 개, 고양이 등)을 포함하며, 더욱 바람직하게는 인간을 포함한다.

[0041] 본원에서 사용된 용어 "유효량"은 유익한 또는 원하는 결과를 달성하는데 충분한 화합물 (예를 들어, 본 발명의 화합물)의 양을 지칭한다. 유효량은 하나 이상의 투여, 적용 또는 용량으로 투여될 수 있으며, 특정한 제형 또는 투여 경로로 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 본원에서 사용된 용어 "치료하는"은 병태, 질환, 장애 등을 개선시키는 임의의 효과, 예를 들어 줄이거나, 감소시키거나, 조절하거나, 완화시키거나, 제거하거나, 또는 이들의 증상을 완화시키는 것을 포함한다.

[0042] 본원에서 사용된 용어 "약제학적 조성물"은 조성물이 생체내 또는 생체외에서 진단적 또는 치료적으로 사용하기에 특히 적합하게 만드는 불활성 또는 활성의 담체와 활성 작용제의 조합물을 지칭한다.

[0043] 본원에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 임의의 표준 약제학적 담체, 예컨대 인산염 완충된 식염수 용액, 물, 에멀젼 (예를 들어, 오일/물 또는 물/오일 에멀젼), 및 다양한 유형의 습윤제를 지칭한다. 조성물은 또한 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있다. 담체, 안정화제 및 애주번트의 예에 대해서는, 예를 들어, 문헌 [Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975]]를 참고한다.

[0044] 본원에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 대상체에게 투여시 본 발명의 화합물 또는 그의 활성 대사물 또는 잔기를 제공할 수 있는, 본 발명의 화합물의 임의의 약제학적으로 허용되는 염 (예를 들어, 산 또는 염기)을 지칭한다. 당해 기술분야의 숙련가에게 공지된 바와 같이, 본 발명의 화합물의 "염"은 무기 또는 유기 산 및 염기로부터 유래될 수 있다. 예시적인 산은 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살라실산, 숙신산, 톨루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 산, 예컨대 옥살산은 그 자체로는 제약상 허용가능하지 않지만, 본 발명의 화합물 및 그들의 약제학

적으로 허용되는 산 부가염을 수득하는데 있어서 중간체로서 유용한 염의 제조에서 사용될 수 있다.

[0045] 예시적인 염기는 알칼리 금속 (예를 들어, 나트륨) 수산화물, 알칼리토금속 (예를 들어, 마그네슘) 수산화물, 암모니아, 및 화학식 NW_4^+의 화합물 (여기서 W는 C_{1-4} 알킬임) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0046] 예시적인 염은 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 바이설페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르설포네이트, 사이클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 푸마레이트, 플루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로요오다이드, 2-하이드록시에탄설포네이트, 락테이트, 말레에이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 팔모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 페닐프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 석시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트, 운데카노에이트 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 염의 다른 예는 적합한 양이온, 예컨대 Na^+, NH_4^+ 및 NW_4^+ (여기서 W는 C_{1-4} 알킬기임) 등과 배합된 본 발명의 화합물의 음이온을 포함한다.

[0047] 치료적 용도의 경우, 본 발명의 화합물의 염은 약제학적으로 허용되는 것으로 고려된다. 그러나, 약제학적으로 허용되지 않은 산 및 염기의 염 또한, 예를 들어, 약제학적으로 허용되는 화합물의 제조 또는 정제에 사용될 수 있다.

[0048] 본 명세서에 걸쳐, 조성물이 특정한 성분을 갖거나, 수반하거나 또는 포함하는 것으로 기재되거나, 또는 공정 및 방법이 특정한 단계를 갖거나, 수반하거나 또는 포함하는 것으로 기재된 경우에는, 인용된 성분들로 본질적으로 이루어지거나 또는 그들로 이루어진 본 발명의 조성물이 있고, 인용된 가공 단계들로 본질적으로 이루어지거나 또는 그들로 이루어진 본 발명에 따른 공정 및 방법이 있는 것으로 추가로 고려된다.

[0049] 일반적으로, 백분율을 특정하는 조성은 달리 명시되지 않는 한 중량을 기준으로 한다. 추가로, 변수에 정의가 수반되지 않는다면, 상기 변수의 이전 정의가 제어된다.

[0050] **I. 단백질**

[0051] 본 발명은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 종양-관련 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 다중-특이적 결합 단백질은 본원에 기재된 약제학적 조성물 및 치료 방법에서 유용하다. 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체에 대한 다중-특이적 결합 단백질의 결합은, FLT3을 발현하는 종양 세포의 파괴에 대한 천연 킬러 세포의 활성을 증진시킨다. FLT3-발현 세포에 대한 다중-특이적 결합 단백질의 결합은 암 세포가 천연 킬러 세포에 근접하게 만들고, 이는 천연 킬러 세포에 의한 암 세포의 직접적인 및 간접적인 파괴를 용이하게 한다. 예시적인 다중-특이적 결합 단백질에 대한 추가의 기재가 하기에 제공된다.

[0052] 다중-특이적 결합 단백질의 제1 성분은 NKG2D 수용체-발현 세포에 결합하며, 상기 세포에는 NK 세포, γδ T 세포 및 $CD8^+$ αβ T 세포가 포함될 수 있지만 이에 제한되지 않는다. NKG2D 결합시, 다중-특이적 결합 단백질은 천연 리간드, 예컨대 ULBP6 및 MICA가 NKG2D에 결합하고 NKG2D 수용체를 활성화시키는 것을 차단할 수 있다.

[0053] 다중-특이적 결합 단백질의 제2 성분은 FLT3에 결합한다. FLT3-발현 세포는 백혈병, 예를 들어 급성 골수성 백혈병 및 T-세포 백혈병에서 발견될 수있다.

[0054] 다중-특이적 결합 단백질의 제3 성분은 천연 킬러 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 비만 세포 및 여포 수지상 세포를 포함하는 백혈구 표면 상의 Fc 수용체인 CD16을 발현하는 세포에 결합한다

[0055] 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질은 다양한 포맷을 취할 수 있다. 예를 들어, 한 포맷은 제1 이뮤노글로불린 중쇄, 제1 이뮤노글로불린 경쇄, 제2 이뮤노글로불린 중쇄 및 제2 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하는 이종이량체성 다중-특이적 항체이다 (도 1). 제1 이뮤노글로불린 중쇄는 제1 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제1 중쇄 가변 도메인 및 임의로 제1 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제1 경쇄 가변 도메인 및 제1 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제1 이뮤노글로불린 중쇄와 함께 NKG2D에 결합하는 항원-결합 부위를 형성한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 제2 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제2 중쇄 가변 도메인 및 임의로 제2 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 경쇄 가변 도메인 및 제2 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 이뮤노글로불린 중쇄와 함께 FLT3에 결합하는 항원-결합 부위를 형성한다. 제1 Fc 도메인 및 제2 Fc 도메인은 함께 CD16에 결합할 수 있다 (도 1). 일부 구

현예에서, 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 이뮤노글로불린 경쇄와 동일할 수 있다.

[0056] 또 다른 예시적인 포맷은 제1 이뮤노글로불린 중쇄, 제2 이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하는 이종이량체성 다중-특이적 항체와 관련이 있다 (도 2). 제1 이뮤노글로불린 중쇄는 NKG2D와 쌍을 형성하여 결합하거나 FLT3 항원에 결합하는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인으로 구성된 단일-쇄 가변 단편 (scFv)에 링커 또는 항체 힌지를 통해 융합된 제1 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 제2 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제2 중쇄 가변 도메인 및 임의로 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 이뮤노글로불린 경쇄는 경쇄 가변 도메인 및 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 이뮤노글로불린 경쇄와 쌍을 형성하고, NKG2D에 결합하거나 종양-관련 항원 FLT3에 결합한다. 제1 Fc 도메인 및 제2 Fc 도메인은 함께 CD16에 결합할 수 있다 (도 2).

[0057] 하나 이상의 추가의 결합 모티프는 임의로 링커 서열을 통해 불변 영역 CH3 도메인의 C-말단에 융합될 수 있다. 특정 구현예에서, 항원-결합 모티프는 4가 또는 3가 분자를 형성하는 단일-쇄 또는 디설피드-안정화된 가변 영역 (scFv)이다.

[0058] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 트리오맙 형태로, 이는 IgG-유사 형태를 유지하는 삼작용성의 이중특이적 항체이다. 이 키메라는 2개의 모 항체로부터 유래된 2개의 절반 항체로 이루어지며, 이들 각각은 1개의 경쇄 및 1개의 중쇄를 갖는다.

[0059] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 놉-인투-홀 (KIH) 기술과 관련이 있는 KiH 공통 경쇄 (LC) 형태를 갖는다. KIH는 C_H3 도메인이 각각의 중쇄에서 "놉" 또는 "홀"을 생성하도록 조작하여 이종이량체화를 촉진하는 것과 관련이 있다. "놉-인투-홀 (KiH)" Fc 기술에 대한 개념은, 소형 잔기를 벌크 잔기로 치환시킴으로써 (예를 들어, EU 넘버링에서 $T366W_{CH3A}$) 1개의 CH3 도메인 (CH3A)에 "놉"을 도입하는 것이었다. "놉"을 수용하기 위해, 놉에 가장 가까운 이웃 잔기를 더 작은 잔기로 교체함으로써 (예를 들어, $T366S/L368A/Y407V_{CH3B}$) 다른 CH3 도메인 (CH3B) 상에 상보적인 "홀" 표면이 생성되었다. "홀" 돌연변이는 구조화된-가이드된 파지 라이브러리 스크리닝에 의해 최적화되었다 (Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P., Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library, *J. Mol. Biol.* (1997) 270(1):26-35). KiH Fc 변이체의 X-선 결정 구조 (Elliott JM, Ultsch M, Lee J, Tong R, Takeda K, Spiess C, 등, Antiparallel conformation of knob and hole aglycosylated half-antibody homodimers is mediated by a CH2-CH3 hydrophobic interaction. *J. Mol. Biol.* (2014) 426(9):1947-57; Mimoto F, Kadono S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, Hattori K. Crystal structure of a novel asymmetrically engineered Fc variant with improved affinity for FcgammaRs. *Mol. Immunol.* (2014) 58(1):132-8)는, CH3 도메인 코어 계면 사이에서 입체적 상보성에 의해 유도된 소수성 상호작용에 의해 이종이량체화가 열역학적으로 선호되는 반면에, 놉-놉 및 홀-홀 계면은 각각 입체 장애 및 유리한 상호작용 방해로 인해 동종이량체를 선호하지 않는다.

[0060] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 이중-가변 도메인 이뮤노글로불린 (DVD-Ig™) 형태로, 이는 2개의 모노클로날 항체의 표적 결합 도메인을 가요성 천연 발생 링커를 통해 조합하고, 4가 IgG-유사 분자를 생성한다.

[0061] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 직교 Fab 계면 (Ortho-Fab) 형태를 갖는다. ortho-Fab IgG 접근법에서 (Lewis SM, Wu X, Pustilnik A, Sereno A, Huang F, Rick HL, 등, Generation of bispecific IgG antibodies by structure-based design of an orthogonal Fab interface. *Nat. Biotechnol.* (2014) 32(2):191-8), 구조-기반 영역별 설계는 1개의 Fab에서만 LC 및 HC_{VH-CH1} 계면에서 상보성 돌연변이를 도입하고, 다른 Fab에서는 어떠한 변화도 주지 않는다.

[0062] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 2-in-1 Ig 포맷을 갖는다. 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 ES 형태를 가지며, 이는 Fc에 융합된, 표적 1 및 표적 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab를 함유하는 이종이량체성 작제물이다. 이종이량체화는 Fc에서 정전기적 조정 돌연변이에 의해 보장된다.

[0063] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 κλ-바디 형태로, 이는 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc에 융합된 2개의 상이한 Fab를 갖는 이종이량체성 작제물이고: 항원 1을 표적으로 하는 Fab1은 카파 LC를 함유하는 반면에, 항원 2를 표적으로 하는 제2 Fab는 람다 LC를 함유한다. 도 30a는 κλ-바디의 한 형태의 예시적인 대표도이고; 도 30b는 또 다른 κλ-바디의 예시적인 대표도이다.

[0064] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Fab 아암 교환 형태 (중쇄 및 부착된 경쇄 (절반-분자)를 또 다른

분자로부터의 중쇄-경쇄 쌍과 교체함으로써 Fab 아암을 교환하여 이중특이적 항체를 생성하는 항체)이다.

[0065] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 SEED 바디 형태이다. 가닥-교환 조작된 도메인 (SEED) 플랫폼은 비대칭의 이중특이적 항체-유사 분자를 생성하도록 설계되었고, 이는 천연 항체의 치료적 적용을 확장시키는 능력을 갖는다. 이 단백질 조작된 플랫폼은 보존된 CH3 도메인 내의 이뮤노글로불린의 구조적으로 관련된 서열의 교환을 기반으로 한다. SEED 설계는 AG/GA 이종이량체의 효율적인 생성을 가능하게 하는 반면에, AG 및 GA SEED CH3 도메인의 동종이량체는 선호하지 않는다. (Muda M. 등, *Protein Eng. Des. Sel.* (2011, 24(5):447-54)).

[0066] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 LuZ-Y 형태를 가지며, 여기서 류신 지퍼를 사용하여 2개의 상이한 HC의 이종이량체화를 유도한다. (Wranik, BJ. 등, *J. Biol. Chem.* (2012), 287:43331-9).

[0067] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Cov-X-바디 형태를 갖는다. 이중특이적 CovX-바디에서, 2개의 상이한 펩티드가 분지형 아제티디논 링커를 사용하여 함께 결합하고, 부위-특이적인 방식으로 온화한 조건하에 스캐폴드 항체에 융합된다. 약물작용발생단은 기능적 활성을 담당하는 반면에, 항체 스캐폴드는 긴 반감기 및 Ig-유사 분포를 부여한다. 약물작용발생단은 화학적으로 최적화될 수 있거나 또는 다른 약물작용발생단과 교체되어, 최적화되거나 또는 독특한 이중특이적 항체를 생성할 수 있다. (Doppalapudi VR 등, *PNAS* (2010), 107(52);22611-22616).

[0068] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Fc에 융합된, 표적 1에 결합하는 Fab 및 표적 2에 결합하는 scFab를 포함하는 Oasc-Fab 이종이량체성 형태이다. 이종이량체화는 Fc에서의 돌연변이에 의해 보장된다.

[0069] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 DuetMab 형태로, 이는 항원 1 및 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab, 및 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc를 포함하는 이종이량체성 작제물이다. Fab 1 및 2는 정확한 LC 및 HC 쌍 형성을 보장하는 차별적인 S-S 브릿지를 함유한다.

[0070] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 CrossmAb 형태로, 이는 이종이량체화에 의해 안정화된 Fc에 융합된, 표적 1 및 2에 결합하는 2개의 상이한 Fab를 갖는 이종이량체성 작제물이다. CL 및 CH1 도메인 및 VH 및 VL 도메인이 전환되고, 예를 들어 CH1은 VL과 일렬로 융합된 반면에, CL은 VH와 일렬로 융합된다.

[0071] 일부 구현예에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Fit-Ig 형태로, 이는 항원 2에 결합하는 Fab가 항원 1에 결합하는 Fab의 HC의 N 말단에 융합된 동종이량체성 작제물이다. 상기 작제물은 야생형 Fc를 함유한다.

[0072] 표 1은 조합되어 NKG2D에 결합할 수 있는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 펩티드 서열을 열거한다. NKG2D 결합 도메인은 NKG2D에 대한 결합 친화도에서 다양할 수 있지만, 그럼에도 불구하고, 모두 인간 NKG2D 및 NK 세포를 활성화시킨다.

표 1

클론	중쇄 가변 영역 아미노산 서열	경쇄 가변 영역 아미노산 서열
ADI-27705	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S S VT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호: 1) CDR1 (서열번호: 105)- GSFSGYYWS CDR2 (서열번호: 106) - EIDHSGSTNYNPSLKS CDR3 (서열번호: 107)- ARARGPWSFDP	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSYPITFGGGTKVEIK (서열번호:2)
ADI-27724	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:3)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQ S VS S S YL AW YQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQ YGS SPITFGGGTKVEI K (4)
ADI-27740 (A40)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:5)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFYTFGGGTKVEIK (서열번호:6)
ADI-27741	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQSNSYYTFGGGTKVEIK

[0073]

	(서열번호:7)	(서열번호:8)
ADI-27743	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S S VT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:9)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSYPTFGGGTKVEIK (서열번호: 10)
ADI-28153	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWGFDPWGQGTL VT VS S (서열번호: 11)	ELQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRTSQSISSYLNWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRF SGS GSGTDFTLTISSLQPEDSATYY CQQSYDIPYTFGQGTKLEIK (서열번호: 12)
ADI-28226 (C26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호: 13)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPITFGGGTKVEIK (서열번호: 14)
ADI-28154	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호: 15)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTDFTLTISSLQPDDFATY YCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK (서열번호: 16)
ADI-29399	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호: 17)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSFPTFGGGTKVEIK (서열번호: 18)
ADI-29401	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK

[0074]

	GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호: 19)	APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDIYPTFGGGTKVEIK (서열번호:20)
ADI- 29403	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:21)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDSYPTFGGGTKVEIK (서열번호:22)
ADI- 29405	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:23)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPTFGGGTKVEIK (서열번호:24)
ADI- 29407	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:25)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSFPTFGGGTKVEIK (서열번호:26)
ADI- 29419	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:27)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQ YS SF STFGGGTKVEIK (서열번호:28)
ADI- 29421	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYESYSTFGGGTKVEIK

[0075]

	(서열번호:29)	(서열번호:30)
ADI-29424	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:31)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDSFITFGGGTKVEIK (서열번호:32)
ADI-29425	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:33)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSYPTFGGGTKVEIK (서열번호:34)
ADI-29426	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:35)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFPTFGGGTKVEIK (서열번호:36)
ADI-29429	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:37)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYELYSYTFGGGTKVEIK (서열번호:38)
ADI-29447 (F47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:39)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDTFITFGGGTKVEIK (서열번호:40)
ADI-27727	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTF S S YAISWVRQAPGQGLEWM	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNNKNYLAWY

[0076]

	GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDT AVYYC AR GDSSIRHAYYYYGMDVWGQGTTV TVSS (서열번호:41) CDR1 (서열번호:43) - GTFSSYAIS CDR2 (서열번호:44) - GIIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (서열번호:45)- ARGDS SIRHAYYYYGMD V	QQKPGQPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ AEDVAVYYCQQYYSTPITFGG GTKVEIK (서열번호:42) CDR1 (서열번호:46) - KSSQSVLYSSNNKNYLA CDR2 (서열번호:47) - WASTRES CDR3 (서열번호:48) - QQYYSTPIT
ADI-29443 (F43)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GGSIS S S S YYWGWIRQPPGKGLEWI GSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARG SDRFHP YFD YWGQGTL VT VS S (서열번호:49) CDR1 (서열번호:51)- GSISSSSYYWG CDR2 (서열번호:52)- SIYYSGSTYYNPSLKS CDR3 (서열번호:53)- ARGSDRFHPYFDY	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSRYLAWYQQKPGQ APRLLIYD ASNRATGIPARF SG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVY YCQQFDTWPPTFGGGTKVEIK (서열번호:50) CDR1 (서열번호:54)- RASQSVSRYLA CDR2 (서열번호:55)- DASNRAT CDR3 (서열번호:56)- QQFDTWPPT
ADI-29404 (F04)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSF SGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQF SLKL S SVT AADT AVYYC ARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (서열번호:57)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKAS SLESGVPSRF SG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCEQYDSYPTFGGGTKVEIK (서열번호:58)
ADI-28200	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTF S S YAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDT AVYYC AR	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CESSQSLLNSGNQKNYLTWY QQKPGQPPKPLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ

[0077]

	RGRKASGSFYYYYGMDVWGQGTT VTVSS (서열번호:59) CDR1 (서열번호: 134)- GTFSSYAIS CDR2 (서열번호: 135) - GIIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (서열번호: 136)- ARRGRKASGSFYYYYGMDV	AEDVAVYYCQNDYSYPYTFG QGTKLEIK (서열번호:60) CDR1 (서열번호: 137)- ESSQSLLNSGNQKNYLT CDR2 (서열번호: 138)- WASTRES CDR3 (서열번호: 139)- QNDYSYPYT
ADI-29379 (E79)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARGAPNYGDTTHDYYYMDVWG KGTT VTVSS (서열번호:61) CDR1 (서열번호:63)- YTFTSYYMH CDR2 (서열번호:64)- IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (서열번호:65)- ARGAPNYGDTTHDYYYMDV	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIP ARE SG SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQQYDDWPFTFGGGTKVEI K (서열번호:62) CDR1 (서열번호:66) - RASQSVSSNLA CDR2 (서열번호:67) - GASTRAT CDR3 (서열번호:68) - QQYDDWPFT
ADI-29463 (F63)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAV YYCARDTGEYYDTDDHGMDVWG QGTT VTVSS (서열번호:69) CDR1 (서열번호:71)- YTFTGYYMH CDR2 (서열번호:72)-	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIP ARE SG SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQQDDYWPPTFGGGTKVEI K (서열번호:70) CDR1 (서열번호:74) - RASQSVSSNLA CDR2 (서열번호:75) -

[0078]

[0079]

	WINPNSGGTNYAQKFQG CDR3 (서열번호:73)- ARDTGEYYDTDDHGMDV	GASTRAT CDR3 (서열번호:76) - QQDDYWPPT
ADI- 27744 (A44)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTF S S YAMSWVRQ APGKGLEWV SAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDGGYYDSGAGDYWGQGTLVTV SS (서열번호:77) CDR1 (서열번호:79) - FTFSSYAMS CDR2 (서열번호:80)- AISGSGGSTYYADSVKG CDR3 (서열번호:81)- AKDGGYYDSGAGDY	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGIDSWLAWYQQKPGK APKLLIYAAS SLQ SGVPSRF SG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSYPRTFGGGTKVEIK (서열번호:78) CDR1 (서열번호:82)- RASQGIDSWLA CDR2 (서열번호:83)- AASSLQS CDR3 (서열번호:84) - QQGVSYPRT
ADI- 27749 (A49)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAA SGFTF S S YSMNWVRQ APGKGLEW VS SIS S SS S YIYYADS VKGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYC ARGAPMGAAAGWFDPWGQGTLVT vss (서열번호:85) CDR1 (서열번호:87) - FTFSSYSMN CDR2 (서열번호:88)- SISSSSSYIYYADSVKG CDR3 (서열번호:89)- ARGAPMGAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGIS SWL AWYQQKPGK APKLLIYAAS SLQ SGVPSRF SG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSFPRTFGGGTKVEIK (서열번호:86) CDR1 (서열번호 VO) - RASQGISSWLA CDR2 (서열번호:91)- AASSLQS CDR3 (서열번호:92) - QQGVSFPRT
ADI- 29378 (E78)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CAREGAGFAYGMDYYYMDVWGK GTTVTVSS	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYD ASNRATGIPARF SG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVY YCQQSDNWPFTFGGGTKVEIK (서열번호:94)

[0080]

	(서열번호:93) CDR1 (서열번호:95)- YTFTSYYMH CDR2 (서열번호:96) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (서열번호:97)- AREGAGFAYGMDYYYMDV	CDR1 (서열번호:98) - RASQSVSSYLA CDR2 (서열번호:99) - DASNRAT CDR3 (서열번호: 100)- QQSDNWPFT

[0081] 대안적으로, US 9,273,136에 기재된 바와 같이, 서열번호: 101로 표시되는 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 102로 표시되는 경쇄 가변 도메인과 쌍을 형성하여, NKG2D에 결합할 수 있는 항원-결합 부위를 형성할 수 있다.

[0082] 서열번호: 101

[0083] QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGL
GDGTYFDYWGQGTTVTVSS

[0084] 서열번호: 102

QSALTQPASVSGSPGQSITISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDDL
LPSGVSDRFSGSKSGTSAFLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTK
[0085] LTVL

[0086] 대안적으로, US 7,879,985에 기재된 바와 같이, 서열번호: 103으로 표시되는 중쇄 가변 도메인은 서열번호: 104로 표시되는 경쇄 가변 도메인과 쌍을 형성하여, NKG2D에 결합할 수 있는 항원-결합 부위를 형성할 수 있다.

[0087] 서열번호: 103

QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGHISYS
GSANYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWG
[0088] QGTMVTVSS

[0089] 서열번호: 104

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS
[0090] RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK

[0091] 한 양상에서, 본 개시내용은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 항원 FLT3에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 표 2는 조합되어 FLT3에 결합할 수 있는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 일부 예시적인 서열을 열거한다.

표 2

클론	중쇄 가변 도메인 아미노산 서열	경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
항-FLT3 (IMCEB10) (U.S. 특허 번호 8,071,099)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCARGVGAHDAFDIWGQGTTVT VSSA (서열번호: 109) CDR1 (서열번호: 110) - GYTFTSY CDR2 (서열번호:111) - NPSGGS CDR3 (서열번호: 112)- GVGAHDAFDI	DVVMTQSPLSLPVTPGE PASISCRSSQSLLHSNGN NYLDWYLQKPGQSPQL LIYLGSNRASGVPDRF SG SGSDTDFTLQISRVEAED VGVYYCMQGTHPAISFG QGTRLEIKR (서열번호: 113) CDR1(서열번호: 114) - QSLLHSNGNNYLD CDR2 (서열번호: 115)- LGSNRAS CDR3 (서열번호: 116)- MQGTHPAIS
항-FLT3 (4G8) (U.S. 특허 번호 9,023,996)	QVQLQQPGAELVKPGASLKLSCKS SGYTFTSYWMHWVRQRPGHGLE WIGEIDPSDSYKDYNQKFKDKATL TVDRSSNTAYMHLSSLTSDDSAVY YC ARAITTTPFDF WGQGTTLT VS S (서열번호: 117) CDR1 (서열번호: 118)- SYWMH CDR2 (서열번호: 119)- EIDPSDSYKDYNQKFKD CDR3 (서열번호: 120)- AITTTPFDF	DIVLTQSPATLSVTPGDS VSLSCRASQSISNNLHW YQQKSHESPRLLIKYAS QSISGIPSRFSGSGSGTDF TLSINSVETEDFGVYFCQ QSNTWPYTFGGGTKLEI KR (서열번호: 121) CDR1 (서열번호: 122)- RASQSISNNLH CDR2 (서열번호: 123)-

[0092]

		YASQSIS CDR3 (서열번호: 124)- QQSNTWPYT
항-FLT3 (BV10) (U.S. 특허 번호 9,023,996)	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVS GFSLTNYGLHWVRQSPGKGLEWL GVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDN SKSQVFFKMNSLQ ADDTAI YYC AR KGGIYYANHYYAMDYWGQGTSV TVSS (서열번호: 125) CDR1 (서열번호: 126) - NYGLH CDR2 (서열번호: 127)- VIWSGGSTDYNAAFIS CDR3 (서열번호: 128)- KGGIYYANHYYAMDY	DIVMTQSPSSLSVSAGEK VTMSCKSSQSLLNSGNQ KNYMAYQQKPGQPPKL LIYGASTRESGVPDRFTG SGSGTDFTLTISSVQAED LAVYYCQNDHSYPLTFG AGTKLELKR (서열번호: 129) CDR1 (서열번호: 130)- KSSQSLLNSGNQKNYM A CDR2 (서열번호: 131)- GASTRES CDR3 (서열번호: 132)- QNDHSYPLT

[0093]

[0094] 대안적으로, FLT3에 결합할 수 있는 신규한 항원-결합 부위는 서열번호: 133에 의해 정의된 아미노산 서열에 대한 결합에 대해 스크리닝함으로써 확인될 수 있다.

[0095] 서열번호: 133

MPALARDGGQLPLLVVFSAMIFGTITNQDLPVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSE
SPEDLGCALRPQSSGTVYEAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQ
PHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFR
KMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCC
ARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFGLTWELEN
KALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEK
GFINATNSSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKF
CNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKPQVLAEASASQASCFSDGYPLPSWT
WKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNS
LGTSCETILLNSPGPFPFIQDNISFYATIGVCLLFIVVLTLLICHKYKKQFRYESQLQMV
QVTGSSDNEYFYVDFREYEYDLKWEFPRENLEFGKVLGSGAFGKVMNATAYGISKT
GVSIQVAVKMLKEKADSSEREALMSELKMMTQLGSHENIVNLLGACTLSGPIYLIFE
YCCYGDLLNYLRSKREKFHRTWTEIFKEHNFSFYPTFQSHPNSSMPGSREVQIHPDSD
QISGLHGNSFHSEDEIEYENQKRLEEEEDLNVLTFEDLLCFAYQVAKGMEFLEFKSCV
HRDLAARNVLVTHGKVVKICDFGLARDIMSDSNYVVRGNARLPVKWMAPESLFEGI
YTIKSDVWSYGILLWEIFSLGVNPYPGIPVDANFYKLIQNGFKMDQPFYATEEIYIIMQ
SCWAFDSRKRPSFPNLTSFLGCQLADAEEAMYQNVDGRVSECPHTYQNRRPFSREM
[0096] DLGLLSPQAQVEDS

[0097] Fc 도메인 내에서, CD16 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 의해 매개된다. 예를 들어, 인간 IgG1 내에서, CD16과의 상호작용은 주로 CH2 도메인에 있는 아미노산 잔기 Asp 265 - Glu 269, Asn 297 - Thr 299, Ala 327 - Ile 332, Leu 234 - Ser 239, 및 탄수화물 잔기 N-아세틸-D-글루코사민에 집중된다 (문헌 [Sondermann 등, Nature, 406(6793):267-273] 참고). 공지된 도메인을 기준으로 하여, 돌연변이는 예컨대 파지-디스플레이된 라이브러리 또는 효모 표면-디스플레이된 cDNA 라이브러리를 이용함으로써 CD16에 대한 결합 친화도를 증진시키거

나 감소시키기 위해 선택될 수 있거나, 또는 상호작용의 공지된 삼차원 구조를 기준으로 하여 고안될 수 있다.

[0098] 이종이량체성 항체 중쇄의 조립체는 동일한 세포에서 2개의 상이한 항체 중쇄 서열을 발현시킴으로써 달성될 수 있고, 이는 각각의 항체 중쇄의 동종이량체의 조립체뿐만 아니라 이종이량체의 조립체를 유도할 수 있다. 이종이량체의 바람직한 조립체의 촉진은 US13/494870, US16/028850, US11/533709, US12/875015, US13/289934, US14/773418, US12/811207, US13/866756, US14/647480, 및 US 14/830336에 나타낸 바와 같이 각각의 항체 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에 상이한 돌연변이를 도입함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 인간 IgG1을 기준으로 CH3 도메인에서 이루어질 수 있고, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 내에서 아미노산 치환의 구별되는 쌍의 도입은 이들 2개의 쇄가 서로 선택적으로 이종이량체화하는 것을 가능하게 한다. 하기 기재된 아미노산 치환의 위치는 모두 카바트 (Kabat)에서와 같이 EU 인덱스에 따라 넘버링된다.

[0099] 한 시나리오에서, 제1 폴리펩티드에서의 아미노산 치환은 원래의 아미노산을 아르기닌 (R), 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y) 또는 트립토판 (W)으로부터 선택된 더 큰 아미노산으로 교체하고, 제2 폴리펩티드에서의 적어도 1개의 아미노산 치환은 원래의 아미노산(들)을 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T) 또는 발린 (V)으로부터 선택된 더 작은 아미노산(들)으로 교체하고, 이로써 더 큰 아미노산 치환 (융기부)이 더 작은 아미노산 치환 (공동)에 들어 맞는다. 예를 들어, 하나의 폴리펩티드는 T366W 치환을 포함할 수 있고, 다른 하나는 T366S, L368A 및 Y407V를 포함한 3개의 치환을 포함할 수 있다.

[0100] 본 발명의 항체 중쇄 가변 도메인은 임의로 항체 불변 영역, 예컨대 CH1 도메인이 있거나 없이 힌지, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG 불변 영역과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열에 커플링될 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 불변 영역의 아미노산 서열은 인간 항체 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1 불변 영역, IgG2 불변 영역, IgG3 불변 영역, 또는 IgG4 불변 영역과 적어도 90% 동일하다. 일부 다른 구현예에서, 상기 불변 영역의 아미노산 서열은 또 다른 포유류, 예컨대 토끼, 개, 고양이, 마우스 또는 말로부터의 항체 불변 영역과 적어도 90% 동일하다. 인간 IgG1 불변 영역에 비해 하나 이상의 돌연변이를 불변 영역에, 예를 들어, Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 및/또는 K439에서 도입할 수 있다. 예시적인 치환은, 예를 들어, Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, T350V, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, T394W, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T41 ID, T41 IE, K439D, 및 K439E를 포함한다.

[0101] 특정 구현예에서, 인간 IgG1 불변 영역의 CH1에 도입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 및/또는 V173에 있을 수 있다. 특정 구현예에서, 인간 IgG1 불변 영역의 C_{κ}에 도입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 E123, F116, S176, V163, S174 및/또는 T164에 있을 수 있다.

[0102] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 3에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

표 3		
	제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
세트 1	S364E/F405A	Y349K/T394F
세트 2	S364H/D401K	Y349T/T411E
세트 3	S364H/T394F	Y349T/F405A
세트 4	S364E/T394F	Y349K/F405A
세트 5	S364E/T411E	Y349K/D401K
세트 6	S364D/T394F	Y349K/F405A
세트 7	S364H/F405A	Y349T/T394F
세트 8	S364K/E357Q	L368D/K370S
세트 9	L368D/K370S	S364K
세트 10	L368E/K370S	S364K
세트 11	K360E/Q362E	D401K
세트 12	L368D/K370S	S364K/E357L
세트 13	K370S	S364K/E357Q
세트 14	F405L	K409R
세트 15	K409R	F405L

[0103]

[0104] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 4에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

표 4		
	제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
세트 1	K409W	D399V/F405T
세트 2	Y349S	E357W
세트 3	K360E	Q347R
세트 4	K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
세트 5	Q347E/K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
세트 6	Y349S/K409W	E357W/D399V/F405T

[0105]

[0106] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 5에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

표 5		
	제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
세트 1	T366K/L351K	L351D/L368E
세트 2	T366K/L351K	L351D/Y349E
세트 3	T366K/L351K	L351D/Y349D
세트 4	T366K/L351K	L351D/Y349E/L368E
세트 5	T366K/L351K	L351D/Y349D/L368E
세트 6	E356K/D399K	K392D/K409D

[0107]

[0108] 대안적으로, 각각의 폴리펩티드 쇄에서 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 6으로부터 선택될 수 있다.

표 6	
제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
L351Y, D399R, D399K, S400K, S400R, Y407A, Y407I, Y407V	T366V, T366I, T366L, T366M, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F K392D, K392E, K409F, K409W, T411D 및 T411E

[0109]

[0110] 대안적으로, 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 7에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있으며, 여기서, 제1 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 음으로 하전된 아미노산으로 교체되고, 제2 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 양으로 하전된 아미노산으로 교체된다.

표 7	
제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
K392, K370, K409, 또는 K439	D399, E356, 또는 E357

[0111]

[0112] 대안적으로, 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 8에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있으며, 제1 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 양으로 하전된 아미노산으로 교체되고, 제2 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 음으로 하전된 아미노산으로 교체된다.

표 8	
제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
D399, E356, 또는 E357	K409, K439, K370, 또는 K392

[0113]

[0114] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 9에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

표 9	
제1 폴리펩티드	제2 폴리펩티드
T350V, L351Y, F405A, 및 Y407V	T350V, T366L, K392L, 및 T394W

[0115]

[0116] 대안적으로 또는 추가로, 이종다량체 단백질의 구조적 안정성은 제1 또는 제2 폴리펩티드 쇄에 S354C 및 반대쪽

폴리펩티드 쇄에 Y349C를 도입함으로써 증가될 수 있고, 이는 2개의 폴리펩티드의 계면 내에서 인공적인 디술피드 브릿지를 형성한다.

[0117] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 위치 T366에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, L368 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0118] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, L368 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 위치 T366에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0119] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405, 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0120] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405, 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0121] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, D399, S400 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, N390, K392, K409 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0122] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, N390, K392, K409 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, D399, S400 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0123] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, Y349, K360, 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, E357, D399 및 F405로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0124] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, E357, D399 및 F405로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, K360, Q347 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0125] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K370, K392, K409 및 K439로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 D356, E357 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0126] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 D356, E357 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K370, K392, K409 및 K439로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0127] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, E356, T366 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, L351, L368, K392 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0128] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, L351, L368, K392 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, E356, T366 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상위 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0129] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 S354C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0130] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 S354C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0131] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K360E 및 K409W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347R, D399V 및 F405T 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0132] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347R, D399V 및 F405T 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K360E 및 K409W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0133] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366S, T368A, 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0134] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366S, T368A, 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0135] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, L351Y, F405A, 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, T366L, K392L, 및 T394W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0136] 일부 구현예에서, 항체 불변 영역의 하나의 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, T366L, K392L, 및 T394W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하며, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, L351Y, F405A, 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0137] 상기 기재된 다중-특이적 단백질은 당해 기술분야의 숙련가에게 익히 공지된 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 제1 면역글로불린 중쇄를 암호화하는 제1 핵산 서열은 제1 발현 벡터로 클로링될 수 있고; 제2 면역글로불린 중쇄를 암호화하는 제2 핵산 서열은 제2 발현 벡터로 클로닝될 수 있고; 면역글로불린 경쇄를 암호화하는 제3 핵산 서열은 제3 발현 벡터로 클로닝될 수 있으며; 제1, 제2 및 제3 발현 벡터는 숙수 제포 내로 안정적으로 형질감염되어 다량체 단백질을 생성할 수 있다.

[0138] 다중-특이적 단백질의 최고 수율을 달성하기 위해, 제1, 제2 및 제3 발현 벡터의 상이한 비를 연구하여 숙주 세포로의 형질감염을 위해 최적의 비를 결정할 수 있다. 형질감염 이후, 세포 은행을 생성하기 위해 당해 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 제한된 희석, ELISA, FACS, 현미경 검사 또는 클론픽스 (Clonepix)를 사용하여 단일 클론을 단리할 수 있다.

[0139] 클론은 생물 반응기 규모 증가에 적합한 조건하에 배양하고, 다중-특이적 단백질의 발현을 유지할 수 있다. 다중-특이적 단백질은 원심분리, 심층 여과, 세포 용해, 균질화, 냉동-해동, 친화도 정제, 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 교환 크로마토그래피, 및 혼합-방식 크로마토그래피를 포함한 당해 기술분야에 공지된 방법을 이용하여 단리 및 정제할 수 있다.

[0140] **II. 다중-특이적 단백질의 특징**

[0141] 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 NKG2D-결합 부위, CD16-결합 부위 및 FLT3- 결합 부위를 포함한다. 일부 구현예에서, 다중-특이적 단백질은 NKG2D 및/또는 CD16을 발현하는 세포, 예컨대 NK 세포 및 FLT3을 동시에 발현하는 종양 세포에 결합한다. NK 세포에 대한 다중-특이적 단백질의 결합은 종양 세포의 파괴에 대한 NK 세포

의 활성을 증진시킬 수있다.

[0142] 일부 구현예에서, 다중-특이적 단백질은 상응하는 FLT3 모노클로날 항체 (즉, 다중-특이적 단백질에 포함된 것과 동일한 FLT3-결합 부위를 함유하는 모노클로날 항체)와 유사한 친화도로 FLT3에 결합한다. 일부 구현예에서, 다중-특이적 단백질은 상응하는 FLT3 모노클로날 항체보다 FLT3을 발현하는 종양 세포를 사멸시키는 데 보다 효과적이다.

[0143] 특정 구현예에서, NKG2D-결합 부위 및 FLT3에 대한 결합 도메인을 포함하는 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 FLT3을 발현하는 세포와 공동 배양할 때 일차 인간 NK 세포를 활성화시킨다. NK 세포 활성화는 CD107a 탈과립화 및 IFN-γ 시토카인 생성의 증가로 나타난다. 또한, 상응하는 FLT3 모노클로날 항체와 비교하여, 다중-특이적 단백질은 FLT3을 발현하는 세포의 존재하에 인간 NK 세포의 우수한 활성화를 나타낼 수 있다.

[0144] 특정 구현예에서, NKG2D-결합 부위 및 FLT3에 대한 결합 도메인을 포함하는 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 FLT3을 발현하는 세포와 공동 배양하는 휴식 및 IL-2-활성화된 인간 NK 세포의 활성을 증진시킨다.

[0145] 특정 구현예에서, FLT3에 결합하는 상응하는 모노클로날 항체와 비교하여, 다중-특이적 단백질은 중간 수준 및 낮은 수준의 FLT3을 발현하는 종양 세포를 표적으로 하는 이점을 제공한다.

[0146] **III. 치료적 적용**

[0147] 본 발명은 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질 및/또는 본원에 기재된 약제학적 조성물을 사용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법을 사용하여 FLT3을 발현하는 다양한 암을 치료할 수 있다. 일부 구현예에서, 암은 백혈병, 예를 들어, 급성 골수성 백혈병, T-세포 백혈병, 급성 림프 구성 백혈병, 만성 림프 구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 또는 모발상 세포 백혈병이다.

[0148] 일부 다른 구현예에서, 암은 유방암, 난소암, 식도암, 방광암 또는 위암, 타액관 암종, 타액관 암종, 폐 선암종 또는 장액성 자궁내막염과 같은 공격적인 형태의 자궁암이다. 일부 다른 구현예에서, 암은 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막암, 식도암, 백혈병, 폐암, 간암, 흑색종, 난소암, 췌장암, 직장암, 신암, 위암, 고환암, 또는 자궁암이다. 여전히 다른 구현예에서, 암은 편평 세포 암종, 선암종, 소세포 암종, 흑색종, 신경모세포종, 육종 (예를 들어, 혈관육종 또는 연골육종), 후두암, 이하선암, 담도암, 갑상선암, 말단 흑자 흑색종, 광선 각화증, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 아데노이드 낭성 암종, 선종, 선육종, 선편평상피 암종, 항문관암, 항문암, 항문직장암, 성상세포 종양, 바르톨린샘 암종, 기저 세포 암종, 담관암, 골암, 골수암, 기관지암, 기관지샘 암종, 유암종, 담관 암종, 연골육종, 맥락막총 유두종/암종, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 투명 세포 암종, 결합 조직암, 낭선종, 소화계암, 십이지장암, 내분비계암, 내배엽동 종양, 자궁내막 과다형성, 자궁내막 간질성 육종, 자궁내막모양 선암종, 자궁내막 세포 암, 상의세포 암, 상피 세포 암, 유잉 육종, 안구 및 안와 암, 여성 색식기암, 국소 결절성 과다형성, 담낭암, 위 전정부 암, 위 기저부 암, 가스트린종, 교모세포종, 글루카곤종, 심장암, 혈관모세포종, 혈관내피종, 혈관종, 간선종, 간선종증, 간담관암, 간세포 암종, 호지킨병, 회장암, 인슐린종, 상피내 신형성, 상피내 편평 상피 신형성, 간내 담관암, 침윤성 편평 세포 암종, 공장암, 관절암, 카포시 육종, 골반암, 거대 세포 암종, 대장암, 평활근육종, 악성 검정사마귀 흑색종, 림프종, 남성 생식기 암, 악성 흑색종, 악성 중피 종양, 수모세포종, 수질상피종, 뇌막암, 중피암, 전이성 암종, 구강암, 점막표피양 암종, 다발성 골수종, 근육암, 비강암, 신경계암, 신경상피 선암종 결절성 흑색종, 비-상피성 피부암, 비-호지킨 림프종, 귀리 세포 암종, 희소돌기아교세포암, 구강암, 골육종, 유두상 장액성 선암종, 음경암, 인두암, 뇌하수체 종양, 형질세포종, 가육종, 폐 모세포종, 직장암, 신세포 암종, 호흡계암, 망막모세포종, 횡문근육종, 육종, 장액성 암종, 부비동암, 피부암, 소세포 암종, 소장암, 평활근육암, 연조직암, 소마토스타틴-분비 종양, 척추암, 편평 세포 암종, 횡문근육암, 중피세포하 암, 표재 확산 흑색종, T 세포 백혈병, 설암, 미분화 암종, 수뇨관암, 요도암, 비뇨기 방광암, 비뇨계암, 자궁경부암, 자궁체부암, 포도막 흑색종, 질암, 사마귀모양 암종, 비포마 (VIPoma), 외음암, 잘 분화된 암종, 또는 윌름스 종양이다.

[0149] 일부 다른 구현예에서, 암은 비-호지킨 림프종, 예컨대 B-세포 림프종 또는 T-세포 림프종이다. 특정 구현예에서, 비-호지킨 림프종은 B-세포 림프종, 예컨대 미만성 거대 B-세포 림프종, 원발성 종격동 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 소형 림프구성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 B-세포 림프종, 림프절외 변연부 B-세포 림프종, 결절성 변연부 B-세포 림프종, 비장 변연부 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 림프구형질세포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 또는 원발성 중추신경계 (CNS) 림프종이다. 특정한 다른 구현예에서, 비-호지킨 림프종은 T-세포 림프종, 예컨대 전구체 T-림프모구성 림프종, 말초 T-세포 림프종, 피부 T-세포 림프종, 혈관면역모구성 T-세포 림프종, 림프절외 천연 킬러/T-세포 림프종, 장질환 유형 T-세포 림프종, 피하 지방층염-유사 T-세포 림

프종, 역형성 거대 세포 림프종, 또는 말초 T-세포 림프종이다.

[0150] **IV. 조합 요법**

[0151] 본 발명의 또 다른 양상은 조합 요법을 제공한다. 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질은 암을 치료하기 위해 추가의 치료제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0152] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 예시적인 치료제는, 예를 들어, 방사선, 미토마이신, 트레티노인, 리보무스틴, 겜시타빈, 빈크리스틴, 에토포시드, 클라드리빈, 미토브로니톨, 메토트렉세이트, 독소루비신, 카르보쿠온, 펜토스타틴, 니트라크린, 지노스타틴, 세트로렉릭스, 레트로졸, 랄티트렉세드, 다우노루비신, 파드로졸, 포테무스틴, 티말파신, 소부족산, 네다플라틴, 시타라빈, 비칼루타미드, 비노렐빈, 베스나리논, 아미노글루테티미드, 암사크린, 프로글루미드, 엘리프티늄 아세테이트, 케탄세린, 독시플루리딘, 에트레티네이트, 이소트레티노인, 스트렙토조신, 니무스틴, 빈데신, 플루타미드, 드로게닐, 부톡신, 카르모푸르, 라족산, 시조필란, 카르보플라틴, 미토락톨, 테가푸르, 이포스파미드, 프레드니무스틴, 피시바닐, 레바미솔, 테니포시드, 임프로술판, 에노시타빈, 리수리드, 옥시메톨론, 타목시펜, 프로게스테론, 메피티오스탄, 에피티오스타놀, 포르메스탄, 인터페론-알파, 인터페론-2 알파, 인터페론-베타, 인터페론-감마 (IFN-γ), 콜로니 자극 인자-1, 콜로니 자극 인자-2, 데니류킨 디프티톡스, 인터류킨-2, 루테인화 호르몬 방출 인자 및 그의 동족 수용체에 대한 차별적인 결합 및 증가된 또는 감소된 혈청 반감기를 나타낼 수 있는 상기 언급된 작용제의 변형체를 포함한다.

[0153] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 추가의 작용제 부류는 면역 관문 억제제이다. 예시적인 면역 관문 억제제는 (i) 세포독성 T-림프구-관련 항원 4 (CTLA4), (ii) 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1 (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4, 및 (vii) TIM3 중 하나 이상을 억제하는 작용제를 포함한다. CTLA4 억제제 이필리무맙은 흑색종의 치료를 위해 미국 식품의약국에 의해 승인되었다.

[0154] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 여전히 다른 작용제는 비-관문 표적 (예를 들어, 헤르셉틴) 및 비-세포독성제 (예를 들어, 티로신-키나제 억제제)를 표적으로 하는 모노클로날 항체 작용제이다.

[0155] 항암제의 여전히 다른 카테고리는, 예를 들어, (i) ALK 억제제, ATR 억제제, A2A 길항제, 염기 절단 복구 억제제, Bcr-Abl 티로신 키나제 억제제, 브루톤 티로신 키나제 억제제, CDC7 억제제, CHK1 억제제, 시클린-의존성 키나제 억제제, DNA-PK 억제제, DNA-PK 및 mTOR 둘 다의 억제제, DNMT1 억제제, DNMT1 억제제 + 2-클로로-데옥시아데노신, HDAC 억제제, 헷지호그 신호전달 경로 억제제, IDO 억제제, JAK 억제제, mTOR 억제제, MEK 억제제, MELK 억제제, MTH1 억제제, PARP 억제제, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, PARP1 및 DHODH 둘 다의 억제제, 프로테아좀 억제제, 토포이소머라제-II 억제제, 티로신 키나제 억제제, VEGFR 억제제, 및 WEE1 억제제로부터 선택된 억제제; (ii) OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 또는 ICOS의 효능제; 및 (iii) IL-12, IL-15, GM-CSF 및 G-CSF로부터 선택된 시토카인을 포함한다.

[0156] 본 발명의 단백질은 또한 원발성 병변의 수술적 제거에 대해 부가적으로 사용될 수 있다.

[0157] 다중-특이적 결합 단백질 및 추가의 치료제의 양 및 상대적인 투여 시기는 원하는 조합된 치료 효과를 달성하기 위해 선택될 수 있다. 예를 들어, 이러한 투여가 필요한 환자에게 조합 요법을 투여할 때, 조합물 중의 치료제, 또는 치료제를 포함하는 약제학적 조성물 또는 조성물들은 임의의 순서로, 예를 들어 순차적으로, 공동으로, 함께, 동시에 등으로 투여될 수 있다. 추가로, 예를 들어, 추가의 치료제(들)가 그의 예방적 또는 치료적 효과를 발휘하는 동안에 다중-특이적 결합 단백질을 투여할 수 있거나, 또는 그 반대로 할 수 있다.

[0158] **V. 약제학적 조성물**

[0159] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 치료학적 유효량의 단백질을 함유하는 약제학적 조성물을 특징으로 한다. 상기 조성물은 다양한 약물 전달 시스템에서 사용하기 위해 제형화될 수 있다. 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 부형제 또는 담체 또한 적절한 제형을 위해 조성물에 포함될 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 제형은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985]에서 확인한다. 약물 전달을 위한 방법의 간단한 검토를 위해서는, 예를 들어, 문헌 [Langer, Science 249:1527-1533, 1990)]을 참고한다.

[0160] 본 개시내용의 정맥내 약물 전달 제형은 백 (bag), 펜 또는 시린지에 함유될 수 있다. 특정 구현예에서, 백은 튜브 및/또는 니들을 포함하는 채널에 연결될 수 있다. 특정 구현예에서, 제형은 동결건조된 제형 또는 액체 제형일 수 있다. 특정 구현예에서, 제형은 냉동-건조되고 (동결건조되고), 약 12-60개 바이알에 함유될 수 있

다. 특정 구현예에서, 제형은 냉동-건조될 수 있고, 45 mg의 냉동-건조된 제형dms 하나의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 구현예에서, 약 40 mg - 약 100 mg의 냉동-건조된 제형dms 하나의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 구현예에서, 12, 27 또는 45개 바이알로부터의 냉동 건조된 제형을 조합하여 정맥내 약물 제형에서 단백질의 치료적 용량을 수득한다. 특정 구현예에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알로 보관될 수 있다. 특정 구현예에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 600 mg/바이알로 보관될 수 있다. 특정 구현예에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 250 mg/바이알로 보관될 수 있다.

[0161] 본 개시내용은 제형을 형성하는 완충된 용액 중에 치료학적 유효량의 단백질을 포함하는 액체 수성 제약 제형으로 존재할 수 있다.

[0162] 이들 조성물은 통상적인 멸균화 기술에 의해 멸균될 수 있거나, 또는 멸균 여과될 수 있다. 생성된 수성 용액을 그대로 사용하기 위해 포장하거나 또는 동결건조시킬 수 있고, 동결건조된 제제는 투여하기 전에 멸균 수성 담체와 조합된다. 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 더욱 바람직하게는 5 내지 9 또는 6 내지 8, 및 가장 바람직하게는 7 내지 8, 예컨대 7 내지 7.5일 것이다. 고체 형태로 생성된 조성물은 다중 단일 용량 단위로 포장될 수 있고, 이들 각각은 상기 언급된 작용제 또는 작용제들을 고정된 양으로 함유한다. 고체 형태의 조성물은 또한 유연한 양을 위해 컨테이너에 포장될 수 있다.

[0163] 특정 구현예에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질을 만니톨, 시트르산 일수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 이수화물, 인산이수소나트륨 이수화물, 염화나트륨, 폴리소르베이트 80, 물, 및 수산화나트륨과 조합하여 포함하는, 연장된 반감기를 갖는 제형을 제공한다.

[0164] 특정 구현예에서, pH-완충된 용액 중에 본 개시내용의 단백질을 포함하는 수성 제형이 제조된다. 본 발명의 완충제는 약 4 내지 약 8, 예를 들어 약 4.5 내지 약 6.0, 또는 약 4.8 내지 약 5.5 범위의 pH를 가질 수 있거나, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH를 가질 수 있다. 상기 인용된 pH에 대해 중간 범위 또한 본 개시내용의 일부로서 의도된다. 예를 들어, 상한 및/또는 하한으로서 상기 인용된 임의의 값의 조합을 이용하는 값의 범위가 포함되는 것으로 의도된다. 이 범위 내에서 pH를 조절하는 완충제의 예는 아세테이트 (예를 들어, 아세트산나트륨), 석시네이트 (예컨대, 숙신산나트륨), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트 및 다른 유기 산 완충제를 포함한다.

[0165] 특정 구현예에서, 제형은 약 4 내지 약 8 범위의 pH를 유지하기 위해 시트레이트 및 포스페이트를 함유하는 완충제 시스템을 포함한다. 특정 구현예에서, pH 범위는 약 4.5 내지 약 6.0, 또는 약 pH 4.8 내지 약 5.5, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH 범위일 수 있다. 특정 구현예에서, 완충제 시스템은 시트르산 일수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 이수화물, 및/또는 인산이수소나트륨 이수화물을 포함한다. 특정 구현예에서, 완충제 시스템은 약 1.3 mg/mL의 시트르산 (예를 들어, 1.305 mg/mL), 약 0.3 mg/mL의 시트르산나트륨 (예를 들어, 0.305 mg/mL), 약 1.5 mg/mL의 인산이나트륨 이수화물 (예를 들어 1.53 mg/mL), 약 0.9 mg/mL의 인산이수소나트륨 이수화물 (예를 들어, 0.86), 및 약 6.2 mg/mL의 염화나트륨 (예를 들어, 6.165 mg/mL)을 포함한다. 특정 구현예에서, 완충제 시스템은 1-1.5 mg/mL의 시트르산, 0.25 내지 0.5 mg/mv의 시트르산나트륨, 1.25 내지 1.75 mg/mL의 인산이나트륨 이수화물, 0.7 내지 1.1 mg/mL의 인산이수소나트륨 이수화물, 및 6.0 내지 6.4 mg/mL의 염화나트륨을 포함한다. 특정 구현예에서, 제형의 pH를 수산화나트륨으로 조정한다.

[0166] 등장화제로서 작용하고, 항체를 안정화시킬 수 있는 폴리올 또한 제형에 포함될 수 있다. 폴리올은 제형의 원하는 등장성과 관련하여 변할 수 있는 양으로 제형에 첨가된다. 특정 구현예에서, 수성 제형은 등장성일 수 있다. 첨가되는 폴리올의 양 또한 폴리올의 분자량과 관련하여 변경될 수 있다. 예를 들어, 이당류 (예컨대, 트레할로스)에 비해 보다 적은 양의 단당류 (예를 들어, 만니톨)를 첨가할 수 있다. 특정 구현예에서, 등장화제로서 제형에서 사용될 수 있는 폴리올은 만니톨이다. 특정 구현예에서, 만니톨 농도는 약 5 내지 약 20 mg/mL일 수 있다. 특정 구현예에서, 만니톨의 농도는 약 7.5 내지 15 mg/mL일 수 있다. 특정 구현예에서, 만니톨의 농도는 약 10-14 mg/mL일 수 있다. 특정 구현예에서, 만니톨의 농도는 약 12 mg/mL일 수 있다. 특정 구현예에서, 폴리올 소르비톨이 제형에 포함될 수 있다.

[0167] 세제 또는 계면활성제 또한 제형에 포함될 수 있다. 예시적인 세제는 비이온성 세제, 예컨대 폴리소르베이트 (예를 들어, 폴리소르베이트 20, 80 등) 또는 폴록사머 (예를 들어, 폴록사머 188)를 포함한다. 첨가되는 세제의 양은 제형화된 항체의 응집을 감소시키고/시키거나 제형에서 입자의 형성을 최소화시키고/시키거나 흡착을 감소시키도록 하는 양이다. 특정 구현예에서, 제형은 폴리소르베이트인 계면활성제를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 제형은 세제 폴리소르베이트 80 또는 트윈 80을 함유할 수 있다. 트윈 80은 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄모노올레에이트를 기재하기 위해 사용되는 용어이다 (문헌 [Fiedler, Lexikon der Hifsstoffe, Editio

Cantor Verlag Aulendorf, 4th edi., 1996] 참고). 특정 구현예에서, 제형은 약 0.1 mg/mL 내지 약 10 mg/mL의 폴리소르베이트 80, 또는 약 0.5 mg/mL 내지 약 5 mg/mL를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 약 0.1% 폴리소르베이트 80이 제형에 첨가될 수 있다.

[0168] 구현예에서, 본 개시내용의 단백질 생성물은 액체 제형으로 제형화된다. 액체 제형은 고무 스토퍼로 밀폐되고 알루미늄 크림프 밀봉 마개로 밀봉된 USP / Ph Eur 유형 I 50R 바이알에서 10 mg/mL 농도로 제공될 수 있다. 스토퍼는 USP 및 Ph Eur에 따라 엘라스토머로 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 바이알은 60 mL의 추출가능한 부피가 가능하도록 61.2 mL의 단백질 생성물 용액으로 충전될 수 있다. 특정 구현예에서, 액체 제형은 0.9% 식염수 용액으로 희석될 수 있다.

[0169] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 액체 제형은 안정화 수준에서 당과 조합된 10 mg/mL 농도의 용액으로서 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 액체 제형은 수성 담체 중에서 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 안정화제는 정맥내 투여에 바람직하지 않거나 적합하지 않은 점도를 생성할 수 있는 것보다는 적은 양으로 첨가될 수 있다. 특정 구현예에서, 당은 이당류, 예를 들어 수크로스일 수 있다. 특정 구현예에서, 액체 제형은 또한 완충화제, 계면활성제 및 보존제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0170] 특정 구현예에서, 액체 제형의 pH는 약제학적으로 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 구현예에서, 약제학적으로 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 구현예에서, 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

[0171] 응집 외에도, 탈아미드화는 발효, 수확/세포 정화, 정제, 약물 물질/약물 생성물 보관 및 샘플 분석 동안에 일어날 수 있는 펩티드 및 단백질의 흔한 생성물 변형이다. 탈아미드화는 단백질로부터 NH_3의 소실에 의해 가수분해가 일어날 수 있는 석신이미드 중간체를 형성하는 것이다. 석신이미드 중간체는 모 펩티드의 17 달톤 질량 감소를 초래한다. 후속적인 가수분해는 18 달톤 질량 증가를 초래한다. 석신이미드 중간체의 단리는 수성 조건하에서 불안정성으로 인해 어렵다. 이와 같이, 탈아미드화는 전형적으로 1 달톤 질량 증가로서 검출 가능하다. 아스파라긴의 탈아미드화는 아스파르트산 또는 이소아스파르트산을 초래한다. 탈아미드화 속도에 영향을 미치는 파라미터는는 pH, 온도, 용매 유전 상수, 이온 강도, 일차 서열, 국지적 폴리펩티드 형태 및 삼차 구조를 포함한다. 펩티드 쇄에서 Asn에 인접한 아미노산 잔기는 탈아미드화 속도에 영향을 미친다. 단백질 서열에서 Asn 이후의 Gly 및 Ser은 탈아미드화에 대한 더욱 높은 민감성을 초래한다.

[0172] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 액체 제형은 단백질 생성물의 탈아미노화를 방지하기 위한 pH 및 습도의 조건하에 보존될 수 있다.

[0173] 본원에서 관심 수성 담체는 약제학적으로 허용되고 (인간에게 투여하기에 안전하고 무독성임) 액체 제형의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 주사용 멸균수 (SWFI), 주사용 정균수 (BWFI), pH 완충된 용액 (예를 들어, 포스페이트-완충된 식염수), 멸균 식염수 용액, 링거 용액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0174] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제형에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다중-사용 (다중-용량) 제형의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0175] 정맥내 (IV) 제형은 특정한 예에서, 예컨대 환자가 이식 후에 IV 경로를 통해 모든 약물을 제공받으면서 입원해 있을 때 바람직한 투여 경로일 수 있다. 특정 구현예에서, 액체 제형을 투여하기 전에 0.9% 염화나트륨 용액으로 희석한다. 특정 구현예에서, 주사를 위해 희석된 약물 생성물은 등장성이고, 정맥내 주입에 의한 투여에 적합하다.

[0176] 특정 구현예에서, 염 또는 완충제 성분은 10 mM - 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 약제학적으로 허용되고, "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 구현예에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 구현예에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있으며, 이러한 경우에, 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로 작용할 수 있다.

[0177] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제형에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다중-사용 (다중-용량) 제형의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0178] 본원에서 관심 수성 담체는 약제학적으로 허용되고 (인간에게 투여하기에 안전하고 무독성임) 액체 제형의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 주사용 멸균수 (SWFI), 주사용 정균수 (BWFI), pH 완충된 용액 (예를 들어, 포스페이트-완충된 식염수), 멸균 식염수 용액, 링거 용액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0179] 본 개시내용의 단백질은 단백질 및 동결건조 보호제를 포함하는 동결건조된 제형으로 존재할 수 있다. 동결건조 보호제는 당, 예를 들어 이당류일 수 있다. 특정 구현예에서, 동결건조 보호제는 수크로스 또는 말토스일 수 있다. 동결건조된 제형은 또한 완충화제, 계면활성제, 벌크화제 및/또는 보존제 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0180] 동결건조된 약물 생성물의 안정화에 유용한 수크로스 또는 말토스의 양은 적어도 1:2의 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량 비일 수 있다. 특정 구현예에서, 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량 비는 1:2 내지 1:5일 수 있다.

[0181] 특정 구현예에서, 동결건조 이전에 제형의 pH는 약제학적으로 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 구현예에서, 약제학적으로 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 구현예에서, 약제학적으로 허용되는 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

[0182] 동결건조 이전에, 본 개시내용의 단백질을 함유하는 용액의 pH는 6 내지 8일 수 있다. 특정 구현예에서, 동결건조된 약물 생성물을 위한 pH 범위는 7 내지 8일 수 있다.

[0183] 특정 구현예에서, 염 또는 완충제 성분은 10 mM - 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 약제학적으로 허용되고 "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 구현예에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 구현예에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있고, 이러한 경우에, 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로 작용할 수 있다.

[0184] 특정 구현예에서, "벌크화제"가 첨가될 수 있다. "벌크화제"는 동결건조된 혼합물에 질량을 추가하고, 동결건조된 케이크의 물리적 구조에 기여하는 (예를 들어, 개방 공극 구조체를 유지하는 본질적으로 균일한 동결건조된 케이크의 생산을 용이하게 함) 화합물이다. 예시적인 벌크화제는 만니톨, 글리신, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비톨을 포함한다. 본 발명의 동결건조된 제형은 이러한 벌크화제를 함유할 수 있다.

[0185] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제형에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다중-사용 (다중-용량) 제형의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0186] 특정 구현예에서, 동결건조된 약물 생성물은 수성 담체에 의해 구성될 수 있다. 본원에서 관심 수성 담체는 약제학적으로 허용되고 (예를 들어, 인간에게 투여하기에 안전하고 무독성임) 동결건조 이후에 액체 제형의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 희석제는 주사용 멸균수 (SWFI), 주사용 정균수 (BWFI), pH 완충된 용액 (예를 들어, 포스페이트-완충된 식염수), 멸균 식염수 용액, 링거 용액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0187] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 동결건조된 약물 생성물은 주사용 멸균수, USP (SWFI) 또는 0.9% 염화나트륨 주사, USP에 의해 재구성된다. 재구성하는 동안에, 동결건조된 분말은 용액으로 해리된다.

[0188] 특정 구현예에서, 본 개시내용의 동결건조된 단백질 생성물은 약 4.5 mL 주사용수로 재구성되고 0.9% 식염수 용액 (염화나트륨 용액)에 의해 희석된다.

[0189] 본 발명의 약제학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투여 수준은 환자에게 독성이 없이 특정한 환자, 조성 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다.

[0190] 특정한 용량은 각각의 환자에 대해 균일한 용량, 예를 들어 50-5000 mg의 단백질일 수 있다. 대안적으로, 환자의 용량은 대략적인 환자의 체중 또는 표면적에 맞추어질 수 있다. 적절한 용량을 결정하기 위한 다른 인자에는 치료하거나 예방할 질환 또는 상태, 질환의 중증도, 투여 경로, 환자의 연령, 성별 및 의학적 상태가 포함될 수 있다. 치료를 위한 적절한 용량을 결정하기 위해 필요한 계산의 추가의 개량은 특히 본원에 개시된 용량 정보 및 검정에 비추어 당해 기술분야의 숙련가에 의해 일상적으로 이루어진다. 용량은 적절한 용량-반응 데이터와 함께 사용되는 용량을 결정하기 위해 공지된 검정의 사용을 통해 결정될 수도 있다. 개별 환자의 용량은 질환의 진행을 모니터링하면서 조정될 수 있다. 용량이 효과적인 농도에 도달하거나 그를 유지하기 위해 조정될 필요가 있는지를 보기 위해 환자에서 표적화가능한 작제물 또는 복합체의 혈액 수준을 측정할 수 있다. 약물유전체학을 이용하여 표적화가능한 작제물 및/또는 복합체, 및 그의 용량이 주어진 개체에 대해 가장 효과적일 가능성이 있는지를 결정할 수 있다 (Schmitz 등, *Clinica Chimica Acta* 308: 43-53, 2001; Steimer 등, *Clinica Chimica Acta* 308: 33-41, 2001).

[0191] 일반적으로, 체중을 기준으로 하는 용량은 약 0.01 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 예컨대 약 0.01 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지

약 1 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 50 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 10 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 1 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 0.1 μg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 10 μg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 1 μg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 50 μg/kg 체중, 약 1 μg 내지 약 10 μg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 10 μg 내지 약 50 μg/kg 체중, 약 50 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 50 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 50 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 50 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 50 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 100 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 100 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 100 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 100 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 1 mg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 1 mg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 1 mg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 10 mg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 10 mg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 50 mg 내지 약 100 mg/kg 체중이다.

[0192] 용량은 매일, 매주, 매월 또는 매년마다 1회 이상, 또는 심지어 2 내지 20년마다 1회로 제공될 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 체액 또는 조직에서 표적화가능한 작제물 또는 복합체의 측정된 체류 시간 및 농도를 기준으로 하여 투여를 위한 반복 속도를 용이하게 추정할 수 있다. 본 발명의 투여는 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 흉막내, 척추강내, 강내로, 카테터를 통한 관주에 의해, 또는 직접적인 병변내 주사에 의한 것일 수 있다. 이는 매일 1회 이상, 매주 1회 이상, 매월 1회 이상, 및 매년 1회 이상 투여될 수 있다.

[0193] 상기 기재는 본 발명의 여러 측면 및 구현예를 기재한다. 본 특허 출원은 상기 양상 및 구현예의 모든 조합 및 치환을 고려한다.

[0194] **실시예**

[0195] 본 발명은 이제 일반적으로 기재되고, 하기 실시예를 참고하여 더욱 용이하게 이해될 것이며, 하기 실시예는 본 발명의 특정한 양상 및 구현예를 기재하기 위한 목적으로만 포함되며, 본 발명을 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0196] **실시예 1 - NKG2D-결합 도메인은 NKG2D에 결합한다**

[0197] NKG2D-결합 도메인은 정제된 재조합 NKG2D에 결합한다

[0198] 인간, 마우스 또는 시노몰구스 NKG2D 엑토도메인의 핵산 서열을 인간 IgG1 Fc 도메인을 암호화하는 핵산 서열과 융합하고, 발현시키고자 하는 포유류 세포에 도입하였다. 정제 후에, NKG2D-Fc 융합 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰다. 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하여 비-특이적 결합을 방지한 후에, NKG2D-결합 도메인을 적정하고, NKG2D-Fc 융합 단백질로 미리 흡착된 웰에 첨가하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합되어 있고, Fc 교차-반응성을 피하기 위해 인간 카파 경쇄를 특이적으로 인식하는 이차 항체를 사용하여 일차 항체 결합을 검출하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다제에 대한 기질인 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB)을 결합 신호를 가시화하기 위해 웰에 첨가하였고, 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. NKG2D-결합 도메인 클론, 이소타입 대조군 또는 양성 대조군 (서열번호: 101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스 (eBioscience)에서 입수 가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함)을 각각의 웰에 첨가하였다.

[0199] 이소타입 대조군은 재조합 NKG2D-Fc 단백질에 대해 최소의 결합을 나타내는 반면에, 양성 대조군은 재조합 항원에 가장 강력하게 결합하였다. 모든 클론에 의해 생산된 NKG2D-결합 도메인은 인간, 마우스 및 시노몰구스 재조합 NKG2D-Fc 단백질에 걸쳐 결합을 입증하였지만, 클론마다 친화도가 달랐다. 일반적으로, 각각의 항-NKG2D 클론은 유사한 친화도로 인간 (도 3) 및 시노몰구스 (도 4) 재조합 NKG2D-Fc에 결합하였지만, 마우스 (도 5) 재조합 NKG2D-Fc에 대해서는 더 낮은 친화도를 가졌다.

[0200] NKG2D-결합 도메인은 NKG2D를 발현하는 세포에 결합한다

[0201] EL4 마우스 림프종 세포주는 인간 또는 마우스 NKG2D - CD3 제타 신호전달 도메인 키메라 항원 수용체를 발현하도록 조작되었다. NKG2D-결합 클론, 이소타입 대조군 또는 양성 대조군을 100 nM 농도로 사용하여, EL4 세포 상에서 발현된 세포외 NKG2D를 염색하였다. 형광단-접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 사용하여 항체 결합을 검출하였다. 세포를 유동 세포분석법으로 분석하였고, 백그라운드 대비 배수 (FOB)를 모 EL4 세포와 비교하여

NKG2D-발현 세포의 평균 형광 강도 (MFI)를 사용하여 계산하였다.

[0202] 모든 클론에 의해 생산된 NKG2D-결합 도메인은 인간 및 마우스 NKG2D를 발현하는 EL4 세포에 결합하였다. 양성 대조군 항체 (서열번호: 101-104로부터 선택된 경쇄 및 중쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스에서 입수 가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함)는 최상의 FOB 결합 신호를 제공하였다. 각각의 클론에 대한 NKG2D-결합 친화도는 인간 NKG2D (도 6) 및 마우스 (도 7) NKG2D를 발현하는 세포에서 유사하였다.

[0203] **실시예 2 - NKG2D-결합 도메인은 천연 리간드가 NKG2D에 결합하는 것을 차단한다**

[0204] ULBP-6과의 경쟁

[0205] 재조합 인간 NKG2D-Fc 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 상기 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. 포화 농도의 ULBP-6-His-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인 클론을 첨가하였다. 2-시간 항온처리 후에, 웰을 세척하고, NKG2D-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 ULBP-6-His-비오틴을 서양고추냉이 퍼옥시다제 및 TMB 기질에 접합된 스트렙타비딘에 의해 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-Fc 단백질에 대한 NKG2D-결합 도메인의 특이적 결합을 웰에서 NKG2D-Fc 단백질에 대한 결합이 차단된 ULBP-6-His-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 항체 (서열번호: 101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인은 ULBP-6이 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군은 ULBP-6과 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 8).

[0206] ULBP-6 서열은 서열번호: 108로 표시된다.

MAAAAIPALLLCLPLLFLLFGWSRARRDDPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVD
EKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTMAWKAQNPVLREVVDILTEQLLDIQLENY
TPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSIDGQTFLLFDSEKRMWTTVHPGARKMK
EKWENDKDVAMSFHYISMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAMSSGTTQLRA

[0207] TATTLILCCLLIILPCFILPGI (서열번호 108)

[0208] MICA와의 경쟁

[0209] 재조합 인간 MICA-Fc 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. NKG2D-Fc-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인을 첨가하였다. 항온처리 및 세척 후에, MICA-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 NKG2D-Fc-비오틴을 스트렙타비딘-HRP 및 TMB 기질을 이용하여 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-Fc 단백질에 대한 NKG2D-결합 도메인의 특이적 결합을 MICA-Fc 코팅된 웰에 대한 결합이 차단된 NKG2D-Fc-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 항체 (서열번호: 101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인은 MICA가 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군은 MICA와 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 9).

[0210] Rae-1 델타와의 경쟁

[0211] 재조합 마우스 Rae-1델타-Fc (알앤디 시스템즈(R&D Systems)로부터 구입함)를 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. 마우스 NKG2D-Fc-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인을 첨가하였다. 항온처리 및 세척 후에, Rae-1델타-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 NKG2D-Fc-비오틴을 스트렙타비딘-HRP 및 TMB 기질을 이용하여 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-Fc 단백질에 대한 NKG2D-결합 도메인의 특이적 결합을 Rae-1델타-Fc 코팅된 웰에 대한 결합이 차단된 NKG2D-Fc-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 (서열번호: 101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스에서 입수 가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인 클론은 Rae-1델타가 마우스 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군 항체는 Rae-1델타와 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 10).

[0212] **실시예 3 - NKG2D-결합 도메인 클론은 NKG2D를 활성화시킨다**

[0213] 인간 및 마우스 NKG2D의 핵산 서열을 CD3 제타 신호전달 도메인을 암호화하는 핵산 서열에 융합시켜 키메라 항원 수용체 (CAR) 작제물을 수득하였다. 이어서, NKG2D-CAR 작제물을 깁슨 (Gibson) 조립체를 사용하여 레트로

바이러스 벡터에 클로닝시키고, 레트로바이러스 생산을 위해 expi293 세포에 형질감염시켰다. EL4 세포를 8 μg/mL 폴리브렌과 함께 NKG2D-CAR을 함유하는 바이러스로 감염시켰다. 감염 24시간 후에, EL4 세포에서 NKG2D-CAR의 발현 수준을 유동 세포분석법으로 분석하고, 세포 표면 상에서 높은 수준의 NKG2D-CAR을 발현하는 클론을 선택하였다.

[0214] NKG2D-결합 도메인이 NKG2D를 활성화시키는지 여부를 결정하기 위해, 이들을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, NKG2D-CAR EL4 세포를 항체 단편-코팅된 웰 상에서 4시간 동안 브레펠딘-A 및 모넨신의 존재하에 배양하였다. NKG2D 활성화에 대한 지표인 세포내 TNF-α 생산을 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. TNF-α 양성 세포의 백분율을 양성 대조군으로 처리된 세포에 대해 정규화하였다. 모든 NKG2D-결합 도메인은 인간 NKG2D (도 11) 및 마우스 NKG2D (도 12) 둘 다를 활성화시켰다.

[0215] **실시예 4 - NKG2D-결합 도메인은 NK 세포를 활성화시킨다**

[0216] 일차 인간 NK 세포

[0217] 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 밀도 구배 원심분리를 사용하여 인간 말초 혈액 연막으로부터 단리하였다. NK 세포 ($CD3^-$ $CD56^+$)를 자성 비드에 의한 음성 선택을 사용하여 PBMC로부터 단리하였고, 단리된 NK 세포의 순도는 전형적으로 >95%였다. 이어서, 단리된 NK 세포를 NKG2D-결합 도메인이 흡착되어 있는 마이크로플레이트의 웰로 옮기기 전에, 이들을 100 ng/mL IL-2를 함유하는 배지에서 24-48시간 동안 배양하였고, 형광단-접합된 항-CD107a 항체, 브레펠딘-A, 및 모넨신을 함유하는 배지에서 배양하였다. 배양 후에, NK 세포를 CD3, CD56 및 IFN-γ에 대한 형광단-접합된 항체를 사용하여 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. CD107a 및 IFN-γ 염색을 $CD3^-$ $CD56^+$ 세포에서 분석하여, NK 세포 활성화를 평가하였다. CD107a/IFN-γ 이중-양성 세포에서의 증가는 1개의 수용체보다는 2개의 활성화 수용체의 결속을 통한 보다 양호한 NK 세포 활성화를 나타낸다. NKG2D-결합 도메인 및 양성 대조군 (예를 들어, 서열번호: 101 또는 서열번호: 103으로 표시되는 중쇄 가변 도메인, 및 서열번호: 102 또는 서열번호: 104로 표시되는 경쇄 가변 도메인)은 이소타입 대조군에 비해 $CD107a^+$ 및 IFN-$γ^+$가 되는 NK 세포의 보다 높은 백분율을 나타내었다 (도 13 및 도 14는 NK 세포 준비를 위해 상이한 공여자의 PBMC를 각각 사용하는 2회의 독립적인 실험으로부터의 데이터를 나타냄).

[0218] 일차 마우스 NK 세포

[0219] 비장을 C57Bl/6 마우스로부터 입수하였고, 70 ㎛ 세포 스트레이너를 통해 분쇄하여, 단일 세포 현탁액을 수득하였다. 세포를 펠렛화하고, ACK 용해 완충제 (써모 피셔 사이언티픽 (Thermo Fisher Scientific)으로부터 구입함, #A1049201; 155 mM 염화암모늄, 10 mM 중탄산칼륨, 0.01 mM EDTA) 중에 재현탁시켜, 적혈구를 제거하였다. NK 세포 단리를 위해 수확하고 준비하기 전에 남아있는 세포를 100 ng/mL hIL-2와 함께 72시간 동안 배양하였다. 이어서, 자성 비드를 사용하는 음성 고갈 기술을 이용하여 비장 세포로부터 NK 세포 ($CD3^-$ $NK1.1^+$)를 전형적으로 >90% 순도로 단리하였다. 정제된 NK 세포를 NKG2D-결합 도메인이 흡착되어 있는 마이크로플레이트의 웰로 옮기기 전에, 이들을 100 ng/mL mIL-15를 함유하는 배지에서 48시간 동안 배양하고, 형광단-접합된 항-CD107a 항체, 브레펠딘-A, 및 모넨신을 함유하는 배지에서 배양하였다. NKG2D-결합 도메인-코팅된 웰에서 배양한 후에, NK 세포를 CD3, NK1.1 및 IFN-γ에 대한 형광단-접합된 항체를 사용하여 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. CD107a 및 IFN-γ 염색을 $CD3^-$ $NK1.1^+$ 세포에서 분석하여 NK 세포 활성화를 평가하였다. CD107a/IFN-γ 이중-양성 세포에서의 증가는 1개의 수용체보다는 2개의 활성화 수용체의 결속을 통한 보다 양호한 NK 세포 활성화를 나타낸다. NKG2D-결합 도메인 및 양성 대조군 (이바이오사이언스에서 입수 가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5로부터 선택됨)은 이소타입 대조군에 비해 $CD107a^+$ 및 IFN-$γ^+$가 되는 NK 세포의 보다 높은 백분율을 나타내었다 (도 15 및 도 16은 NK 세포 준비를 위해 상이한 마우스를 각각 사용하는 2회의 독립적인 실험으로부터의 데이터를 나타냄).

[0220] **실시예 5 - NKG2D-결합 도메인은 표적 종양 세포의 세포독성을 가능하게 한다**

[0221] 인간 및 마우스 일차 NK 세포 활성화 검정은 NKG2D-결합 도메인과 함께 항온처리한 후에 NK 세포 상의 증가된 세포독성 마커를 입증한다. 이것이 증가된 종양 세포 용해로 해석되는지 여부를 다루기 위해, 각각의 NKG2D-결합 도메인을 단일특이적 항체로 발달시키는 세포-기반 검정을 이용하였다. Fc 영역은 1개의 표적화 아암으로서 사용된 반면에, Fab 영역 (NKG2D-결합 도메인)은 또 다른 표적화 아암으로서 작용하여, NK 세포를 활성화시켰다. 인간 기원이며 높은 수준의 Fc 수용체를 발현하는 THP-1 세포를 종양 표적으로서 사용하였고,

퍼킨 엘머 (Perkin Elmer) DELFIA 세포독성 키트를 사용하였다. THP-1 세포를 BATDA 시약으로 표지화하고, 배양 배지에서 10^5/mL로 재현탁시켰다. 이어서, 표지화된 THP-1 세포를 마이크로타이터 플레이트의 웰에서 37℃에서 3시간 동안 NKG2D 항체 및 단리된 마우스 NK 세포와 조합하였다. 항온처리 후에, 20 μL의 배양 상등액을 제거하고, 200 μL의 유로퓸 용액과 혼합하고, 어두운 곳에서 15분 동안 진탕하면서 항온처리하였다. 시간-분해 형광 모듈을 구비한 페라스타 (PheraStar) 플레이트 판독기에 의해 시간에 걸쳐 형광을 측정하였고 (여기 337 nm, 방출 620 nm), 특이적 용해를 키트 지침에 따라 계산하였다.

[0222] 양성 대조군, ULBP-6 (NKG2D에 대한 천연 리간드)은 마우스 NK 세포에 의한 THP-1 표적 세포의 증가된 특이적 용해를 나타내었다. NKG2D 항체 또한 THP-1 표적 세포의 증가된 특이적 용해를 나타낸 반면에, 이소타입 대조군 항체는 감소된 특이적 용해를 나타내었다. 점선은 항체를 첨가하지 않고 마우스 NK 세포에 의한 THP-1 세포의 특이적 용해를 나타낸다 (도 17).

[0223] **실시예 6 - NKG2D 항체는 높은 열안정성을 나타낸다**

[0224] NKG2D-결합 도메인의 융점을 시차 주사 형광측정법을 사용하여 검정하였다. 외삽된 겉보기 융점은 전형적인 IgG1 항체에 비해 높았다 (도 18).

[0225] **실시예 7 - NKG2D와 CD16을 가교시킴으로써 인간 NK 세포의 상승작용적 활성화**

[0226] 일차 인간 NK 세포 활성화 검정

[0227] 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 밀도 구배 원심분리를 사용하여 말초 인간 혈액 연막으로부터 단리하였다. 음성 자성 비드 (스템셀 (StemCell) # 17955)를 사용하여 NK 세포를 PBMC로부터 정제하였다. NK 세포는 유동 세포분석법에 의해 결정된 바와 같이 >90% $CD3^-CD56^+$이었다. 이어서, 세포를 활성화 검정에서 사용하기 전에 100 ng/mL hIL-2 (페프로테크 (Peprotech) #200-02)를 함유하는 배지에서 48시간 동안 확장시켰다. 항체를 96-웰 편평 바닥 플레이트 상에 100 μL 멸균 PBS 중 2 μg/mL (항-CD16, 바이오레전드 (Biolegend) # 302013) 및 5 μg/mL (항-NKG2D, 알앤디 #MAB139)의 농도로 밤새 4℃에서 코팅한 후, 웰을 철저히 세척하여 과잉의 항체를 제거하였다. 탈과립화를 평가하기 위해, IL-2-활성화된 NK 세포를 100 ng/mL 인간 IL2 (hIL2) 및 1 μg/mL APC-접합된 항-CD107a mAb (바이오레전드 # 328619)로 보충된 배양 배지 중에서 $5x10^5$ 세포/mL로 재현탁시켰다. 이어서, $1x10^5$ 세포/웰을 항체 코팅된 플레이트 상에 첨가하였다. 단백질 수송 억제제 브레펠딘 A (BFA, 바이오레전드 # 420601) 및 모넨신 (바이오레전드 # 420701)을 각각 1:1000 및 1:270의 최종 희석으로 첨가하였다. 플레이팅된 세포를 37℃에서 5% CO_2에서 4시간 동안 항온처리하였다. IFN-γ의 세포내 염색을 위해, NK 세포를 항-CD3 (바이오레전드 #300452) 및 항-CD56 mAb (바이오레전드 # 318328)로 표지화하고, 후속적으로 고정하고, 투과화시키고, 항-IFN-γ mAb (바이오레전드 # 506507)로 표지화하였다. NK 세포를 살아있는 $CD56^+CD3^-$ 세포 상에 게이팅한 후에 유동 세포분석법에 의해 CD107a 및 IFN-γ의 발현에 대해 분석하였다.

[0228] 수용체 조합물의 상대적인 효능을 연구하기 위해, 플레이트-결합된 자극에 의한 NKG2D 또는 CD16의 가교 및 두 수용체의 공동 가교를 수행하였다. 도 19 (도 19a-19c)에 나타낸 바와 같이, CD16 및 NKG2D의 조합된 자극은 매우 상승된 수준의 CD107a (탈과립화) (도 19a) 및/또는 IFN-γ 생산 (도 19b)을 초래하였다. 점선은 각 수용체의 개별 자극의 부가 효과를 나타낸다.

[0229] 항-CD16, 항-NKG2D, 또는 두 모노클로날 항체의 조합물에 의한 플레이트-결합된 자극 4시간 후에 IL-2-활성화된 NK 세포의 CD107a 수준 및 세포내 IFN-γ 생산을 분석하였다. 그래프는 평균 (n = 2) ± SD를 나타낸다. 도 19a는 CD107a의 수준을 입증하고; 도 19b는 IFN-γ의 수준을 입증하고; 도 19c는 CD107a 및 IFN-γ의 수준을 입증한다. 도 19a-19c에 제시된 데이터는 5명의 상이한 건강한 공여자를 이용한 5회의 독립적인 실험을 대표한다.

[0230] **실시예 8 - 세포-발현된 인간 NKG2D에 결합하는 TriNKET의 평가**

[0231] EL4 마우스 림프종 세포주는 인간 NKG2D를 발현하도록 조작되었다. 다중 특이적-결합 단백질, 예를 들어, CD-16에 결합하는 NKG2D-결합 도메인, FLT3-결합 도메인, 및 Fc 도메인을 각각 함유하는 삼특이적-결합 단백질 (TriNKET)은 EL4 세포 상에 발현된 세포외 NKG2D에 결합하기 위한 그들의 친화도에 대해 시험하였다. TriNKET를 20 μg/mL로 희석한 다음, 연속 희석하였다. 형광단-접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 사용하여 NKG2D에 대한 TriNKET의 결합을 검출하였다. 이어서, 세포를 유동 세포분석법으로 분석하고, 평균 형광 강도 (MFI)를 이

차 항체 대조군으로 정규화하여 백그라운드 대비 배수 (FOB) 값을 얻었다.

[0232] 시험된 TriNKET는 A44-TriNKET-FLT3-IMCEB10 (예를 들어, 서열번호: 109의 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 113의 경쇄 가변 영역을 포함시킴으로써 클론 ADI-27744로부터의 NKG2D-결합 도메인; 및 FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10으로부터 유래된 FLT3-결합 도메인), A44-TriNKET-FLT3-4G8 (예를 들어, 서열번호: 117의 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 121의 경쇄 가변 영역을 포함시킴으로써 클론 ADI-27744로부터의 NKG2D-결합 도메인; 및 모노클로날 항체 모노클로날 4G8로부터 유래된 FLT3-결합 도메인), A49-TriNKET-FLT3- IMCEB10 (예를 들어, 서열번호: 109의 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 113의 경쇄 가변 영역을 포함시킴으로써 클론 ADI-27749로부터의 NKG2D-결합 도메인 및 FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10로부터 유래된 FLT3-결합 도메인), A49-TriNKET-FLT3-4G8 (예를 들어, 서열번호: 117의 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 121의 경쇄 가변 영역을 포함시킴으로써 클론 ADI-27749로부터의 NKG2D-결합 도메인 및 모노클로날 항체 모노클로날 4G8로부터 유래된 FLT3-결합 도메인), C26-TriNKET-FLT3-4G8 (예를 들어, 서열번호: 117의 중쇄 가변 영역 및 서열번호: 121의 경쇄 가변 영역을 포함시킴으로써 클론 ADI-28226으로부터의 NKG2D-결합 도메인; 및 모노클로날 항체 모노클로날 4G8로부터 유래된 FLT3-결합 도메인)이었다. FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10을 대조군으로 사용하였다. NKG2D-결합 도메인 (A44, A49, 또는 C26)을 함유하는 TriNKET는 세포 표면에서 발현된 NKG2D에 대한 결합을 보여주었다. 동일한 NKG2D-결합 도메인을 함유하지만 상이한 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET는 세포 표면에서 NKG2D와 유사한 결합 친화도를 나타냈다 (도 35).

[0233] **실시예 9 - 암 세포에서 발현된 FLT3에 결합하는 TriNKET의 평가**

[0234] FLT3을 발현하는 인간 AML 세포주 (Molm-13 및 EOL-1)를 사용하여 FLT3-표적화 TriNKET의 종양-관련 항원에 대한 결합을 분석하였다. TriNKET를 세포와 함께 항온처리하고, 형광단-접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 사용하여 결합을 검출하였다. 세포를 유동 세포분석법으로 분석하고, 평균 형광 강도 (MFI)를 이차 항체 대조군으로 정규화하여 백그라운드 대비 배수 (FOB) 값을 얻었다.

[0235] IMCEB10 또는 4G8의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 FLT3-표적화 TriNKET는 Molm-13 및 EOL-1 세포에 대한 양성 결합을 나타냈다 (도 36a 및 도 36b). IMCEB10 또는 4G8의 FLT-3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET의 인간 AML 세포주에 대한 결합은 NKG2D-결합 도메인과 무관하였다. 4G8의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET는 보다 높은 최대 결합 및 EC_{50} 값을 나타냈다.

[0236] **실시예 10 - FLT3-발현 세포에서 FLT3-표적화 TriNKET의 내재화**

[0237] 인간 AML 세포주 Molm-13 및 EOL-1을 사용하여 세포 표면에서 발현된 FLT3에 결합한 후 FLT3-표적화 TriNKET의 내재화를 평가하였다. TriNKET 또는 모노클로날 항체 린투주맙을 20 pg/mL로 희석하고, 세포를 염색하는데 사용하였다. 염색 후, 샘플의 ⅔를 37℃에서 밤새 배치하여 내재화를 촉진시키고, 샘플의 나머지 ⅓을 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 사용하여 검출하여 기준선 MFI를 제공하였다. 37℃에서 2시간 및 20시간의 항온처리 후, 샘플을 항온처리기로부터 제거하고, 세포 표면에 결합된 항체를 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 사용하여 검출하여 샘플 MFI를 제공하였다. 내재화를 계산하였다: % 내재화 = (1-(샘플 MFI/기준선 MFI)) * 100%.

[0238] 도 37a 및 37b는 각각 EOL-1 및 Molm-13 세포와 함께 항온처리한 후 FLT3-표적화 TriNKET의 내재화를 나타냈다. CD33이 Molm-13 및 EOL-1 세포주 둘 다에서 발현되기 때문에, 항-CD33 모노클로날 항체 린투주맙은 내재화를 위한 양성 대조군으로 사용되었다. 린투주맙은 세포주 둘 다에서 높은 수준의 내재화를 나타냈으며, 내재화는 시간이 경화함에 따라 증가하였다. IMCEB10의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET는 4G8의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET과 비교하여 2시간 항온처리 후 보다 높은 수준의 내재화를 나타냈다. 항온처리 20시간 후, 4G8의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET 및 IMCEB10의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET는 세포에서 유사한 수준의 내재화를 나타냈다.

[0239] **실시예 11 - TriNKET는 암 세포에 대한 인간 NK 세포의 독성을 증진시킨다**

[0240] FLT3-표적화 TriNKET의 존재하에 FLT3-발현 암 세포를 용해시키는 인간 NK 세포의 능력을 시험하기 위해, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 단리하고 NK 세포 단리를 위해 준비하였다. PBMC를 밀도 구배 원심분리를 사용하여 말초 인간 혈액 연막으로부터 단리하였다. 단리된 PBMC를 세척하고 NK 세포 단리를 준비하였다. NK 세포를 자성 비드에 의한 음성 선택을 사용하여 단리하였고, 단리된 NK 세포의 순도는 전형적으로 >90% CD3-CD56+였다. 단리된 NK 세포를 100 ng/mL IL-2를 함유하는 배지에서 배양하거나 시토카인 없이 밤새 휴식시켰다. IL-2-활성

화 또는 휴지 된 NK 세포를 다음날 세포독성 검석에 사용하였다.

[0241] 모든 세포독성 검정은 다음과 같이 준비하였다: FLT3-양성 종양 세포 EOL-1을 배양물로부터 수확하고, PBS로 세척하고, BATDA 시약 (퍼킨 엘머 C136-100)으로 표지화하기 위해 10^6/mL로 성장 배지에 재현탁시켰다. 표적 세포의 표지화를 위해 제조업체의 지시를 따랐다. 표지화 후, 세포를 HBS로 3회 세척하고 배양 배지에서 0.5-1.0x10^5/mL로 재현탁시켰다. 백그라운드 웰을 제조하기 위해, 표지된 세포의 분취량을 제쳐두고, 세포를 배지로부터 회전 제거하였다. 펠릿화 된 세포를 방해하지 않도록 100 μL의 배지를 웰에 3회 조심스럽게 첨가하였다. 100 μL의 BATDA 표지된 세포를 96-웰 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 웰을 표적 세포로부터의 자발적 방출을 위해 저장하였고 웰을 1% Triton-X의 첨가에 의해 표적 세포의 최대 용해를 위해 제조하였다. FLT3 모노클로날 항체 또는 FLT3-표적화 TriNKET를 배양 배지에 희석시키고, 50 μL의 희석된 모노클로날 항체 또는 TriNKET를 각 웰에 첨가하였다. 휴식 및/또는 활성화된 NK 세포를 배양물로부터 수확하고, 세척하고, 원하는 이펙터 세포 대 표적 세포 비에 따라 배양 배지에서 10^5-2.0x10^6/mL로 재현탁시켰다. 50 μL의 NK 세포를 플레이트의 각 웨에 첨가하여 총 200 μL 배양 부피를 만들었다. 플레이트를 37℃에서 5% CO_2와 함께 2-3시간 동안 항온처리한 후 검정을 위해 진행하였다.

[0242] 2-3시간 동안 배양한 후, 플레이트를 항온처리기로부터 제거하고, 세포를 200 g에서 5분 동안 원심분리하여 펠릿화하였다. 20 μL의 배양 상등액을 제조자로부터 제공된 깨끗한 마이클로플레이트로 옮기고, 200 μL의 실온 유로품 용액을 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 광으로부터 보보하고, 플레이트 진탕기에서 250 rpm으로 15분 동안 항온처리하였다. 플레이트는 Victor 3 또는 SpectraMax i3X 기기를 사용하여 판독하였다. % 특이적 용해는 다음과 같이 계산하였다: % 특이적 용해 = ((실험적 방출 - 자발적 방출) / (최대 방출 - 자발적 방출)) * 100%.

[0243] FLT3-표적화 TriNKET는 인간 NK 세포의 FLT3-양성 EOL-1 암 세포에 대한 세포독성을 매개하였다. 도 38a에 나타낸 바와 같이, 두 TriNKET (A49-TriNKET- IMCEB10 및 A44-TriNKET-IMCEB10)는 용량-반응 방식으로 암 세포에 대한 NK 세포의 세포독성 활성을 증진시킬 수 있었다. 두 TriNKET는 상응하는 FLT3 모노클로날 항체 IMCEB10보다 유의하게 더 강력하였다. 도 38b에 나타낸 바와 같이, TriNKET (A49-TriNKET-4G8, A44-TriNKET-4G8, 및 C26-TriNKET-4G8)는 용량-반응 방식으로 암 세포에 대한 NK 세포의 세포독성 활성을 증진시킬 수 있었다. TriNKET는 상응하는 FLT3 모노클로날 항체 모노클로날 4G8보다 유의하게 보다 강력하였다. 또한, 4G8의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET는 IMCEB10의 FLT3-결합 도메인을 함유하는 TriNKET보다 인간 NK 세포의 세포독성을 매개하는데 보다 강력하였다.

[0244] **참고문헌의 도입**

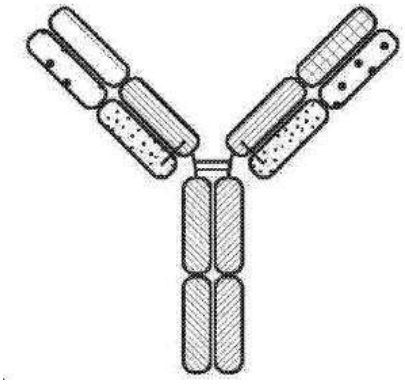
[0245] 본원에 인용된 각각의 특허 문헌 및 과학 논문의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참고로 포함된다.

[0246] **등가물**

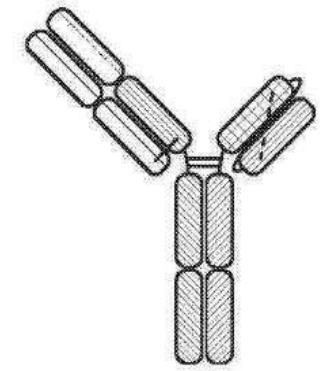
[0247] 본 발명은 그의 개념 또는 필수 특징을 벗어나지 않고 다른 특정한 형태로 실시될 수 있다. 따라서, 상기 구현예는 본원에 기재된 본 발명을 제한하기 보다는 모든 측면에서 설명하는 것으로 고려된다. 따라서, 본 발명의 범주는 상기 기재에 의해서가 아니라 첨부된 청구항에 의해 지정되고, 청구항의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 모든 변화는 본원에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

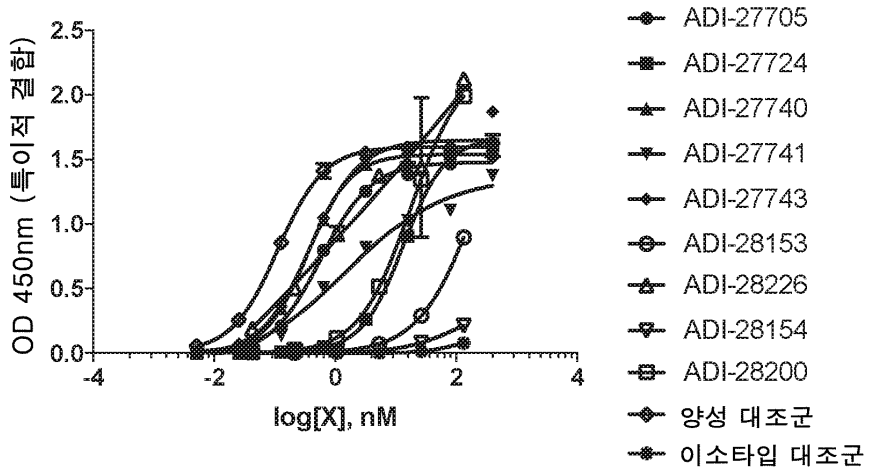
도면1



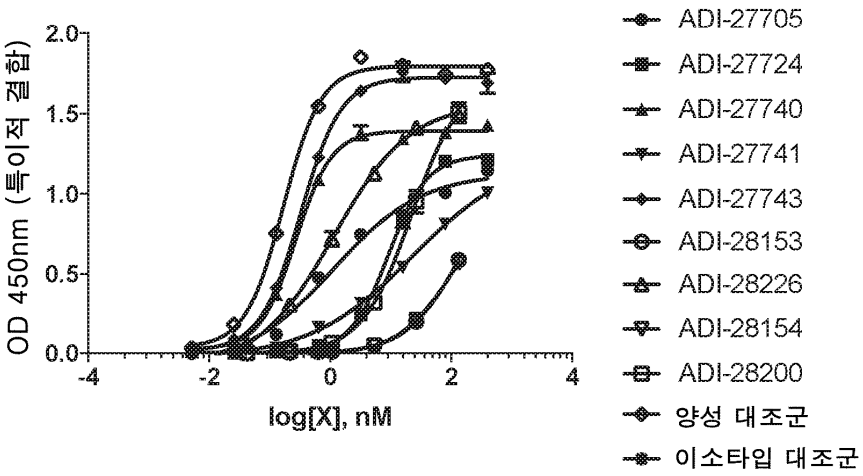
도면2



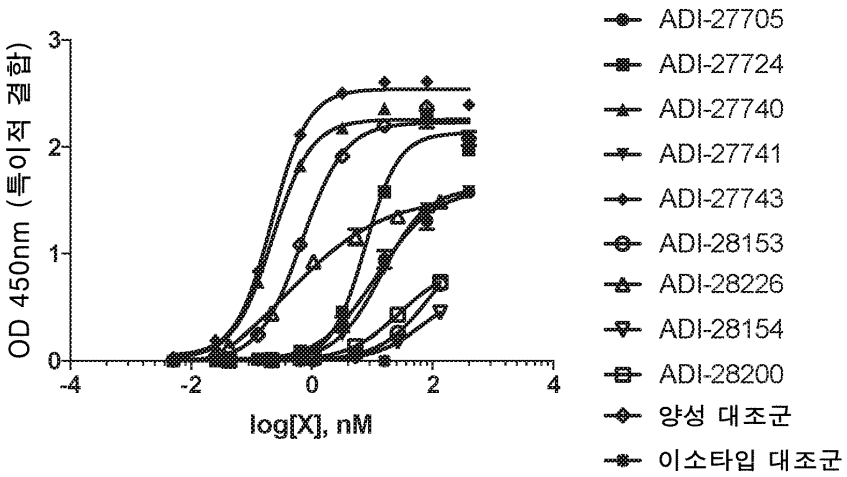
도면3



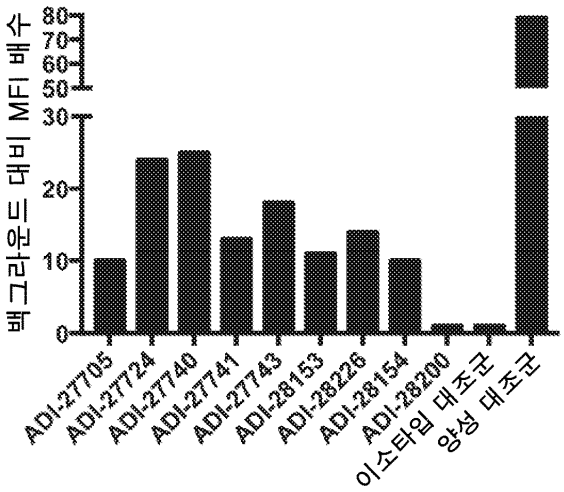
도면4


OD 450nm (특이적 결합)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-4
-2
0
2
4
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
양성 대조군
이소타입 대조군

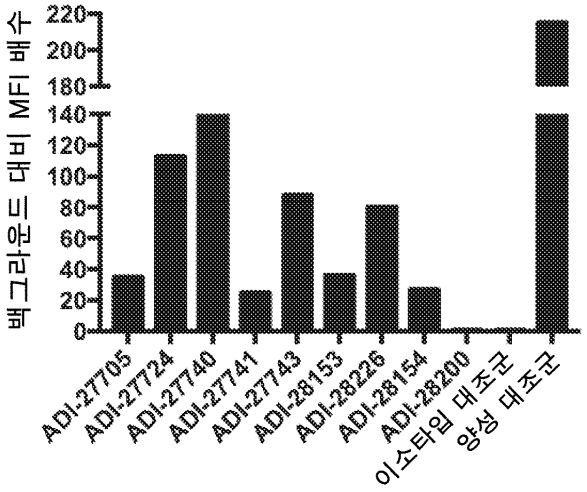
도면5


OD 450nm (특이적 결합)
3
2
1
0
-4
-2
0
2
4
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
양성 대조군
이소타입 대조군

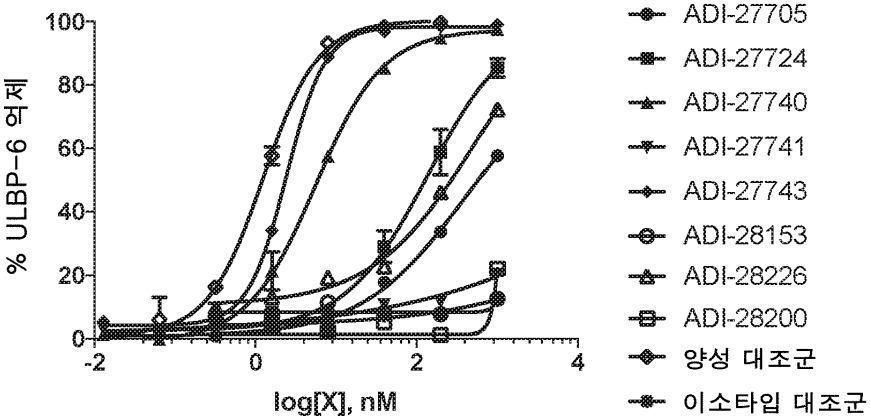
도면6


백그라운드 대비 MFI 배수
80
70
60
50
30
20
10
0
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

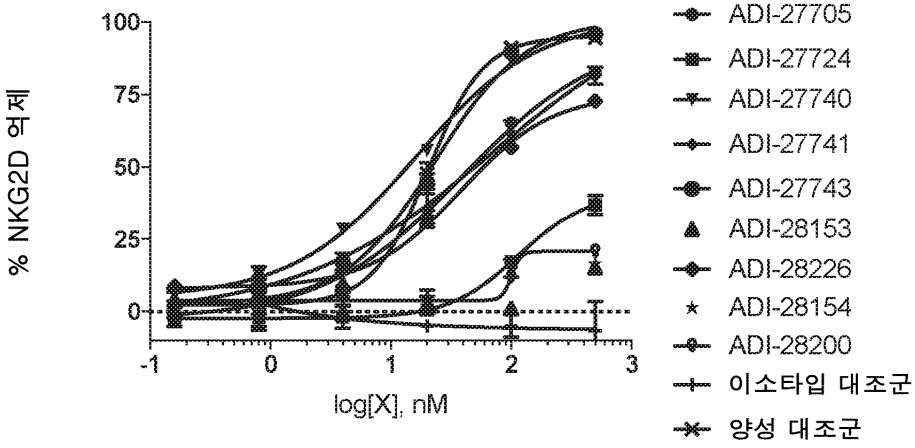
도면7


백그라운드 대비 MFI 배수
220
200
180
140
120
100
80
60
40
20
0
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

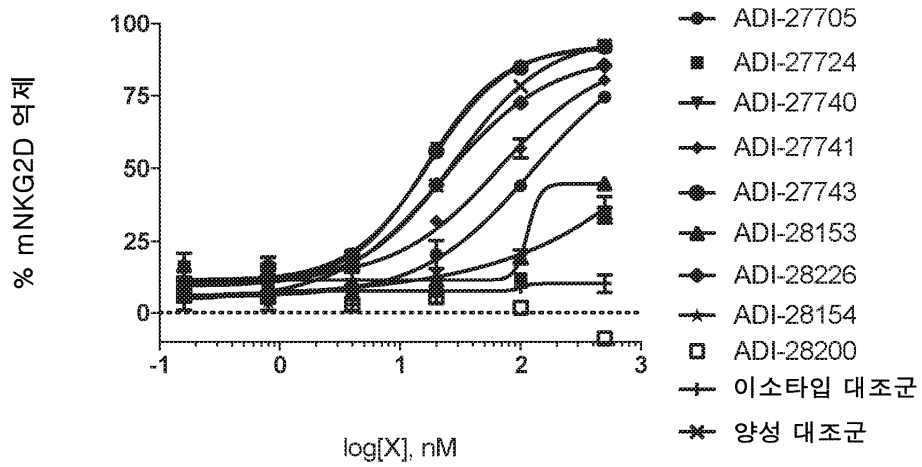
도면8


% ULBP-6 억제
100
80
60
40
20
0
-2
0
2
4
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28200
양성 대조군
이소타입 대조군

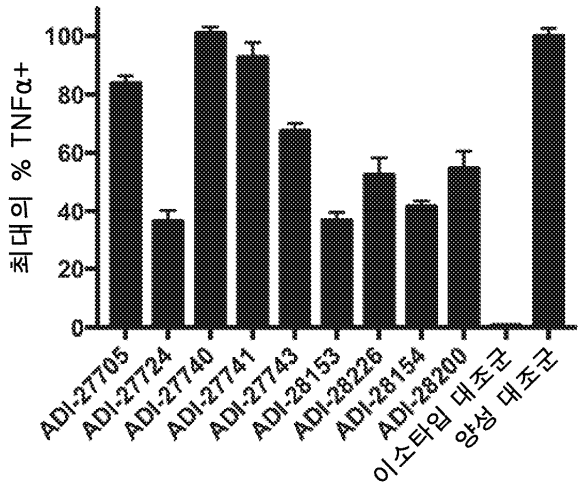
도면9


% NKG2D 억제
100
75
50
25
0
-1
0
1
2
3
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

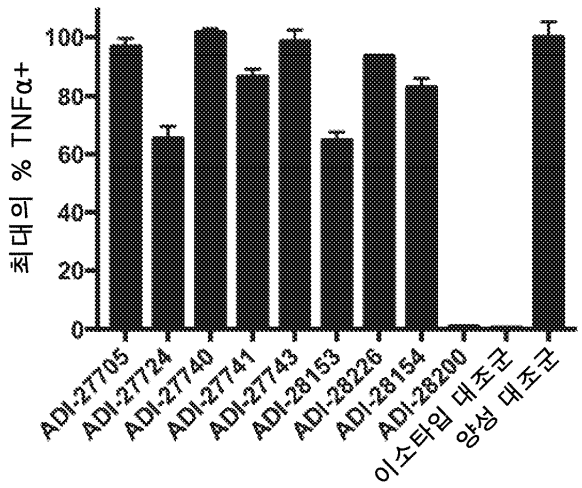
도면10



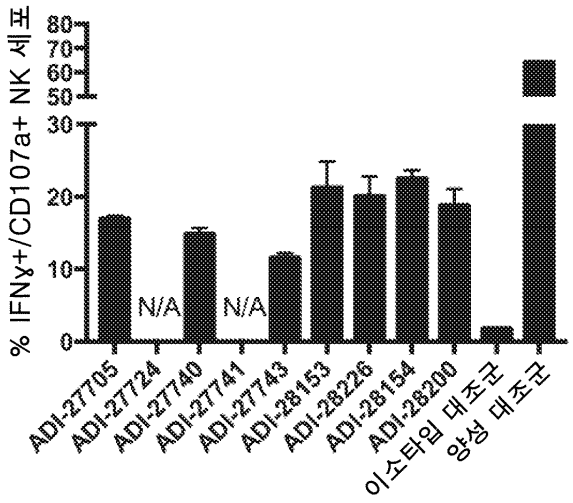
도면11



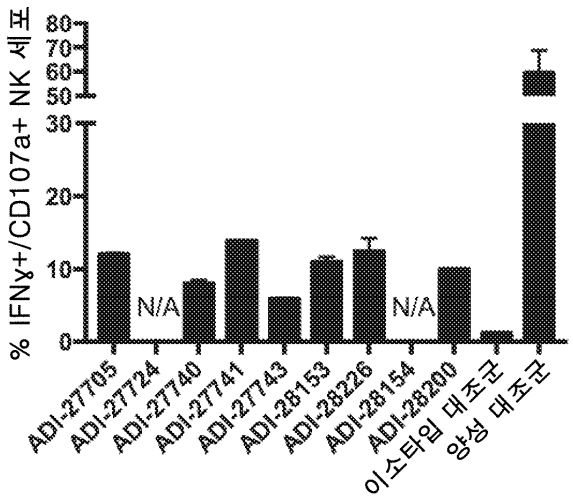
도면12



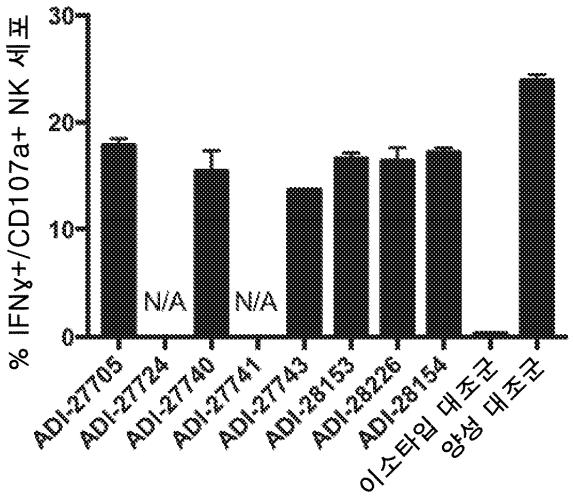
도면13



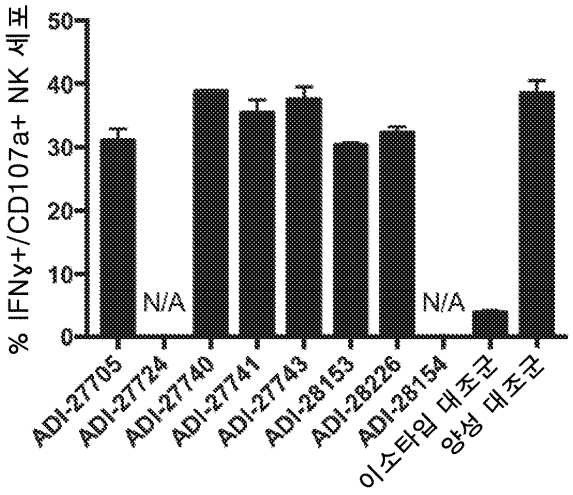
도면14



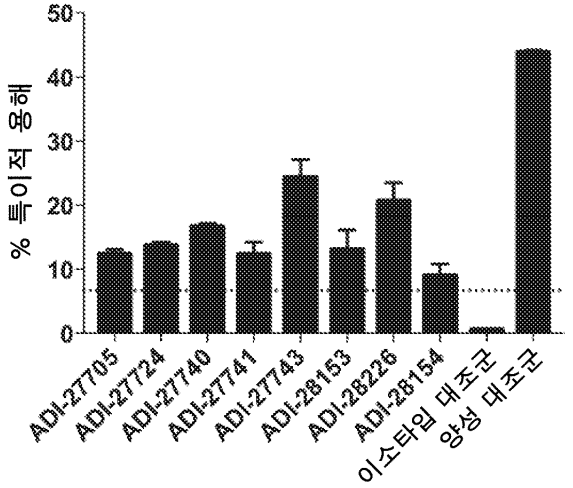
도면15



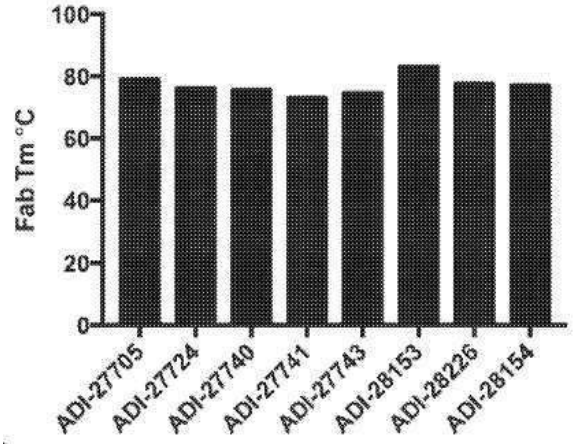
도면16



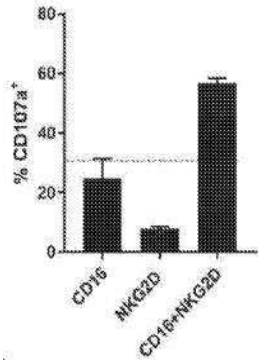
도면17



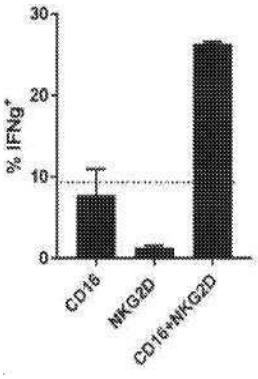
도면18



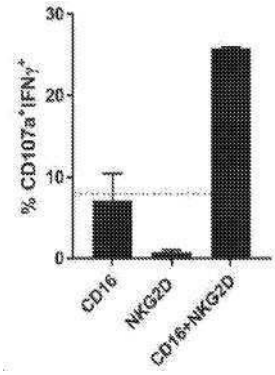
도면19a



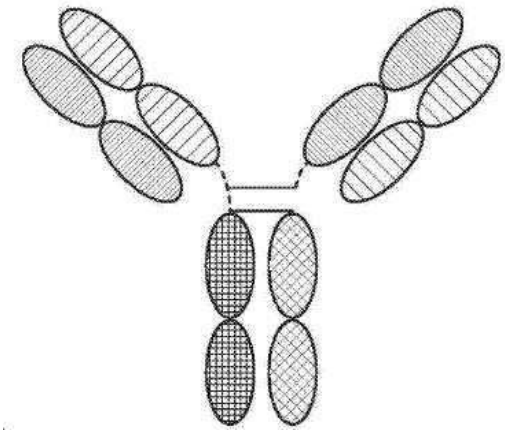
도면19b



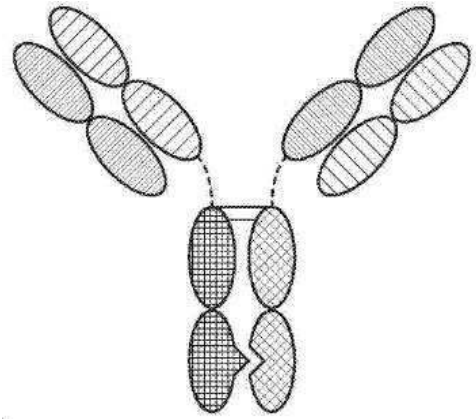
도면19c



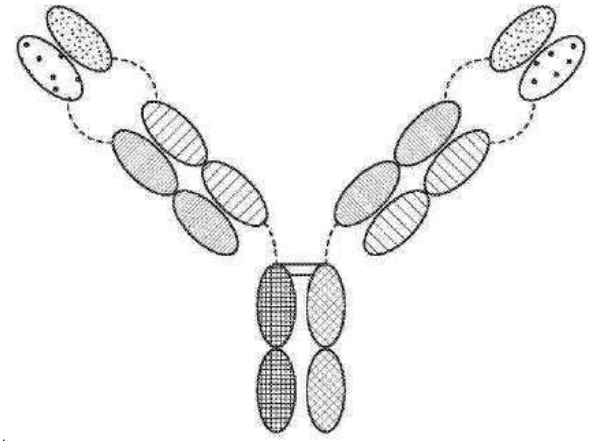
도면20



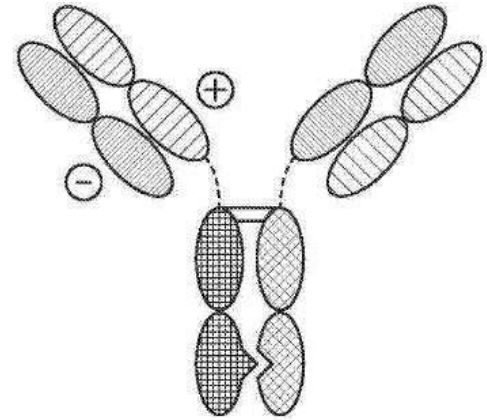
도면21



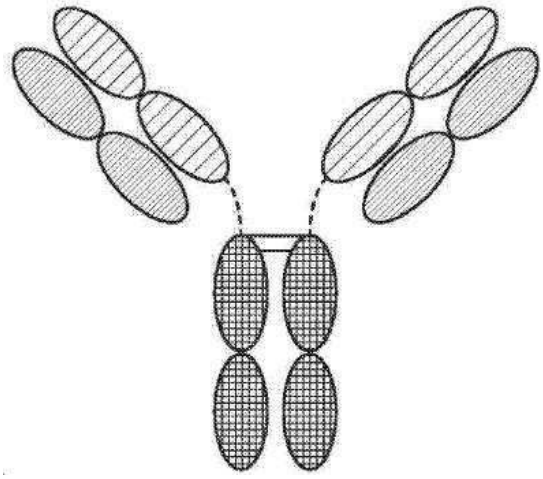
도면22



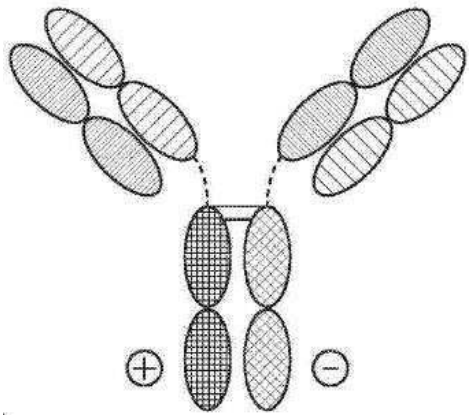
도면23



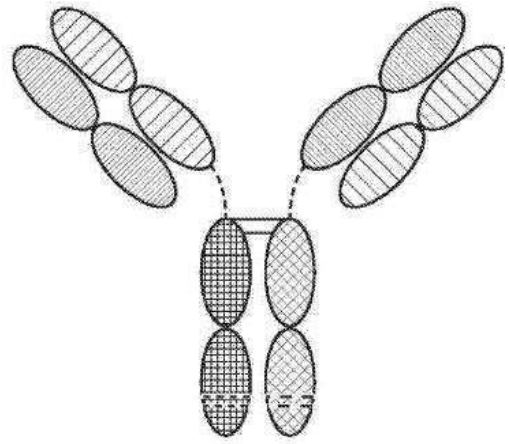
도면24



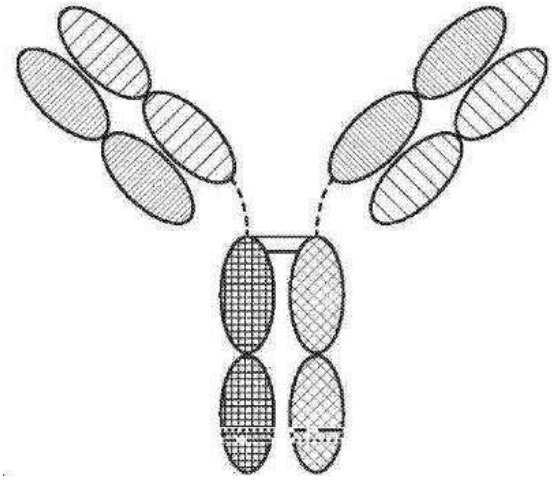
도면25



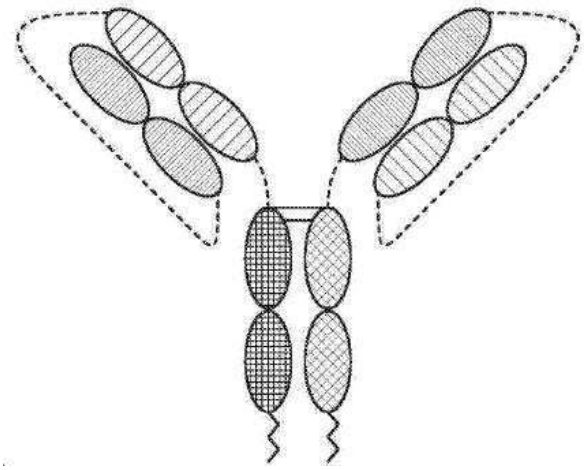
도면26



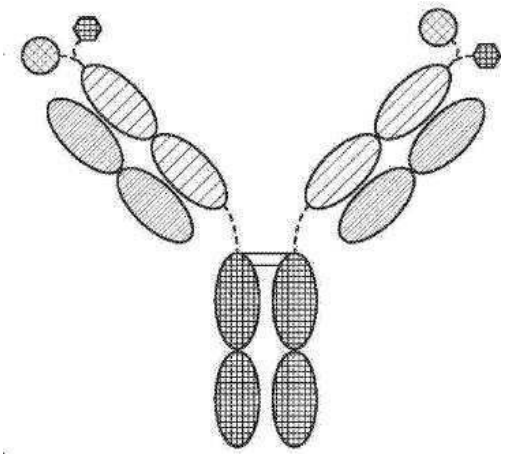
도면27



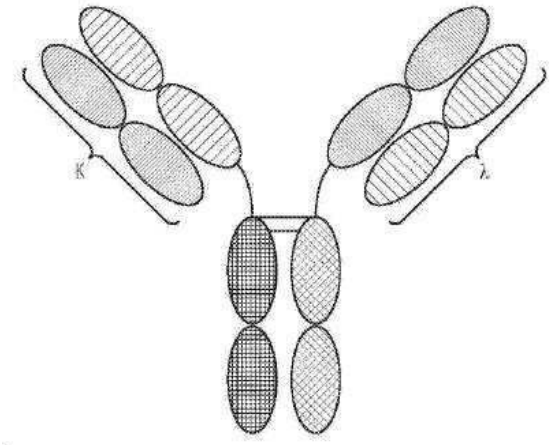
도면28



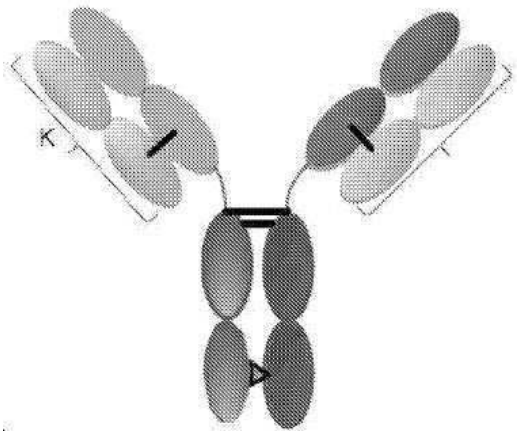
도면29



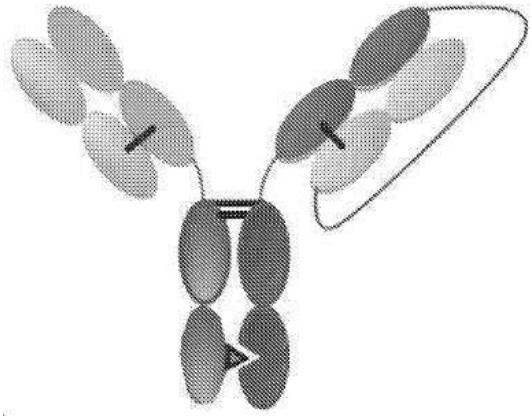
도면30a



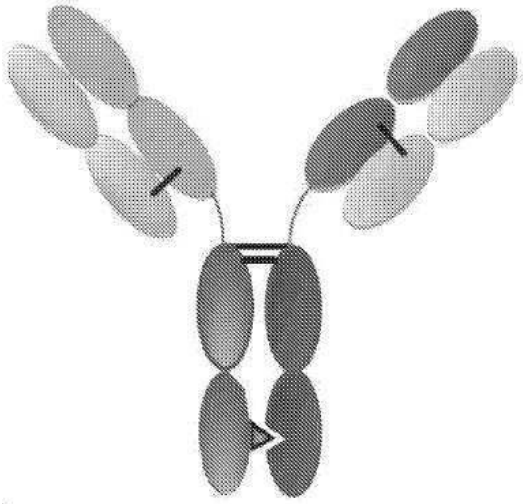
도면30b



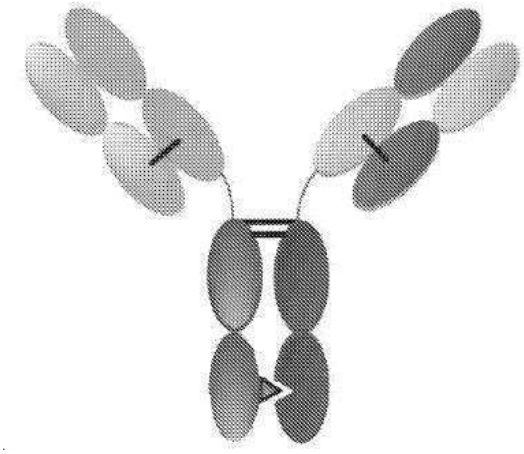
도면31



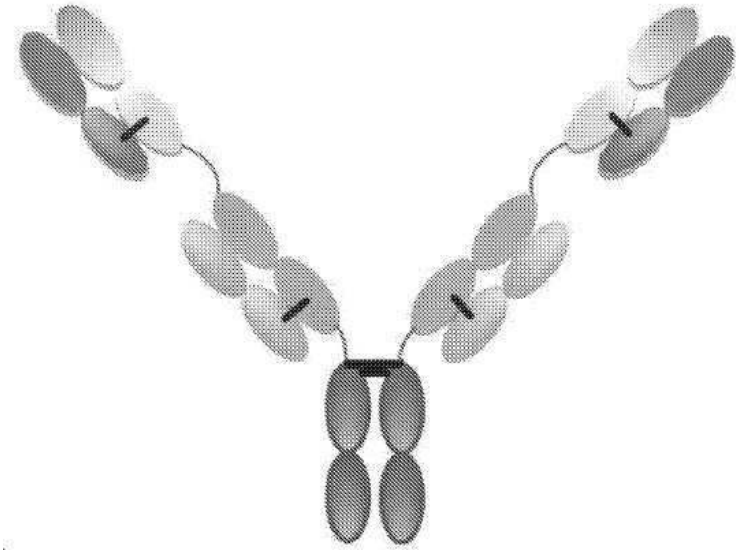
도면32



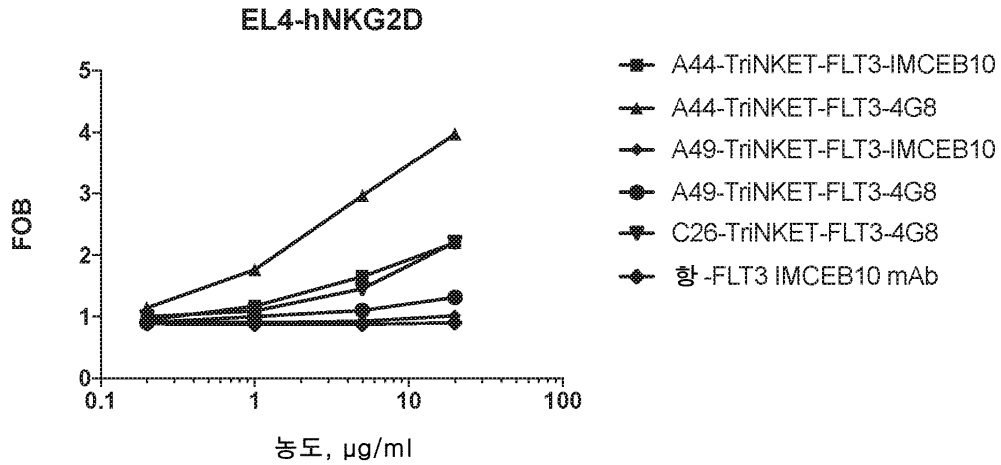
도면33



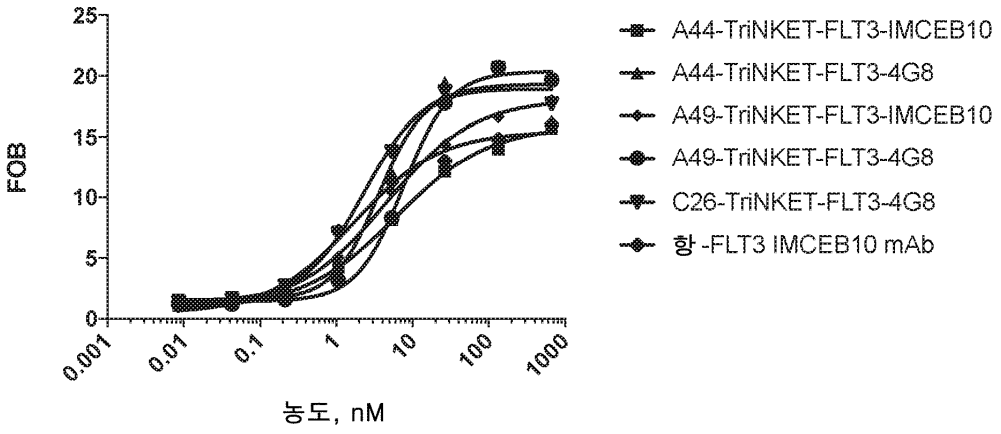
도면34



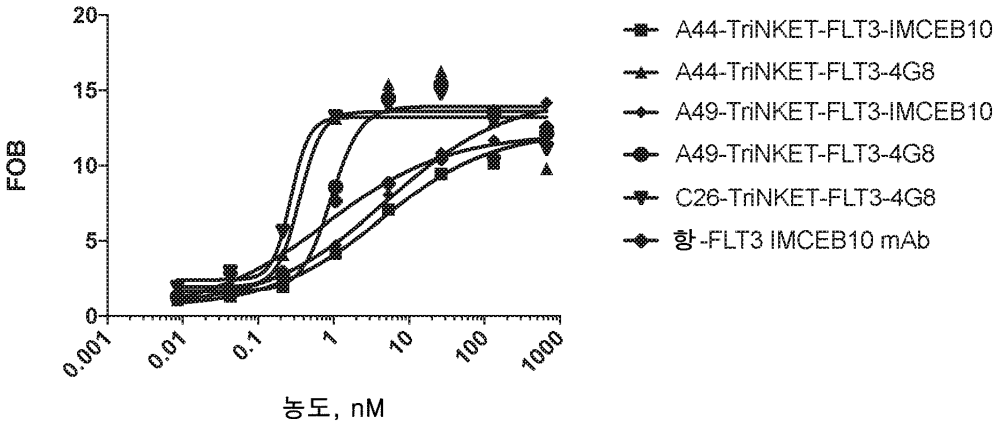
도면35



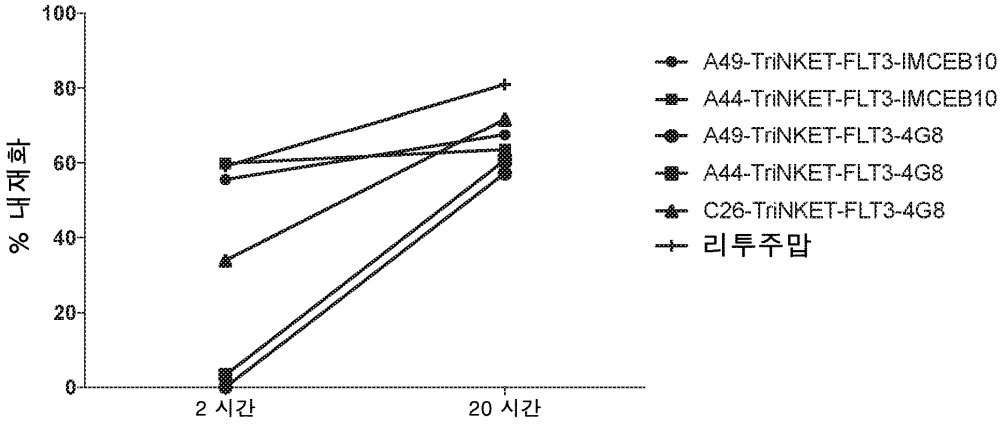
도면36a



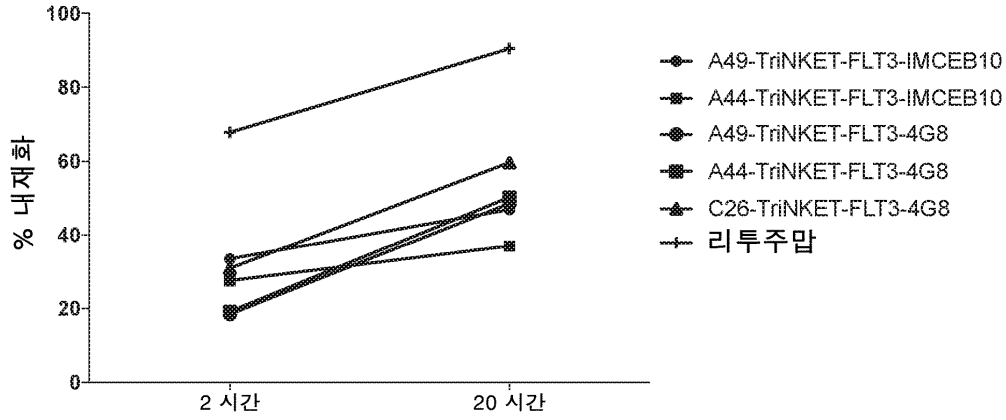
도면36b



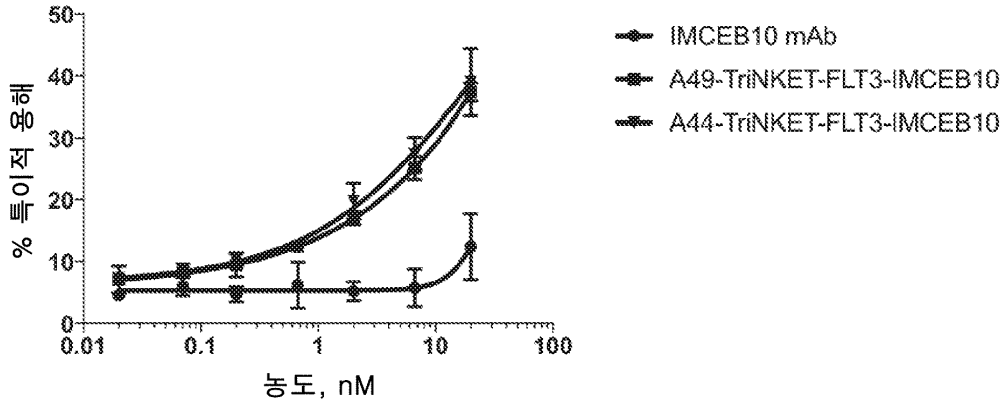
도면37a



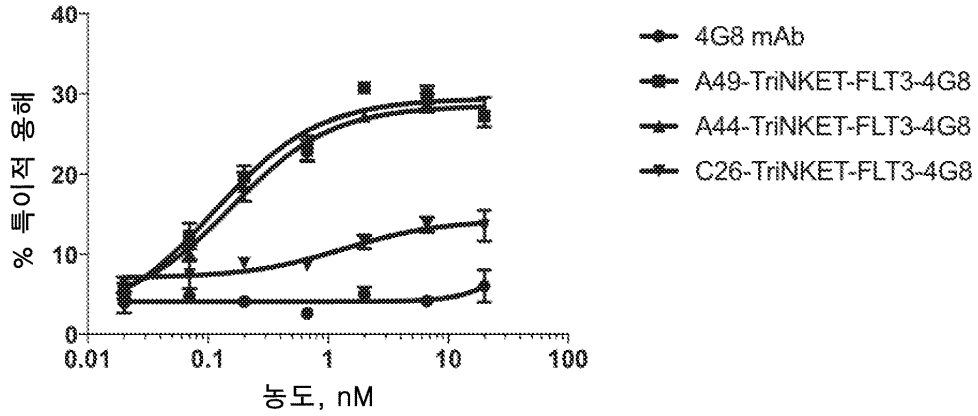
도면37b



도면38a



도면38b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> DRAGONFLY THERAPEUTICS, INC.

<120> PROTEINS BINDING NKG2D, CD16 AND FLT3

<130> DFY-027WO

<140><141><150> 62/539,421

<151> 2017-07-31

<160> 139

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 3

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 4

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

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

Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 5

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 5

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 6

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Phe Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 7

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 7

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Tyr Tyr Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 12

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asp Ile Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 13

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 13

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 14

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 15

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 16

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 17

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 18

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Phe Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 19

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 19

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 20

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ile Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 21

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 23

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 23

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 24

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Phe Pro Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Ser Phe Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Phe Ser Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 29

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 30

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 31

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 31

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 32

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Phe Ile Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 33

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 34

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gln Ser Tyr Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 35

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 35

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 36

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 36

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Phe Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 37

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 37

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 38

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Leu Tyr Ser Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 39

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 39

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 40

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 40

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Thr Phe Ile Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 41

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Ser Ser Ile Arg His Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 42

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 42

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 43

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 44

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 45

Ala Arg Gly Asp Ser Ser Ile Arg His Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 46

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 47

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 48

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 49

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 49

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

<210> 50

<211> 107

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 50

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

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

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 51

Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 52

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 52

Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 53

<211
> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 53

Ala Arg Gly Ser Asp Arg Phe His Pro Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 54

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 55

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 56

Gln Gln Phe Asp Thr Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 57

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 57

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

<210> 58
<211> 106
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><
223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 58
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

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

<210> 59

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Arg Lys Ala Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 60

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 60

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Glu Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Pro Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 61

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 61

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Ala Pro Asn Tyr Gly Asp Thr Thr His Asp Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 62

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 63

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 64

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 65

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 65

Ala Arg Gly Ala Pro Asn Tyr Gly Asp Thr Thr His Asp Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 66

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 67

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 68

Gln Gln Tyr Asp Asp Trp Pro Phe Thr
1 5

<210> 69

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 69

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Thr Gly Glu Tyr Tyr Asp Thr Asp Asp His Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 70
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 9
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 71

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 72

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 73

Ala Arg Asp Thr Gly Glu Tyr Tyr Asp Thr Asp Asp His Gly Met Asp
1 5 10 15
Val

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400

> 74

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 75

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 76

Gln Gln Asp Asp Tyr Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 77

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 77

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 78
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 78
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

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

100 105

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 79

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 80

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 80

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 81

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 81

Ala Lys Asp Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Gly Ala Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 83

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 84

Gln Gln Gly Val Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 85

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 85

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

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

<210> 86
<211> 107
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 86
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Val Ser Phe Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 87

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 88

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 89

<211>

15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 89

Ala Arg Gly Ala Pro Met Gly Ala Ala Ala Gly Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 90

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 91

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 91

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 92

Gln Gln Gly Val Ser Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 93

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 93

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

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

<210> 94

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 94

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Asn Trp Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 95

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 96

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 97

<211>

18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 97

Ala Arg Glu Gly Ala Gly Phe Ala Tyr Gly Met Asp Tyr Tyr Tyr Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 98

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 99

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 100

Gln Gln Ser Asp Asn Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 101

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Gly Leu Gly Asp Gly Thr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 102

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Phe Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 103

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Gln Val His Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Asp Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly His Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Trp Asp Asp Ala Phe Asn Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 104

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 105

Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 106

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 106

Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 107

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 107

Ala Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 108

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Met Ala Ala Ala Ala Ile Pro Ala Leu Leu Leu Cys Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

Phe Leu Leu Phe Gly Trp Ser Arg Ala Arg Arg Asp Asp Pro His Ser
20 25 30

Leu Cys Tyr Asp Ile Thr Val Ile Pro Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg
35 40 45

Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr
50 55 60

Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys

65 70 75 80

Leu Asn Val Thr Met Ala Trp Lys Ala Gln Asn Pro Val Leu Arg Glu
85 90 95

Val Val Asp Ile Leu Thr Glu Gln Leu Leu Asp Ile Gln Leu Glu Asn
100 105 110

Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu
115 120 125

Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly Ser Trp Gln Phe Ser Ile Asp

130 135 140

Gly Gln Thr Phe Leu Leu Phe Asp Ser Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr
145 150 155 160

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

195 200 205
Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Ser Ser Gly Thr Thr Gln Leu Arg Ala
210 215 220
Thr Ala Thr Thr Leu Ile Leu Cys Cys Leu Leu Ile Ile Leu Pro Cys
225 230 235 240
Phe Ile Leu Pro Gly Ile
245

<210> 109
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 109
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Val Gly Ala His Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala

115 120

<210> 110

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 110

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 111

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 111

Asn Pro Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 112

Gly Val Gly Ala His Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 113

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 113

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Asp Phe Thr Leu Gln Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Thr His Pro Ala Ile Ser Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 114

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 114

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp
1 5 10

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 115

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser

1 5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 116

Met Gln Gly Thr His Pro Ala Ile Ser

1 5

<210> 117

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 117

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Lys Asp Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Ile Thr Thr Thr Pro Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 118

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 118

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 119

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 119

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Lys Asp Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asp

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 120

Ala Ile Thr Thr Thr Pro Phe Asp Phe

1 5

<210> 121

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 121

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 122

<

211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His
1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 123

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 124

Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 125

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 125

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile

50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Lys Gly Gly Ile Tyr Tyr Ala Asn His Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 126

Asn Tyr Gly Leu His

1 5

<210> 127

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 127

Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile Ser

1 5 10 15

<210> 128

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 128

Lys Gly Gly Ile Tyr Tyr Ala Asn His Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 129

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 129

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Met Ala Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Asp
85 90 95

His Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg

<210> 130

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 130

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Met

1 5 10 15

Ala

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 131

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 132

Gln Asn Asp His Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 133

<211> 993

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Met Pro Ala Leu Ala Arg Asp Gly Gly Gln Leu Pro Leu Leu Val Val

1 5 10 15

Phe Ser Ala Met Ile Phe Gly Thr Ile Thr Asn Gln Asp Leu Pro Val

20 25 30

Ile Lys Cys Val Leu Ile Asn His Lys Asn Asn Asp Ser Ser Val Gly

35 40 45

Lys Ser Ser Ser Tyr Pro Met Val Ser Glu Ser Pro Glu Asp Leu Gly

50 55 60

Cys Ala Leu Arg Pro Gln Ser Ser Gly Thr Val Tyr Glu Ala Ala Ala

65 70 75 80

Val Glu Val Asp Val Ser Ala Ser Ile Thr Leu Gln Val Leu Val Asp

85 90 95

Ala Pro Gly Asn Ile Ser Cys Leu Trp Val Phe Lys His Ser Ser Leu

100 105 110

Asn Cys Gln Pro His Phe Asp Leu Gln Asn Arg Gly Val Val Ser Met

115 120 125

Val Ile Leu Lys Met Thr Glu Thr Gln Ala Gly Glu Tyr Leu Leu Phe

130 135 140

Ile Gln Ser Glu Ala Thr Asn Tyr Thr Ile Leu Phe Thr Val Ser Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Asn Gln Asp Ala Leu Val Cys Ile Ser Glu Ser Val Pro Glu Pro

180 185 190

Ile Val Glu Trp Val Leu Cys Asp Ser Gln Gly Glu Ser Cys Lys Glu

195 200 205

Glu Ser Pro Ala Val Val Lys Lys Glu Glu Lys Val Leu His Glu Leu

210 215 220

Phe Gly Thr Asp Ile Arg Cys Cys Ala Arg Asn Glu Leu Gly Arg Glu

225 230 235 240

Cys Thr Arg Leu Phe Thr Ile Asp Leu Asn Gln Thr Pro Gln Thr Thr

245 250 255

Leu Pro Gln Leu Phe Leu Lys Val Gly Glu Pro Leu Trp Ile Arg Cys

260 265 270

Lys Ala Val His Val Asn His Gly Phe Gly Leu Thr Trp Glu Leu Glu

275 280 285

Asn Lys Ala Leu Glu Glu Gly Asn Tyr Phe Glu Met Ser Thr Tyr Ser

290 295 300

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

Phe Ser Val Arg Phe Lys Ala Tyr Pro Gln Ile Arg Cys Thr Trp Thr
370 375 380
Phe Ser Arg Lys Ser Phe Pro Cys Glu Gln Lys Gly Leu Asp Asn Gly
385 390 395 400
Tyr Ser Ile Ser Lys Phe Cys Asn His Lys His Gln Pro Gly Glu Tyr
405 410 415
Ile Phe His Ala Glu Asn Asp Asp Ala Gln Phe Thr Lys Met Phe Thr
420 425 430

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

Ser Ser Ser Thr Leu Asn Met Ser Glu Ala Ile Lys Gly Phe Leu Val
500 505 510
Lys Cys Cys Ala Tyr Asn Ser Leu Gly Thr Ser Cys Glu Thr Ile Leu
515 520 525
Leu Asn Ser Pro Gly Pro Phe Pro Phe Ile Gln Asp Asn Ile Ser Phe
530 535 540
Tyr Ala Thr Ile Gly Val Cys Leu Leu Phe Ile Val Val Leu Thr Leu

545 550 555 560

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

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

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

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

Phe Leu Glu Phe Lys Ser Cys Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
805 810 815

Val Leu Val Thr His Gly Lys Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu
820 825 830
Ala Arg Asp Ile Met Ser Asp Ser Asn Tyr Val Val Arg Gly Asn Ala
835 840 845
Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Phe Glu Gly Ile
850 855 860
Tyr Thr Ile Lys Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu
865 870 875 880

Ile Phe Ser Leu Gly Val Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Asp Ala
885 890 895
Asn Phe Tyr Lys Leu Ile Gln Asn Gly Phe Lys Met Asp Gln Pro Phe
900 905 910
Tyr Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Ile Ile Met Gln Ser Cys Trp Ala Phe
915 920 925
Asp Ser Arg Lys Arg Pro Ser Phe Pro Asn Leu Thr Ser Phe Leu Gly
930 935 940

Cys Gln Leu Ala Asp Ala Glu Glu Ala Met Tyr Gln Asn Val Asp Gly
945 950 955 960
Arg Val Ser Glu Cys Pro His Thr Tyr Gln Asn Arg Arg Pro Phe Ser
965 970 975
Arg Glu Met Asp Leu Gly Leu Leu Ser Pro Gln Ala Gln Val Glu Asp
980 985 990
Ser

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 134

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 135

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 136

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 136

Ala Arg Arg Gly Arg Lys Ala Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 137

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 137

Glu Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Thr

<210> 138

<211> 7

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 138

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 139

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5